บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของกรดแลกติก (lactic acid)

กรดแลกติก หรือกรดนมได้มีการค้นพบครั้งแรกโดย Scheele นักวิทยาศาสตร์ชาวสวีเดน ในปี ค.ศ. 1780 ในนมเปรี้ยว และได้ตั้งชื่อว่า Mjolksyra เป็นกรดชนิดแรกๆ ที่มีการนำมาใช้ในอาหารพบตามธรรมชาติในนมเปรี้ยว กะหล่ำปลี ผักดองชนิดต่างๆ เบียร์และเนยแข็ง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบในเลือดและกล้ามเนื้อของสัตว์ด้วย (Gardner.1972)

กรดแลกติกมีคุณสมบัติดูดความชื้นได้ง่ายอาจอยู่ในรูปเป็นผลึกหรือของเหลวข้น ไม่มีสี มีกลิ่นครีมอ่อนๆ ละลายน้ำได้ดี ให้รสเปรี้ยวปานกลาง ในอุตสาหกรรมอาหารจะมีการใช้กรดแลกติกเป็นสารที่ช่วยเพิ่มความเป็นกรด เป็นวัตถุกันเสีย เป็นส่วนผสมของสารที่ใช้ในการหมักเนื้อ เป็นสารให้กลิ่นรส เป็นสารช่วยเน้นกลิ่นรส ช่วยควบคุมความเป็นกรด – ด่าง และเป็นตัวทำละลาย เป็นต้น (FDA.1988) ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการใช้กรดแลกติก ได้แก่ แยม เยลลี เชอร์เบต ผลิตภัณฑ์ขนมหวาน และเครื่องดื่มชนิดต่างๆ ซอส และผักดอง เป็นต้น โดยอาจจะใช้กรดแลกติกเพียงชนิดเดียวหรือรวมกับกรดชนิดอื่นๆ (ศิวาพร.2546)

สำหรับแคลเซียมแลกเตต มีการใช้ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ เพื่อช่วยป้องกันการสลายตัวของเพ็กติน ทำให้ผักและผลไม้มีความคงตัวมากขึ้น ช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสีและกลิ่นรสของผักและผลไม้ในระหว่างกระบวนการแปรรูป โดยการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะที่ปนเปื้อนมา ช่วยทำให้เกิดเจลดีขึ้นในผลิตภัณฑ์ขนมอบ ช่วยปรับปรุงคุณภาพของนมผงนมข้น (Hansen.1951) และสำหรับแคลเซียมแลกเตตนี้ นอกจากจะใช้เพื่อวัตถุประสงค์ที่กล่าวข้างต้นแล้ว ยังใช้เป็นแหล่งของแคลเซียมสำหรับผู้ป่วยที่ขาดแคลเซียมด้วย โดยอาจจะเสริมในนมหรือน้ำผลไม้ หรืออาหารอื่น หรือจะบริโภคในรูปแคลเซียมแลกเตตเลย ส่วนผู้ขาดเหล็ก สังกะสี และแมกนีเซียม ก็สามารถบริโภคอาหารที่มีการเสริมด้วยเฟอรัสแลกเตต (ferrous lactate) ซิงค์แลกเตต(zinc lactate) และแมกนีเซียมแลกเตต (magnesium lactate) สำหรับในผลิตภัณฑ์ปลา เนื้อและสัตว์ปีก มีการใช้แลกติกหรือเกลือแลกเตตช่วยในการยืดอายุการเก็บด้วย (Dailey *et al*..2000)

อนุพันธ์ของกรดแลกติก เช่น แลกทีเลตเตตโมโนและไดกลีเซอร์ไรด์ของกรดไขมัน (lactylated mono – and diglycerides of fatty acids) มีการนิยมใช้เป็นอิมัลซิฟายเออร์ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยเฉพาะในแป้งเค้กสำเร็จรูปและเนยขาว เป็นต้น ส่วนแคลเซียมสเตียริล –2 – แลกทีเลต (calcium stearyl – 2 – lactylate) นิยมใช้เป็นอิมัลซิฟายเออร์ในผลิตภัณฑ์ขนมปัง (FDA.1988)

2.1.1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของกรดแลกติก

คุณสมบัติทางกายภาพ

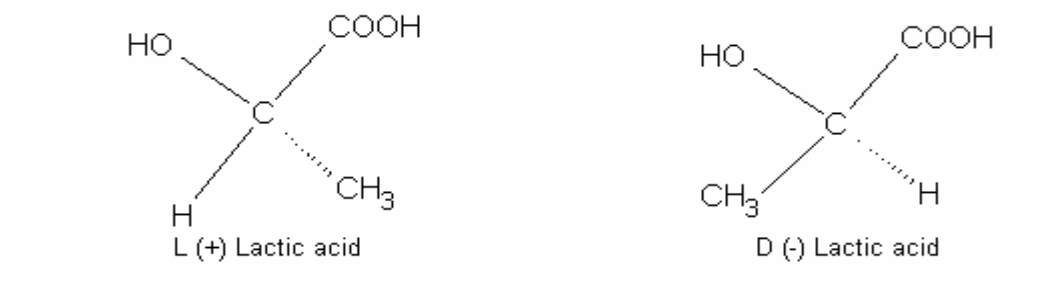
ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลกติก

คุณสมบัติทางกายภาพ	กรดแลกติก
น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)	90.08
จุดหลอมเหลว (Melting point)	16.8 $^{\circ}$ C
จุดเดือด (Boiling point)	82 $^{\circ}$ C ที่ความดัน 0.5 mm.Hg
	122 $^{\circ}$ C ที่ความดัน 14 mm.Hg
ค่าคงที่ของการแตกตัว (K_a ที่อุณหภูมิ 25 $^{\circ}$ C)	1.37×10^{-4}
ค่าความร้อนของการเผาไหม้ (ΔH_c)	1361 KJ/mole
ค่าความร้อนจำเพาะ (C_p ที่อุณหภูมิ 20 $^{\circ}$ C)	190 J/mole/ $^{\circ}$ C

ที่มา :Narayanan *et. al*. (2004)

คุณสมบัติทางเคมี

กรดแลกติกมีชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxypropanoic acid หรือ 2-hydroxypropionic acid สูตรโมเลกุล $C_3H_6O_3$ กรดแลกติกมี 2 ไอโซเมอร์ ดังรูปที่ 2.1

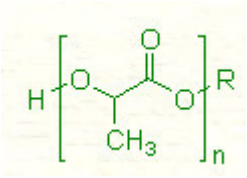


รูปที่ 2.1 โครงสร้างของ L (+) lactic acid และ D (-) lactic acid

ที่มา : Narayanan *et. al*. (2004)

