

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการเจริญ การผลิตกรดแลกติก ค่า pH ที่เหมาะสม และजनผลสารที่บ่งชี้ของ แบคทีเรียกรดแลกติก 5 สายพันธุ์ ที่ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารตั้งต้นได้ ดังนี้ *Lactobacillus plantarum* SP1-3, *Lactobacillus pentosus* KUB-ST 10-1, *Lactobacillus casei* TISTR 390, *Lactobacillus salivarius* ssp. *salivarius* TISTR 1112 และ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลกติกนี้แบบ ไม่เขย่าในระดับฟลาस्क เป็นเวลา 24 ชม. ที่ 37 °ซ และไม่ควบคุมพีเอช โดยแปรผันแหล่งคาร์บอน (20-25 กรัม ต่อลิตร) คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส และน้ำอ้อย พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่ง คาร์บอน ผลผลิตกรดแลกติกไม่แตกต่างกัน ซึ่ง *Lb. plantarum* SP1-3, *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1, *Lb. casei* TISTR 390 และ *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 ผลิตกรดแลกติกได้ 18-20 กรัมต่อลิตร ยกเว้น *Lb. salivarius* ssp. *salivarius* TISTR 1112 ผลิตกรดแลกติกได้เพียง 11-13 กรัมต่อลิตร เท่านั้น ส่วนการใช้ น้ำอ้อยที่ เติมยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร เป็นสารตั้งต้นนั้น พบว่าเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ ผลิตกรดแลกติกได้ลดลง แต่เมื่อนำ แบคทีเรียแลกติกนี้มาเพาะเลี้ยงในถังหมักโดยใช้น้ำอ้อย 20-25 กรัมต่อลิตร ที่เติมยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร เป็นสาร ตั้งต้น ด้วยการควบคุมค่าพีเอช 6.0 ที่ 37 °ซ และอัตราการกวน 150 รอบต่อนาที พบว่าแบคทีเรียแลกติกที่นำมา ศึกษาสามารถผลิตกรดแลกติกได้ในปริมาณสูงขึ้น (15-23 กรัมต่อลิตร) และใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงสั้นกว่าการ เพาะเลี้ยงในระดับฟลาस्क จึงให้อัตราผลผลิตกรด แลกติกสูง อย่างไรก็ตาม *Lb. salivarius* ssp. *salivarius* TISTR 1112 ให้ความเข้มข้นกรดแลกติกในระดับต่ำ และ *Lb. casei* TISTR 390 ให้ค่าอัตราผลผลิตกรดแลกติกต่ำเมื่อเทียบกับ สายพันธุ์อื่นที่นำมาศึกษา จึงเลือก *Lb. plantarum* SP 1-3, *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 และ *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 ไปเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อยที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด 136 กรัมต่อลิตร และเติมยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร เป็นสารตั้งต้น ควบคุมพีเอช 6.0 ที่ 37 °ซ และอัตราการกวน 150 รอบต่อนาที พบว่า *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 และ *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 มีอัตราการใช้น้ำตาลสูงกว่า *Lb. plantarum* SP 1-3 ดังนั้นจึง เลือกแบคทีเรียกรดแลกติก 2 สายพันธุ์นี้ ไปศึกษาผลของการควบคุมพีเอช (5.0, 6.0 และ 7.0) ต่อการเจริญและการ ผลิตกรดแลกติกโดยใช้ อาหาร MRS ที่มีน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน (MRS-sucrose) พบว่าสภาวะการควบคุมพีเอช 6.0 เหมาะสำหรับการเจริญและการผลิตกรดแลกติกของ *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 และ *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 โดยความเข้มข้นกรดแลกติกและน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดของ *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 เท่ากับ 19.9 และ 3.7 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วน *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 เท่ากับ 17.5 และ 3.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อทดสอบความสามารถสูงสุดในการผลิตกรดแลกติกสูงสุดของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์นี้ โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS-sucrose ที่แปรผันความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5, 10, 20, 50, 100, 125 และ 150 กรัมต่อลิตร ควบคุมพีเอช 6.0 อุณหภูมิ 37 °ซ และอัตราการกวน 150 รอบต่อนาที พบว่าความเข้มข้นของกรด แลกติกที่ผลิตได้แปรผันตามความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสที่ใช้เพิ่มขึ้น โดย *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 ให้ความเข้มข้น กรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 119.9 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 150 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ความเข้มข้น น้ำตาลซูโครส 100 กรัมต่อลิตร ให้อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดและอัตราผลผลิตกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 0.50 ต่อ ชั่วโมง และ 5.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 ให้ความเข้มข้น กรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 127.7 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 150 กรัมต่อลิตร ซึ่งที่ความเข้มข้นน้ำตาล ซูโครส 50 กรัมต่อลิตร ให้อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดและอัตราผลผลิตกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 0.64 ต่อชั่วโมง และ 5.50 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อทดสอบสัณยภาพของ *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 และ *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 ในการผลิตกรดแลกติกโดยใช้น้ำอ้อยที่มีน้ำตาลทั้งหมด 145-155 กรัมต่อลิตร และเติม ยีสต์สกัด 37.5 กรัมต่อลิตร (SCJ-YE) เป็นสารตั้งต้น และเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ที่มีน้ำอ้อยเป็น แหล่งคาร์บอน (MRS-SCJ) พบว่าเมื่อใช้ SCJ-YE เชื้อสามารถเจริญและผลิตกรดแลกติกได้ดีกว่าการใช้อาหาร MRS-SCJ โดย *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 และ *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 มีการเจริญและผลิตกรด แลกติกได้เท่ากับ  $2.63 \times 10^{10}$  CFU ml<sup>-1</sup>, 108.4 กรัมต่อลิตร และ  $1.95 \times 10^{10}$  CFU ml<sup>-1</sup>, 112.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

