

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มผลิตผลทางการเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ สนับสนุน และอำนวยความสะดวกในแง่อุปกรณ์ เครื่องมือทั่วไป และเครื่องมือวิเคราะห์ต่างๆ ที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณ Peter F. Stanbury มหาวิทยาลัย Hertfordshire ประเทศอังกฤษ ที่ให้ความอนุเคราะห์แบคทีเรีย *Lactococcus lactis* IO-1 และ นางสาวอัมพวัน มีทรัพย์มัน ที่ช่วยเหลือในการทำวิจัย

## บทคัดย่อ

การศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเสทของข้าวฟ่างหวานที่มีน้ำตาลไซโลส 30 กรัมต่อลิตร โดยใช้แหล่งไนโตรเจนต่างๆ ได้แก่ ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ กากเซลล์ยีสต์แห้ง และรำข้าว พร้อมเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเสทที่ไม่มีการเติมสารอาหาร โดยแบคทีเรีย *Lactococcus lactis* IO-1 พบว่า กากเซลล์ยีสต์แห้งสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนราคาถูกแทนยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ในการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเสทของข้าวฟ่างหวานได้ โดยการเติมกากเซลล์ยีสต์แห้ง 31.5 กรัมต่อลิตร *Lc. lactis* IO-1 สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงสุด และสร้างผลพลอยได้ (กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก เอทานอล และ 2,3-บิวเทนไดออล) ต่ำสุด ที่สภาวะนี้ได้ความเข้มข้นกรดแลคติก 15.31 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ และอัตราผลผลิตของกรดแลคติก 0.54 กรัมต่อกรัม และ 0.32 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมัก 48 ชั่วโมง ในขณะที่การเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 7 กรัมต่อลิตร ได้ความเข้มข้น ผลได้ และอัตราผลผลิตของกรดแลคติก เท่ากับ 14.88 กรัมต่อลิตร 0.52 กรัมต่อกรัม และ 0.30 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมัก 48 ชั่วโมง เมื่อใช้รำข้าวเป็นแหล่งไนโตรเจนพบว่า รำข้าวไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากทำให้ประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติกลดลง โดยการเติมรำข้าว 86.4 กรัมต่อลิตร ได้ความเข้มข้นกรดแลคติก 10.05 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ และอัตราผลผลิตของกรดแลคติกเท่ากับ 0.51 กรัมต่อกรัม และ 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมัก 96 ชั่วโมง ซึ่งความเข้มข้นของกรดแลคติกในสภาวะที่เติมรำข้าว 86.4 กรัมต่อลิตร มีค่าไม่แตกต่างกับเมื่อหมักจากไฮโดรไลเสทที่ไม่มีการเติมสารอาหารเสริม ซึ่งได้ความเข้มข้นกรดแลคติก 10.11 กรัมต่อลิตร แต่สภาวะที่เติมรำข้าวให้อัตราผลผลิตกรดแลคติกต่ำกว่าสภาวะที่ไม่เติมอาหารเสริม (สภาวะที่ไม่เติมอาหารเสริมได้อัตราผลผลิตของกรดแลคติกเท่ากับ 0.21 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

**คำสำคัญ:** การหมักกรดแลคติก ข้าวฟ่างหวาน กากเซลล์ยีสต์แห้ง รำข้าว *Lactococcus lactis*

## Abstract

Lactic acid production from sweet sorghum bagasse hydrolysate containing 30 g/l of xylose and supplemented with yeast extract, dried spent yeast or rice bran as nitrogen supplement by *Lactococcus lactis* IO-1 was studied. The lactic acid production efficiencies were compared with those under no nutrient supplementation. The results showed that dried spent yeast could be used as the low-cost nitrogen source instead of yeast extract for lactic acid production from the sweet sorghum bagasse hydrolysate. Under the supplementation of dried spent yeast at 31.5 g/l, *Lc. lactis* IO-1 gave the highest lactic acid production and lowest by-product formation (formic acid, acetic acid, ethanol and 2,3-butandiol). Under this condition, the concentration, yield and productivity of lactic acid were 15.31 g/l, 0.54 g/g and 0.32 g/l.h, respectively at the fermentation time of 48 h. In the presence of yeast extract at 7 g/l, the concentration, yield and productivity of lactic acid were 14.88 g/l, 0.52 g/g and 0.30 g/l.h, respectively at the fermentation time of 48 h. Regarding the rice bran, the results showed that it was not suitable to use as the nitrogen supplement because the lactic acid production efficiencies was decreased under rice bran addition. When the rice bran at 86.4 31.5 g/l was added in the hydrolysate, the concentration, yield and productivity of lactic acid were 10.05 g/l, 0.51 g/g and 0.10 g/l.h, respectively at the fermentation time of 96 h. The lactic acid concentration obtained was not different from that (10.11 g/l) under no nutrient supplementation, but the lactic acid productivity under the rice bran addition was markedly lower than that (0.21 g/l/h) under no nutrient addition.