การเปลี่ยนรูปของ L(+) lactic acid และ D(-) lactic acid เกิดจากการหมุนของเอทิลีนออกไซด์บริจด์ (ethylene oxide bridge) ระหว่างคาร์บอนอะตอมที่หนึ่งและอะตอมที่สองโดยเกิด tautomeric shift ของไฮดรอกซิลกรุ๊ป (hydroxy group) บนคาร์บอนอะตอมที่สองไปเป็นคาร์บอนนิลกรุ๊ป (carbonyl group) ของคาร์บอกซิล (carboxyl) กรดแลกติกที่มีความบริสุทธิ์สูงจะไม่มีสี กรดแลกติกสามารถละลายน้ำ เอทานอล อะซีโตน อีเทอร์ และไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม ปิโตรเลียมอีเทอร์ และคาร์บอนซัลไฟด์ (Narayanan *et. al*..2004)

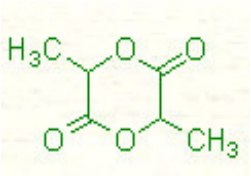
กรดแลกติกมารวมกันหลาย ๆ โมเลกุล ทำให้เกิดพอลิแลกติกแอซิด ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 พอลิแลกติกแอซิด

ที่มา :www.cem.msu.edu/~smithmr/Lactide.htm

กรดแลกติกที่เกิดเป็นไซคลิกพอลิเมอร์ (cyclic polymers) เช่น lactide (3,6-dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dione) ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติก โครงสร้างไซคลิกพอลิเมอร์ของกรดแลกติก ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ไซคลิกพอลิเมอร์ของกรดแลกติก

ที่มา : Sodergard and Stolt. (2002)

กรดแลกติกที่สิ่งมีชีวิตผลิตได้จะมีปริมาณความเข้มข้นต่ำ โดยกรดแลกติกความเข้มข้นสูงเป็นอันตรายต่อร่างกายทั้งภายนอกและภายใน เมื่อกรดสัมผัสกับผิวหนังจะเหมือนถูกไฟลวก เมื่อกรดถูกดวงตาสามารถทำให้ตาบอดได้ ในกรณีที่กรดถูกดวงตาหรือผิวหนังควรล้างออกด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง

2.1.2 กระบวนการผลิตกรดแลกติก

การผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางเคมี แบ่งได้ 4 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 นำ hydrogen cyanide ทำปฏิกิริยากับ acetaldehyde ได้ lactonitrile ทำปฏิกิริยาที่ความดันบรรยากาศ ดังสมการที่ 2.1

$$\underset{\text{acetaldehyde}}{CH_3CHO} + \underset{\text{hydrogen cyanide}}{HCN} \xrightarrow{\text{catalyst}} \underset{\text{lactonitrile}}{CH_3CHOHCN} \qquad (2.1)$$

ขั้นตอนที่2 นำ lactonitrile มาย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก หรือ กรดซัลฟิวริกจะได้กรดแลกติกและเกลือแอมโมเนียมซึ่งเป็นของเหลือทิ้ง ดังสมการที่ 2.2

$$\underset{\text{Lactonitrile}}{CH_3CHOHCN} + H_2O + \underset{\text{sulphuric acid}}{1/2H_2SO_4} \longrightarrow \underset{\text{lactic acid}}{CH_3CHOHCOOH} + \underset{\text{ammonium salt}}{1/2(NH_4)_2SO_4} \qquad (2.2)$$

ขั้นตอนที่3 นำกรดแลกติกที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ โดยทำให้เป็นอนุพันธ์เอสเทอร์ คือ เมทิลแลกเตต นำเมทิลแลกเตตมากลั่นและย่อยจะได้กรดแลกติก ส่วนเมทานอล hydrogen cyanide และสารปนเปื้อนอื่นๆ จะถูกกำจัดออกโดยนำมาผ่านถ่านกัมมันต์ และการทำ ion exchange ดังสมการที่ 2.3 และ 2.4

$$\underset{\text{Lactic acid}}{CH_3CHOHCOOH} + \underset{\text{methanol}}{CH_3OH} \longrightarrow \underset{\text{methyl lactate}}{CH_3CHOHCOOCH_3} + H_2O \qquad (2.3)$$

$$\underset{\text{Methyl lactate}}{CH_3CHOHCOOCH_3} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{lactic acid}}{CH_3CHOHCOOH} + \underset{\text{methanol}}{CH_3OH} \qquad (2.4)$$

ที่มา : Narayanan *et. al.* (2004)

การผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางชีวภาพ

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติกมี 2 ชนิด คือ โฮโมแลกติกแบคทีเรียและเฮทเทอโรแลกติกแบคทีเรีย ซึ่งขั้นตอนในการผลิตกรดแลกติกของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้แสดงดังสมการที่ 2.5 และ 2.6 (Muller. 2001)

$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3CHOHCOOH$ (2.5)

Glucose lactic acid

$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3CHOHCOOH + C_2H_5OH + CO_2$ (2.6)

Glucose lactic acid ethanol carbon dioxide

ที่มา : Muller (2001)

นอกจากนี้กรดแลกติกยังสามารถผลิตได้จากแบคทีเรียชนิดอื่นและฟังไจ ซึ่งสามารถหมักได้แบบกะ กึ่งกะและแบบต่อเนื่อง ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตคือ แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน แร่ธาตุ พีเอช อุณหภูมิ การให้อากาศ (Anders and Mikael . 2002)

ปนัดดาและคณะ(2545)ศึกษาการหมักกรดแลกติกด้วย *Pediococcus* sp. และ *Lactobacillus* sp. ในอาหาร MRS น้ำสับปะรดและนมพร่องมันเนย พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลกติกในอาหาร MRS สูงกว่าการเจริญในอาหารน้ำสับปะรดและนมพร่องมันเนย โดยปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus* sp. ในอาหาร MRS มีปริมาณสูงสุด 9.2 กรัมต่อลิตร ในอาหารน้ำสับปะรดและในนมพร่องมันเนยมีปริมาณ 7.6 และ 7.98 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับกรดแลกติกที่ผลิตได้จากเชื้อ *Pediococcus* sp.ในอาหารทั้ง 3 ชนิด พบว่าอาหาร MRS อาหารน้ำสับปะรด อาหารนมพร่องมันเนยมีปริมาณกรดแลกติก 11.8 11.1 และ 11.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Roukas and Kotzckidou (1998) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* และ *Lactococcus lactis* พบว่าการหมักแบบกะโดยเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ *Lactobacillus casei* ให้ปริมาณกรดแลกติกสูงถึง 30 กรัมต่อลิตร *Lactococcus lactis* ให้ปริมาณกรด 25 กรัมต่อลิตร ภายในเวลา 24 ชั่วโมง และเมื่อเลี้ยงแบบเซลล์ผสมปริมาณกรดแลกติกจะสูงถึง 45 กรัมต่อลิตร

Pauli and Fitzpatrick (2002) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมและมีราคาถูกมาใช้แทนแหล่งไนโตรเจนสังเคราะห์ที่มีราคาแพง โดยมีการเติมแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดยีสต์และสารสกัดจากมอลต์ลงไป แหล่งไนโตรเจนที่ใช้เป็นผลิตผลพลอยได้จากโรงงานผลิตมอลต์เปรียบเทียบกับสารสกัดยีสต์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่นำมาใช้ให้ผลผลิตเทียบเท่ากับสารสกัดยีสต์แต่มีข้อเสียคือเมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิต ผลผลิตที่ได้จะไม่มีความบริสุทธิ์และต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการที่ทำให้ผลผลิตมีความบริสุทธิ์