To study lactic acid (LA) production from sucrose, five strains of lactic acid bacteria, namely *Lactobacillus plantarum* SP1-3, *Lactobacillus pentosus* KUB-ST 10-1, *Lactobacillus casei* TISTR 390, *Lactobacillus salivarius* ssp. *salivarius* TISTR 1112 and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 were investigated. Variation of 20-25 g l<sup>-1</sup> carbon sources (glucose, sucrose and sugar cane) was carried out in flasks under static condition without controlling pH at 37 °C for 24 h. No significant differences were observed in LA production of all strains in the presence of glucose and sucrose. LA concentration of 18-20 g l<sup>-1</sup> were obtained from the cultivated cultures with glucose and sucrose except *Lb. salivarius* ssp. *salivarius* TISTR 1112 (11-13 g l<sup>-1</sup>). The ability of the strains to produce LA in flask scale was decreased when using sugar cane juice supplemented with 5 g l<sup>-1</sup> yeast extract (YE) as a substrate. However, higher LA concentration (15-23 g l<sup>-1</sup>) were observed during cultivation in a fermenter with controlling pH at 6.0, 37 °C and 150 rpm using 20-25 g l<sup>-1</sup> sugar cane juice and supplementation with 5 g l<sup>-1</sup> yeast extract. In addition, the cultivation time in the fermenter was shorter than that in the flask and higher productivity of LA was obtained. However *Lb. salivarius* ssp. *salivarius* TISTR 1112 gave the lowest LA concentration and *Lb. casei* TISTR 390 gave the lowest productivity. The cultivation of *Lb. plantarum* SP 1-3, *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 in fermenter at 37 °C and 150 rpm with controlling pH at 6.0 by 136 g l<sup>-1</sup> sugar cane juice and supplemented with 5 g l<sup>-1</sup> YE were investigated. *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 produced higher LA concentration and faster sugar consumption than *Lb. plantarum* SP1-3. Thus, *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 were selected for further study. Both strains were grown in MSR medium (20 g l<sup>-1</sup> sucrose as a carbon source) with various pH leads (5.0, 6.0 and 7.0) at 37 °C and 150 rpm. The result showed that pH 6.0 was optimal for growth and LA production for *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895. The highest LA concentration and dry cell weight of *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 were 19.90 and 3.70 g l<sup>-1</sup>, respectively whereas the corresponding values of 17.50 and 3.50 g l<sup>-1</sup>, respectively were observed for *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895. Effect of sucrose concentrations on LA production were also studied. *Lb. pentosus* KUB-ST10-1 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 were cultivated in MRS medium with variation of sugar concentrations (5, 10, 20, 50, 100, 125 and 150 g l<sup>-1</sup>), at pH 6.0 and 150 rpm. Increasing LA concentration was related with the rising sucrose concentration. The cultivation of *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 at 150 g l<sup>-1</sup> total sugar gave the highest LA concentration (119.90 g l<sup>-1</sup>), whereas the maximum specific growth rate (0.50 h<sup>-1</sup>) and a highest productivity (5.05 g l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) were obtained from 100 g l<sup>-1</sup> sucrose concentration used. For *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895, the highest LA (127.70 g l<sup>-1</sup>) was obtained from 150 g l<sup>-1</sup> sucrose concentration used, whereas a maximum specific growth rate (0.64 h<sup>-1</sup>) and the highest productivity (5.50 g l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) were observed at 100 g l<sup>-1</sup> sucrose concentration.

The potential of LA production by the cultivation of *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 with SCJ was also investigated. These 2 strains were cultivated with SCJ (145-155 g l<sup>-1</sup> total sugar) and supplemented with 37.50 g l<sup>-1</sup> YE (SCJ-YE) to compare with modified MRS (SCJ as a carbon source; MRS-SCJ). Using SCJ-YE as a substrate gave the highest viable cell and LA production than using MRS-SCJ. The viable cell and LA concentrations of *Lb. pentosus* KUB-ST 10-1 and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TISTR 895 cultured in SCJ-YE were in CFU in ml<sup>-1</sup>, g l<sup>-1</sup> (2.63×10<sup>10</sup>, 108.40) and (1.95×10<sup>10</sup>, 112.90), respectively.