**Keywords:** lactic acid fermentation, sweet sorghum bagasse, dried spent yeast, rice bran, *Lactococcus lactis*

## คำนำ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเสทของขนข้าวฟ่างหวานภายใต้สภาวะที่เติมแหล่งไนโตรเจนต่างๆ เพื่อหาแหล่งไนโตรเจนราคาถูกและเหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตกรดแลคติกในเชิงพาณิชย์ต่อไป

คณะผู้วิจัย  
สิงหาคม 2556

## สารบัญ

|                                                                                                  | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| กิตติกรรมประกาศ                                                                                  | ก    |
| บทคัดย่อ                                                                                         | ข    |
| Abstract                                                                                         | ค    |
| คำนำ                                                                                             | ง    |
| บทที่ 1 บทนำ                                                                                     | 1    |
| 1.1 ความสำคัญและที่มาของประเด็นการวิจัย                                                          | 1    |
| 1.2 วัตถุประสงค์                                                                                 | 3    |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง                                                            | 4    |
| 2.1 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย                                                                         | 4    |
| 2.2 ชนิดของกรดแลคติก                                                                             | 6    |
| 2.3 ประโยชน์ของกรดแลคติก                                                                         | 7    |
| 2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างกรดแลคติก                                                            | 8    |
| 2.5 วัสดุชีวโพลีเมอร์เพื่อผลิตกรดแลคติก                                                          | 9    |
| 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย                      | 10   |
| บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง                                                            | 17   |
| 3.1 จุลินทรีย์และการเตรียมกล้าเชื้อ                                                              | 17   |
| 3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี                                                                       | 17   |
| 3.3 วิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีที่สำคัญในยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ กากเซลล์ยีสต์แห้ง และรำข้าว        | 19   |
| 3.4 การหมักกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทขานข้าวฟ่างหวานที่ไม่เติมสารอาหารเสริม                     | 19   |
| 3.5 การหมักกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทขานข้าวฟ่างหวานที่เติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์เป็นแหล่งอาหารเสริม | 20   |
| 3.6 การหมักกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทขานข้าวฟ่างหวานที่เติมกากเซลล์ยีสต์แห้งเป็นแหล่งอาหารเสริม | 20   |
| 3.7 การหมักกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทขานข้าวฟ่างหวานที่เติมรำข้าวเป็นแหล่งอาหารเสริม            | 20   |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง                                                                               | 21   |
| 4.1 องค์ประกอบหลักทางเคมีที่สำคัญในยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ กากเซลล์ยีสต์แห้ง และรำข้าว                 | 21   |
| 4.2 การผลิตกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทขานข้าวฟ่างหวานที่ไม่เติมสารอาหารเสริม                     | 22   |
| 4.3 การผลิตกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทขานข้าวฟ่างหวานที่เติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์เป็นแหล่งอาหารเสริม | 23   |