Yun *et al.* (2003) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตส มอลโตส กาแลกโตส แลคโตส กลีเซอรอล ไซโลส เวย์และแป้ง โดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY 1 พบว่าปริมาณกรดแลกติกจะสูงเมื่อใช้กลูโคส ฟรุกโตสและมอลโตส เป็นสารตั้งต้น

Bulet *et al.* (2004) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากสารตั้งต้นชนิดต่างๆ ได้แก่ ซูโครส กลูโคส โมลาส ฝักถั่วและรำข้าวสาลี โดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* พบว่าปริมาณกรดแลกติกจะสูงเมื่อใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น

Wee *et al.* (2004) ได้นำโมลาสซึ่งมีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบมาใช้ประโยชน์ โดยนำมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตตกรดแลกติกจากเชื้อ *Enterococcus faecalis* พบว่าสามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงถึง 95.7 กรัมต่อลิตรหรือร้อยละ 94.9

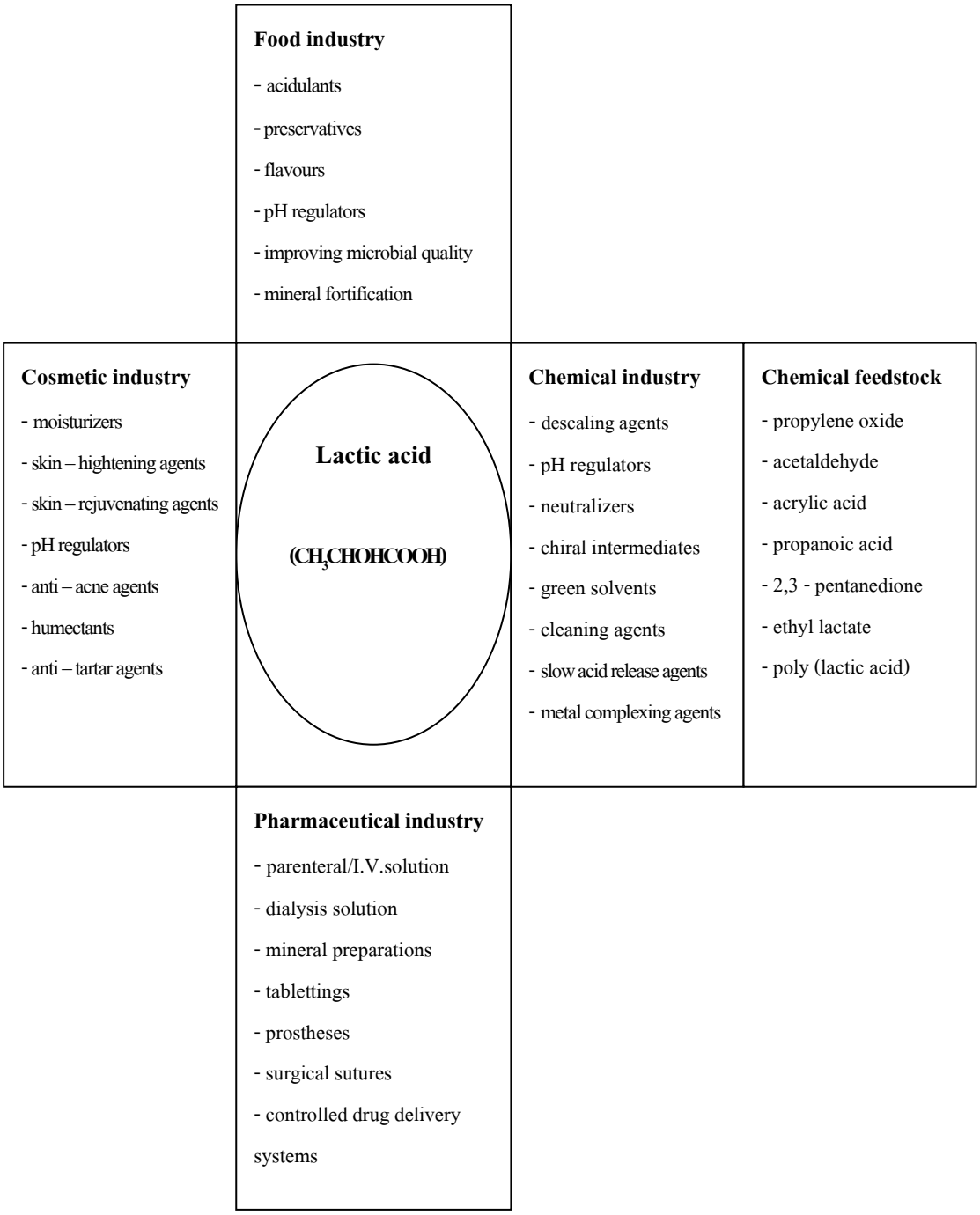
Huang *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้งมันฝรั่ง โดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* และ *Rhizopus arrhizus* พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดสามารถผลิตกรดแลกติกได้ในปริมาณที่สูงประมาณ 0.85 – 0.92 กรัมต่อกรัมสารตั้งต้น

Oh *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูก ได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีและข้าวโพด โดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY1 พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้จะสูงเท่ากัน

Wee *et al.* (2006) ทดลองศึกษาผลิตกรดแลกติกระดับนำร่อง (Pilot – scale) โดยเชื้อ *Lactobacillus* sp. RKY2 ด้วยถังหมักขนาด 2.5 30 และ 300 ลิตร พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้จะให้ปริมาณสูงเท่าๆ กัน

Xu *et al.* (2006) ทดลองศึกษาการผลิตกรดแลกติกจาก soybean stalk hydrolysate โดยเชื้อ *Lactobacillus sake* และ *Lactobacillus casei* พบว่าการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus sake* สามารถผลิตกรดแลกติกได้ร้อยละ 48 สำหรับ *Lactobacillus casei* สามารถผลิตกรดแลกติกได้ถึงร้อยละ 56

2.1.3 การนำกรดแลกติกมาประยุกต์ใช้



รูปที่ 2.4 เทคโนโลยีการผลิตกรดแลกติกและการนำมาประยุกต์ใช้

ที่มา : Wee *et al*.(2006)

2.2 เวย์ (Whey)

เวย์เป็นผลิตผลพลอยได้จากการผลิตเนยแข็งหรือการแยกเคซีนจากนมสด (ศูนย์พัฒนาฝึกอบรมและวิจัยด้านโคนมแห่งชาติ. 2526) มีลักษณะเป็นของเหลวใสมีสีค่อนข้างเขียวอมเหลือง (Marshall. 1982) องค์ประกอบของเวย์โดยทั่วไปพบว่า มีปริมาณน้ำตาลแลคโตสอยู่ในปริมาณมากกว่าสารอาหารอื่น (Westerguard. 1983) คือ ประกอบด้วยน้ำตาลแลคโตสร้อยละ 4 - 5 โปรตีนร้อยละ 1 และเกลือแร่ร้อยละ 1 (Roukas and Kotzckidou. 1998)

2.2.1 ประเภทของเวย์

แบ่งเวย์ออกได้เป็น 2 ประเภท ตามความเป็นกรด (Titable acidity) ได้แก่

1. สวีทเวย์ (Sweet whey) เป็นผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเนยแข็งชนิดแข็ง เช่น เชดดา (Cheddar cheese) เกาดา (Gouda cheese) สวิส (Swiss cheese) เป็นต้น มีค่าความเป็นกรดประมาณร้อยละ 0.10 – 0.20 และมีค่าพีเอชระหว่าง 5.8 – 6.1

2. แอซิดเวย์ (Acid whey) เป็นผลิตผลพลอยได้จากการตกตะกอนนม โดยการเติมกรดหรือเกลือแร่ลงไปโดยตรงในการผลิตเนยแข็งชนิดอ่อน เช่น คอทเทจ (Cottage) เป็นต้น มีค่าความเป็นกรดประมาณร้อยละ 0.40 – 0.60 และมีค่าพีเอชระหว่าง 4.0 – 5.0 (Kosikowski. 1977)

องค์ประกอบที่แตกต่างของเวย์ทั้งสองชนิดได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.2 ซึ่งพบว่าสวีทเวย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างขององค์ประกอบเช่นเดียวกับแอซิดเวย์ โดยแลคติกแอซิดเวย์ (lactic acid whey) จะได้จากการผลิตคอทเทจชีส ส่วนไฮโดรคลอริก (hydrochloric) หรือซัลฟิวริกแอซิดเวย์ (sulphuric acid whey) ได้จากการผลิตเคซีน

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบโดยประมาณของสวีทเวย์และแอซิดเวย์

องค์ประกอบ (ร้อยละ)	สวีทเวย์		แอซิดเวย์	
	เชดดา	เกาดา	แลคติกแอซิดเวย์ (คอจเทจชีส)	ไฮโดรคลอริก/ซัลฟิวริก แอซิดเวย์(เคซีน)
ปริมาณของแข็ง	6.00	5.50	6.00	6.30
น้ำ	94.00	94.50	94.00	93.70
ไขมัน	0.06	0.05	0.05	0.05
โปรตีน	0.80	0.68	0.80	0.80
เถ้า(เกลือแร่)	0.50	0.45	0.67	0.80
น้ำตาลแลคโตส	4.49	4.18	3.63	4.50
กรดแลกติก	0.15	0.14	0.85	0.15

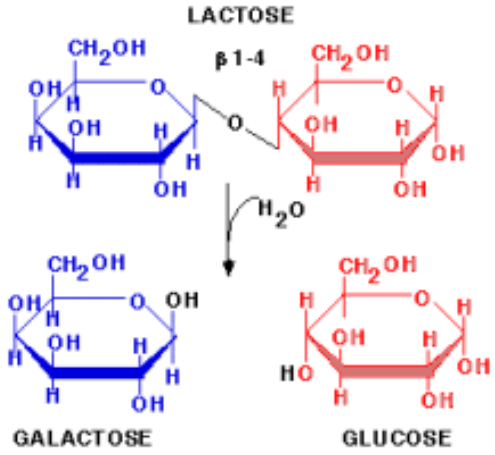
ที่มา : Nielsen and Ullum (1989)

2.2.2 องค์ประกอบหลักทางเคมีของเวย์

1.น้ำตาลแลคโตส

น้ำตาลแลคโตสเป็นน้ำตาลที่พบในน้ำนมเท่านั้น ในน้ำนมวัวมีน้ำตาลแลคโตสอยู่ประมาณร้อยละ 4.7 ซึ่งต่ำกว่าในน้ำนมมนุษย์ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลแลคโตสอยู่ประมาณร้อยละ 6.3 น้ำตาลแลคโตสเป็นน้ำตาลชนิดรีดิวซิง (Reducing sugar) มีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับน้ำตาลทราย คือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ และเมื่อถูกไฮโดรไลส์แล้วจะได้น้ำตาล 2 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคสและกาแลคโตส ดังสมการดังต่อไปนี้

$$\underset{\text{แลคโตส}}{C_{12}H_{22}O_{11}} + \underset{\text{น้ำ}}{H_2O} \longrightarrow \underset{\text{กลูโคส}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{กาแลคโตส}}{C_6H_{12}O_6} \qquad (2.7)$$



รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างแสดงน้ำตาลแลคโตสที่ถูกไฮโดรไลส์

ที่มา : www.ratjes.nl/ lactose.html

2.โปรตีน

โปรตีนในเวย์เป็นส่วนหนึ่งของโปรตีนในน้ำนมซึ่งเป็นโปรตีนตามธรรมชาติที่มีคุณค่าทางอาหารและมีกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง ดังแสดงในตารางที่ 2.3 โปรตีนในเวย์สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลักๆ คือ เบตาแลคโตโกลบูลิน (Beta – lactoglobulin) และแอลฟาแลคทอลบูมิน (Alpha – lactalbumin) โดยเบตาแลคโตโกลบูลินจะมีอยู่ประมาณร้อยละ 50 – 60 มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในสารละลายเกลือเจือจาง สามารถตกตะกอนได้ด้วยเกลือแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) และเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) โปรตีนชนิดนี้มีความสำคัญในแง่การให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์นมชนิดเหลว (วรรณา. 2532) ส่วนแอลฟาแลคทอลบูมินมีอยู่ประมาณร้อยละ 15 – 20 มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ ตกตะกอนได้เมื่อถูกความร้อน ส่วนที่เหลือคือ ซีรัมอัลบูมิน อิมมูโนโกลบูลิน เอนไซม์ต่างๆ และโปรตีนอื่นๆ (Webb and Whitter . 1970) ความแตกต่างขององค์ประกอบและปริมาณโปรตีนในเวย์แสดงไว้ในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในนม เคซีน และเวย์

กรดอะมิโน	องค์ประกอบ (กรัม/100 กรัมโปรตีน)		
	นม	เคซีน	เวย์
ทริปโตเฟน	1.4	1.4	2.1
ฟีนิลอะลานีน	5.2	5.1	3.8
ลิวซีน	10.4	10.4	11.1
ไอโซลิวซีน	6.4	5.7	6.8
ทรีโอนีน	5.1	4.6	8.0
เมทไทโอนีน	2.7	2.8	2.4
ไลซีน	8.3	8.3	9.9
วาลีน	6.8	6.8	6.8

ที่มา : Renner (1983)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบและปริมาณโปรตีนในเวย์

ชนิดของโปรตีนในเวย์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)	ปริมาณโปรตีน	ค่าพีเอช	น้ำหนักโมเลกุลดาลตัน $x10^3$
แอลฟาแลคโตโกลบูลิน	3.0	50	5.3 – 5.5	18.3
เบตาแลคทอลบูลิน				
โปรติเอส เปปโตน	0.7	12	4.2 – 4.5	14
โบรวิน ซีรัม อัลบูมิน	1.4	23	-	4.1 – 4.8
อิมมูโนโกลบูลิน	0.3	5	5.1	69
แลคโตเฟอร์ริน	0.6	10	5.5 – 8.3	15 – 1000
แลคโตเพอร์ออกซิเดส	0.05	0.8	9.0	81 -84
	0.03	0.5	9.6	89

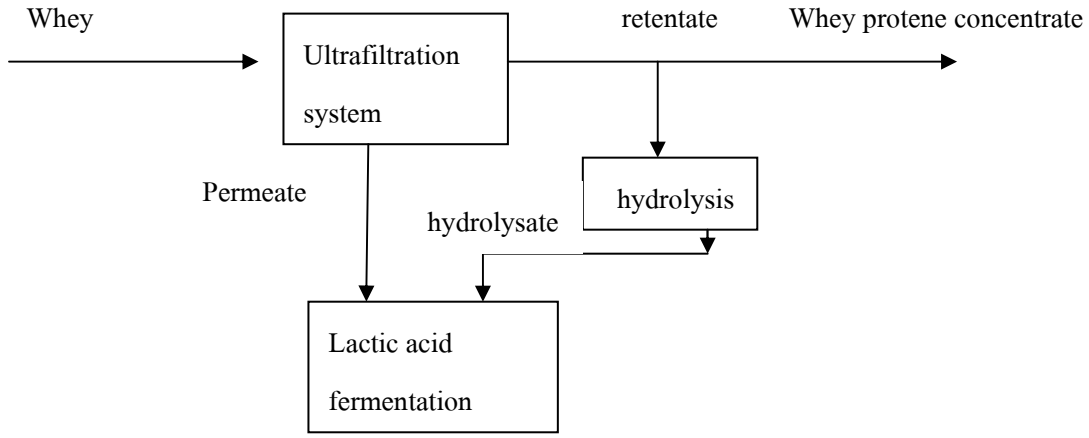
ที่มา : Marshall (1982)

2.2.3 การใช้ประโยชน์จากเวย์

เนื่องจากเวย์ก่อให้เกิดปัญหามลภาวะทางสิ่งแวดล้อม นักวิจัยจึงได้ศึกษาหาทางนำเวย์มาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ดังมีรายงานการใช้ประโยชน์จากเวย์ดังนี้ (ชลัท.2534)

2.2.3.1 Whey permeate

Whey permeate เป็นผลิตผลพลอยได้จากการนำเวย์มาผลิตเป็นโปรตีนเวย์เข้มข้น มีแลคโตสและไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้เป็นส่วนประกอบหลัก จึงมีความสนใจในการนำ Whey permeate มาใช้แทนแหล่งคาร์บอนอื่นที่มีราคาแพงในการผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีการทางชีวภาพ ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 Whey permeate

ที่มา : Fitzpatrick *et al.* (2001)

2.2.3.2 โปรตีนเวย์เข้มข้น

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยโปรตีนที่ละลายได้และโปรตีนที่ตกตะกอน มีวิธีการทำ คือ นำเวย์มาทำให้มีสภาพเป็นกลาง จากนั้นนำไประเหยจนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับร้อยละ 62 ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นแยกเพื่อเอาแลคโตสและเกลือแร่ออกมาให้เหลือแต่โปรตีนจากนั้นนำไปกรองจะได้เป็นโปรตีนเวย์เข้มข้นสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 5 เดือน นำไปใช้ในการผลิตอาหารเด็ก ผลิตภัณฑ์ขนมอบและไอศครีม (ชลัท. 2534)

2.2.3.3 ผลึกแลคโตส

เวย์ที่สามารถนำมาผลิตเป็นผลึกแลคโตสได้นั้นสามารถใช้ได้ทั้งเวย์สดและเวย์ที่ผ่านการแยกโปรตีนออกแล้ว ผลึกแลคโตสสามารถนำมาผลิตเป็นลูกกวาด ใช้เป็นสารขัดฟันในยาสีฟัน ใช้เป็นสารป้องกันการจับตัวเป็นก้อน(ชลัท. 2534)

2.2.3.4 การผลิตเนยแข็งจากเวย์

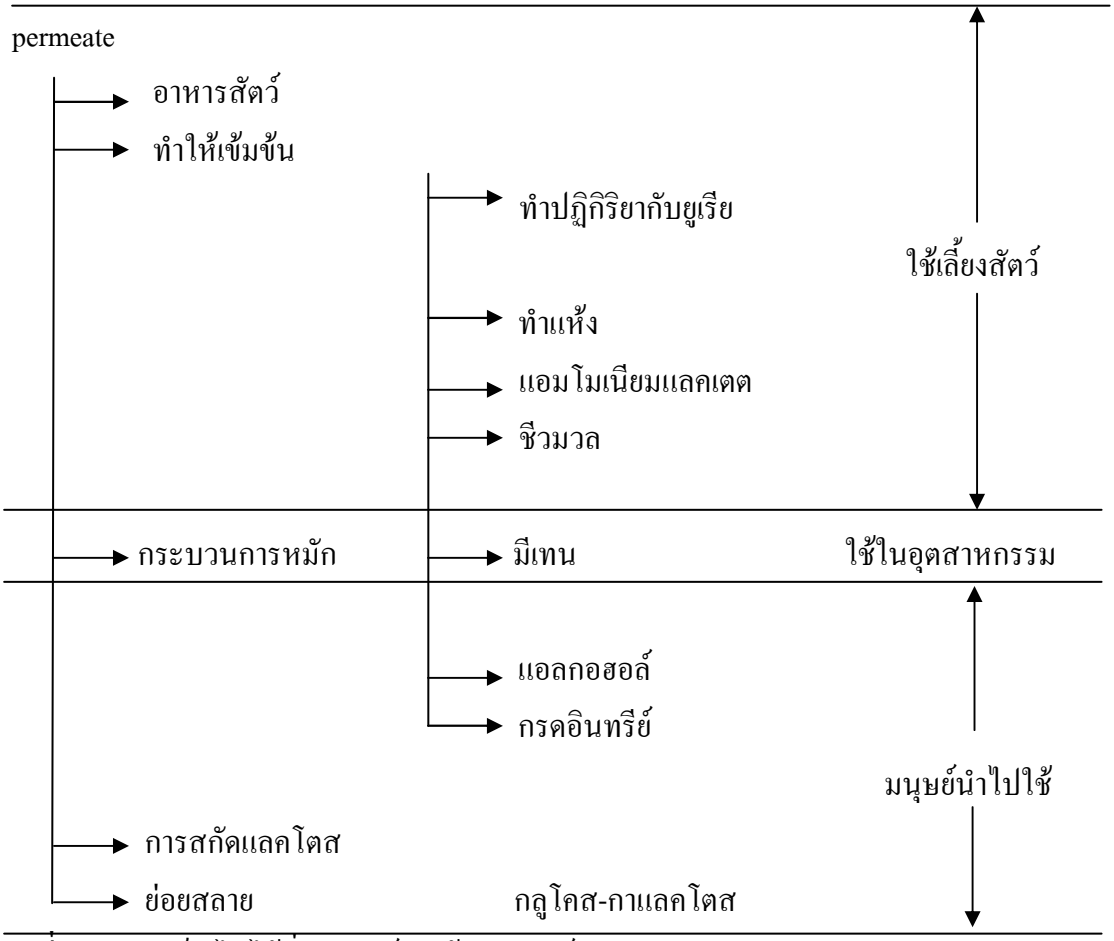
นำเวย์มาระเหยภายใต้สภาพสูญญากาศจนมีความเข้มข้นร้อยละ 80 แล้วจึงลดอุณหภูมิก่อนที่จะบรรจุพิมพ์ ตัวอย่างเนยแข็งจากเวย์ ได้แก่ ไมซอสท์ (Mysost) จีทอสท์ (Gjetost) พูลทอสท์ (Putost) สุพรีม (Supriam) เป็นต้น (ชลัท. 2534)