## สารบัญ (ต่อ)

|                                                                                                         | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 4.4 การผลิตกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทของชานข้าวฟ่างหวานที่เติม<br>กากเซลล์ยีสต์แห้งเป็นแหล่งอาหารเสริม | 24   |
| 4.5 การผลิตกรดแลคติกแบบกะจากไฮโดรไลเสทของชานข้าวฟ่างหวานที่เติม<br>รำข้าวเป็นแหล่งอาหารเสริม            | 28   |
| 4.6 การเปรียบเทียบการหมักกรดแลคติกจากไฮโดรไลเสทของชานข้าวฟ่างหวาน<br>ที่สภาวะต่างๆ                      | 31   |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง                                                                                  | 33   |
| เอกสารอ้างอิง                                                                                           | 35   |
| ภาคผนวกที่ 1 การวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด                                                                  | 39   |
| ภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานของการหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด                                                     | 40   |
| ภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลชนิดต่างๆ                                                              | 41   |
| ภาคผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานของกรด เอทานอล และ 2,3-บิวเทนไดออล                                              | 42   |
| ภาคผนวกที่ 5 ข้อมูลดิบ                                                                                  | 45   |

## สารบัญรูป

|                                                                                                                                                                                       | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 2.1 วิธีไกลโคไลซิส                                                                                                                                                             | 5    |
| รูปที่ 2.2 วิธีฟอสโฟคีโตเลส                                                                                                                                                           | 6    |
| รูปที่ 2.3 โครงสร้างของกรดแลคติก                                                                                                                                                      | 7    |
| รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมักกรดแลคติกแบบกะ<br>จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการเติมอาหารเสริมโดย <i>Lc. lactis</i> IO-1                     | 22   |
| รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมักกรดแลคติกแบบกะ<br>จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่เติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 7 กรัมต่อลิตร โดย<br><i>Lc. lactis</i> IO-1    | 23   |
| รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมักกรดแลคติกแบบกะ<br>จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่เติมกากเซลล์ยีสต์แห้ง 10.5 กรัมต่อลิตร โดย<br><i>Lc. lactis</i> IO-1 | 24   |
| รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมักกรดแลคติกแบบกะ<br>จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่เติมกากเซลล์ยีสต์แห้ง 21 กรัมต่อลิตร โดย<br><i>Lc. lactis</i> IO-1   | 25   |
| รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมักกรดแลคติกแบบกะ<br>จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่เติมกากเซลล์ยีสต์แห้ง 31.5 กรัมต่อลิตร โดย<br><i>Lc. lactis</i> IO-1 | 26   |
| รูปที่ 4.6 การผลิตผลิตภัณฑ์ของ <i>Lc. lactis</i> IO-1 จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่เติม<br>กากเซลล์ยีสต์แห้ง (DSY) ที่ปริมาณต่างๆ                                                  | 27   |
| รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมักกรดแลคติกแบบกะ<br>จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่เติมรำข้าว 43.2 กรัมต่อลิตร โดย <i>Lc. lactis</i> IO-1               | 29   |
| รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมักกรดแลคติกแบบกะ<br>จากไฮโดรไลสезห่านข้าวฟ่างหวานที่เติมรำข้าว 86.4 กรัมต่อลิตร โดย <i>Lc. lactis</i> IO-1               | 29   |
| รูปที่ 4.9 การผลิตผลิตภัณฑ์ของ <i>Lc. lactis</i> IO-1 ภายใต้สภาวะการเติมรำข้าวที่ความ<br>เข้มข้นต่างๆ                                                                                 | 30   |
| รูปที่ 4.10 การเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ที่ <i>Lc. lactis</i> IO-1 สร้างระหว่างการหมักไฮโดรไลสез<br>ของห่านข้าวฟ่างหวานภายใต้สภาวะการเติมแหล่งไนโตรเจนต่างๆ                                | 32   |

## สารบัญตาราง

|                                                                                                                                           | หน้า |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบหลักของยีสต์เอ็กแทร็กต์ กากเซลล์ยีสต์แห้ง และรำข้าว                                                                | 21   |
| ตารางที่ 4.2 ผลได้ของผลิตภัณฑ์จากการหมักไฮโดรไฮเซทของชานข้าวฟ่างหวานที่เติม<br>กากเซลล์ยีสต์แห้งที่ปริมาณต่างๆ โดย <i>Lc. lactis</i> IO-1 | 28   |
| ตารางที่ 4.3 ผลได้ของผลิตภัณฑ์จากการหมักไฮโดรไฮเซทของชานข้าวฟ่างหวานและเติม<br>รำข้าวที่ความเข้มข้นต่างๆ โดย <i>Lc. lactis</i> IO-1       | 30   |