โดยทั่วไปเวย์จะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง ถ้าเปรียบเทียบค่า BOD ระหว่างน้ำเสียที่ปล่อยลงแม่น้ำลำคลอง ควรบำบัดน้ำจนมีค่า BOD เหลือประมาณ 20 แต่เวย์มีค่า BOD อยู่ในช่วง 4,000 – 4,800 ซึ่งเป็นอันตรายที่ค่อนข้างสูง (Scott. 1986) ดังนั้นถ้าไม่ลดการทำงานและ การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จะมีผลทำให้แลคโตสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นกรดแลคติกอย่างรวดเร็ว ทำให้ความเป็นกรดของเวย์สูงขึ้นและเกิดการเสื่อมเสียในที่สุด (ศูนย์พัฒนาฝึกอบรมและวิจัยด้านโคนมแห่งชาติ. 2526) ดังนั้นเพื่อคงรักษาคุณภาพของเวย์ (Alfa – Laval. 1987) ได้แนะนำวิธีเก็บรักษาไว้ 2 ทาง คือ ทางตรงและทางอ้อม

การเก็บรักษาทางตรงทำได้ 3 วิธีคือ การใช้ความเย็นที่อุณหภูมิ 0 – 5 องศาเซลเซียส วิธีนี้สามารถเก็บรักษาได้นาน 10 – 15 ชั่วโมง การใช้ความร้อนโดยวิธีพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า และวิธีสุดท้ายคือ การใช้สารเคมี ได้แก่ โซเดียมไบซัลเฟต หรือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การเก็บรักษาทางอ้อมสามารถทำได้โดยนำเวย์ผ่านกระบวนการอย่างใดอย่างหนึ่งที่เหมาะสม ได้แก่ การทำเป็นเวย์ผงหรือเวย์เข้มข้น

แผนผังแสดงความเป็นไปได้ในการนำเวย์มาใช้ประโยชน์แสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ความเป็นไปได้ที่จะนำเวย์มาใช้ประโยชน์

ที่มา : Pedersen and Werner (1978)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาวิจัยที่นำเวย์มาใช้ประโยชน์อื่นๆ ดังนี้

วนปรัสต์ และคณะ (2545) ศึกษาการเจริญและการสร้างสารให้กลิ่นรสของแบคทีเรียแลกติกในเวย์ โดยทดลองเลี้ยงเชื้อแลกติกแอซิดแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* และ *Lactobacillus casei* เพื่อศึกษาการเจริญ การสร้างกรดและการสร้างสารให้กลิ่นรส ในการเลี้ยงแต่ละคราวได้ใช้เชื้อแลกติกแอซิดแบคทีเรียสายพันธุ์เดียวหรือใช้เชื้อผสม 2 หรือ 3 สายพันธุ์ พบว่าเวย์หมักด้วยหัวเชื้อผสมของ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ในปริมาณร้อยละ 9 หมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ให้กรดแลกติกร้อยละ 0.64 ซึ่งสูงกว่าในเวย์ที่หมักด้วยแลกติกแอซิดแบคทีเรียสายพันธุ์เดียวหรือเชื้อผสมอื่นๆ และกรดที่ได้นี้มีค่าใกล้เคียงกับปริมาณที่พบในนมเปรี้ยวทั่วไป ในการวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสในเวย์ที่หมักด้วยเชื้อแลกติกแอซิดแบคทีเรียแต่ละคราวด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี/แมสสเปกโตเมตตรี (GC/MS) พบว่าสารหอมระเหยที่สร้างขึ้นมีรูปแบบเฉพาะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์แลกติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้

Bogdanova(1974)ได้ศึกษาการนำเวย์มาทำเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโดยการนำเวย์มาพาส เจอไรส์ที่อุณหภูมิ 95 – 97 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 35 – 40 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเอาเฉพาะส่วนใสมาเติมหัวเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และเติมเชื้อยีสต์ลงไป บ่มที่อุณหภูมิ 30 – 33 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 – 18 ชั่วโมง

Gurr *et al.* (1984)ได้ศึกษาการผลิตโยเกริต์โดยการนำเวย์ไปกรองแล้วนำส่วนใสมาผสมกับหางนมพาสเจอไรส์ บ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เติมทรีโอนีนปริมาณร้อยละ 0.1 และเติมสตาร์ตเตอร์ *Bifidobacterium bifidum* หรือ *Bifidobacterium longum* ปริมาณร้อยละ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ได้ต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Arasaratna *et al.*(1996) นำเวย์มาผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้คือ 20 กรัมต่อลิตร ภายใน 120 ชั่วโมง

Ertrs *et al.*(1998) ศึกษาการนำเวย์มาผลิตไรโบฟลาวินโดยเชื้อ *Ashgya gossypii* พบว่าสามารถผลิตไรโบฟลาวินได้ 30 กรัมต่อกรัมสารตั้งต้น ภายในเวลา 8 วัน

Roukas and Kotzekidou (1998) ได้ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* และ *Lactococcus lactis* พบว่าได้ปริมาณกรดแลกติกสูงถึง 45 กรัมต่อลิตร

Fitzpatrick and O'Keeffe (2001) ศึกษาอิทธิพลของ whey protein hydrolysate (WPH) ที่เติมลงใน whey permeate พบว่าสามารถผลิตกรดแลกติกได้ในปริมาณที่สูงและรวดเร็ว

Pauli and Fitzpatrick (2002) ได้ศึกษาการนำเวย์มาผลิตกรดแลกติกโดยมีการเติมแหล่งไนโตรเจนเพิ่มลงไป โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 90

Fitzpatrick *et al.* (2003) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ เพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพจากกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei*

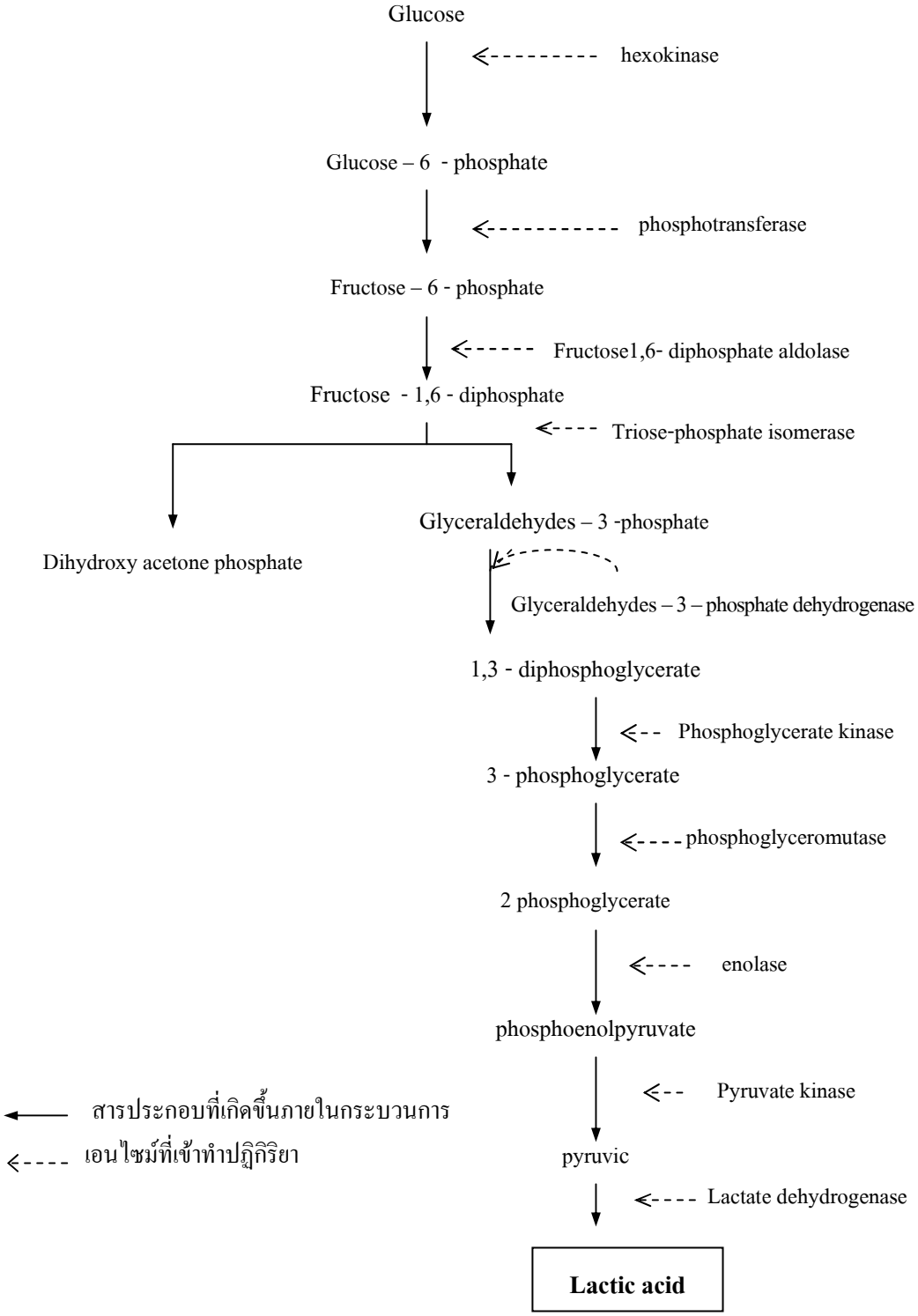
Kargi and Ozmihci (2006) ศึกษาการนำเวย์มาผลิตเอทธานอลโดยใช้เชื้อ *Kluyveromyces marxianus* NRRL – 1195 ในการผลิตใช้วิธีการหมักแบบกะ พบว่าสามารถให้เอทธานอลในปริมาณที่สูง ระหว่าง 0.35 – 0.54 กรัมเอทธานอลต่อน้ำตาล 1 กรัม

2.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติก

แลกติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic Acid Bacteria ; LAB) จัดอยู่ใน แฟมิลี่ Lactobacillacea เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีเอนไซม์คะตะเลส ไม่มีไซโตโครม ทนต่อสภาวะมีอากาศ (aerotolerant) ทนกรด มีทั้งลักษณะรูปร่างกลมและรูปร่างท่อน (Salminen.1998) ในการเจริญได้พลังงานจากระบวนการหมัก (fermentation) น้ำตาลชนิดต่างๆ โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส มีความต้องการอาหารที่สมบูรณ์ (complex medium) ลักษณะที่สำคัญของแลกติกแอซิด

แบคทีเรียคือความสามารถในการย่อยน้ำตาลให้เป็นกรด ซึ่งทำให้เกิดรสชาดที่ต้องการในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น ผักดอง เนยแข็ง แลกติกแอซิดแบคทีเรียมีบทบาทในการหมักอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิดด้วยกัน เช่น นมเปรี้ยว เนยชนิดต่างๆ ผักและผลไม้ดอง ไส้กรอก เบียร์ ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดต่างๆ แลกติกแอซิดแบคทีเรียต้องการแหล่งไนโตรเจนในรูปสารอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโนและนิวคลีโอไทด์ นอกจากนี้ยังต้องการวิตามินและเกลือแร่อีกหลายชนิดในการเจริญ ซึ่งความต้องการสารอาหารต่างๆ เหล่านี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ (Priest and Campbell . 1996) ในปี 1919 Orla – Jensen เป็นผู้เริ่มจัดอนุกรมวิธานแลกติกแอซิดแบคทีเรียอย่างเป็นระบบโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐาน ความสามารถในการหมักน้ำตาลชนิดต่างๆ ชนิดของกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคสแบ่งได้ 2 ชนิด ดังนี้

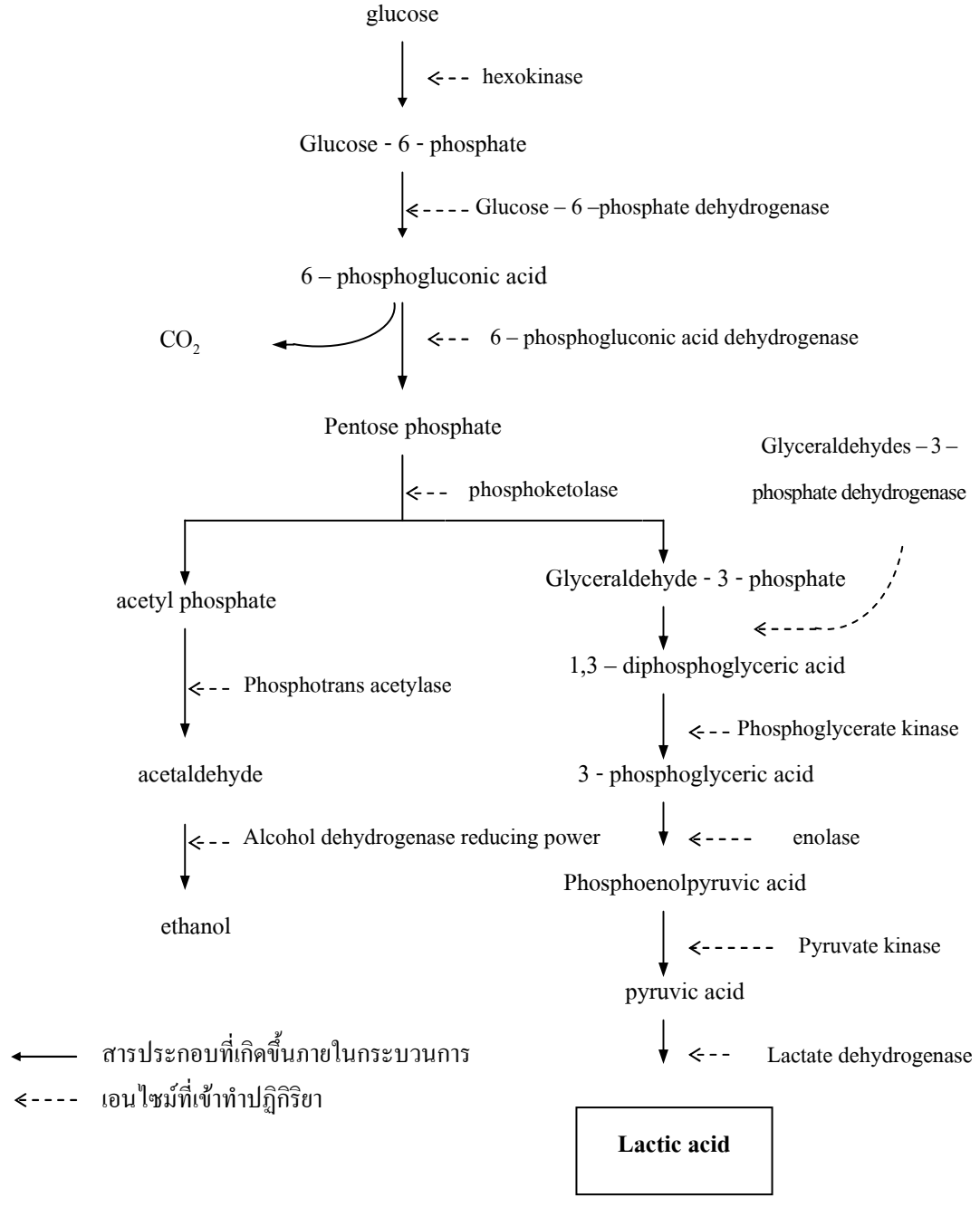
2.3.1. โฮโมแลกติกเฟอเมนเตทีฟ (Homolactic fermentative) เป็นกระบวนการหมักที่ทำให้ได้ผลผลิตสุดท้ายคือกรดแลกติกเป็นส่วนใหญ่ โดยกลุ่มโฮโมเฟอเมนเตทีฟ (homofermentative) โดยกลไกการเกิดกรดแลกติกคือการเปลี่ยนกลูโคสเป็นไพรูวิกแอซิด (pyruvic acid) โดยเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ด้วยวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis) แล้วเปลี่ยนไพรูวิกแอซิดเป็นแลกติกแอซิด ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 กลไกการเกิดกรดแลกติกด้วยวิถีไกลโคไลซิสโดยแลกติกแอซิด กลุ่มโฮโมแลกติกเฟอเมนเตทีฟ (Homolactic fermentative)

ที่มา : Salminen *et al.*(1998)

2.3.2. เฮทเทอโรแลกติกเฟอร์เมนเตทีฟ (Heterolactic fermentative) เป็นกระบวนการหมักที่เกิดกรดแลกติก เอทธานอล ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือกรดอะซิติก กลไกการเกิดกรดแลกติกดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 กลไกการเกิดกรดแลกติกโดยแลกติกแอซิดกลุ่ม เฮทเทอโรแลกติกเฟอร์เมนเตทีฟ (Heterolactic fermentative)

ที่มา : Salminen *et al.* (1998)

ปัจจุบันได้มีการจัดจำแนกแลกติกแอซิดแบคทีเรียออกเป็น 12 สกุล (Salminen.1998) ได้แก่ *Streptococcus, Enterococcus, Lactococcus, Vagococcus, Aerococcus ,Pediococcus, Tetragenoccus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactobacillus* และ *Carnobacterium* ลักษณะและความแตกต่างของแต่ละสกุลแสดงดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 แสดงลักษณะความแตกต่างของแลกติกแอซิดแบคทีเรีย

ลักษณะ	รูปร่างท่อน		รูปร่างกลม							
			Lactoc.			*Leucon.*				
	Carnob.	*Lactob.*	*Aeroc.*	*Enteroc.*	*Vagoc.*	*Oenoc.*	*Pedioc.*	*Streptoc.*	*Tetragenoc.*	*Weissella.*
เซลล์ต่อกันเป็น 4 เซลล์	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
ผลิต CO_2 จากกลูโคส	-	±	-	-	-	+	-	-	-	+
เจริญที่ 10 องศาเซลเซียส	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
เจริญที่ความเข้มข้น โซเดียมคลอไรด์ 6.5 เปอร์เซ็นต์	ND	±	+	+	-	±	±	-	+	±
เจริญที่ความเข้มข้น โซเดียมคลอไรด์ 18 เปอร์เซ็นต์	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
เจริญที่พีเอช 4.4	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	±
เจริญที่พีเอช 9.6	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
ชนิดของกรดแลกติก	L	D,L,DL	L	L	L	L	D,DL	L	L	D,DL

ที่มา : Salminen *et al.* (1998)

แลกโตบาซิลัส (*Lactobacillus sp.*) เป็นแลกติกแอซิดแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุดมีความหลากหลายของลักษณะฟีโนไทป์ คุณสมบัติทางชีวเคมีและรูปร่างทางสัณฐานวิทยา เนื่องจากความแตกต่างของโมเลกุลเปอร์เซนต์ G + C ภายในสกุลสูงระหว่าง 32 – 53 เปอร์เซ็นต์ สามารถเจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 2 – 53 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิเจริญได้ดีและเหมาะสมคือที่ 30 – 40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 5.5 – 6.2 หรืออาจเจริญได้ที่ พีเอช 5.0 หรือต่ำกว่านี้ได้ (Sneath *et al.*. 1984)

Lactobacillus sp. จัดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (Stiles and Holzapfel. 1997) ดังนี้ คือ

obligately homofermentative lactobacilli

facultatively heterofermentative lactobacilli

obligately heterofermentative lactobacilli

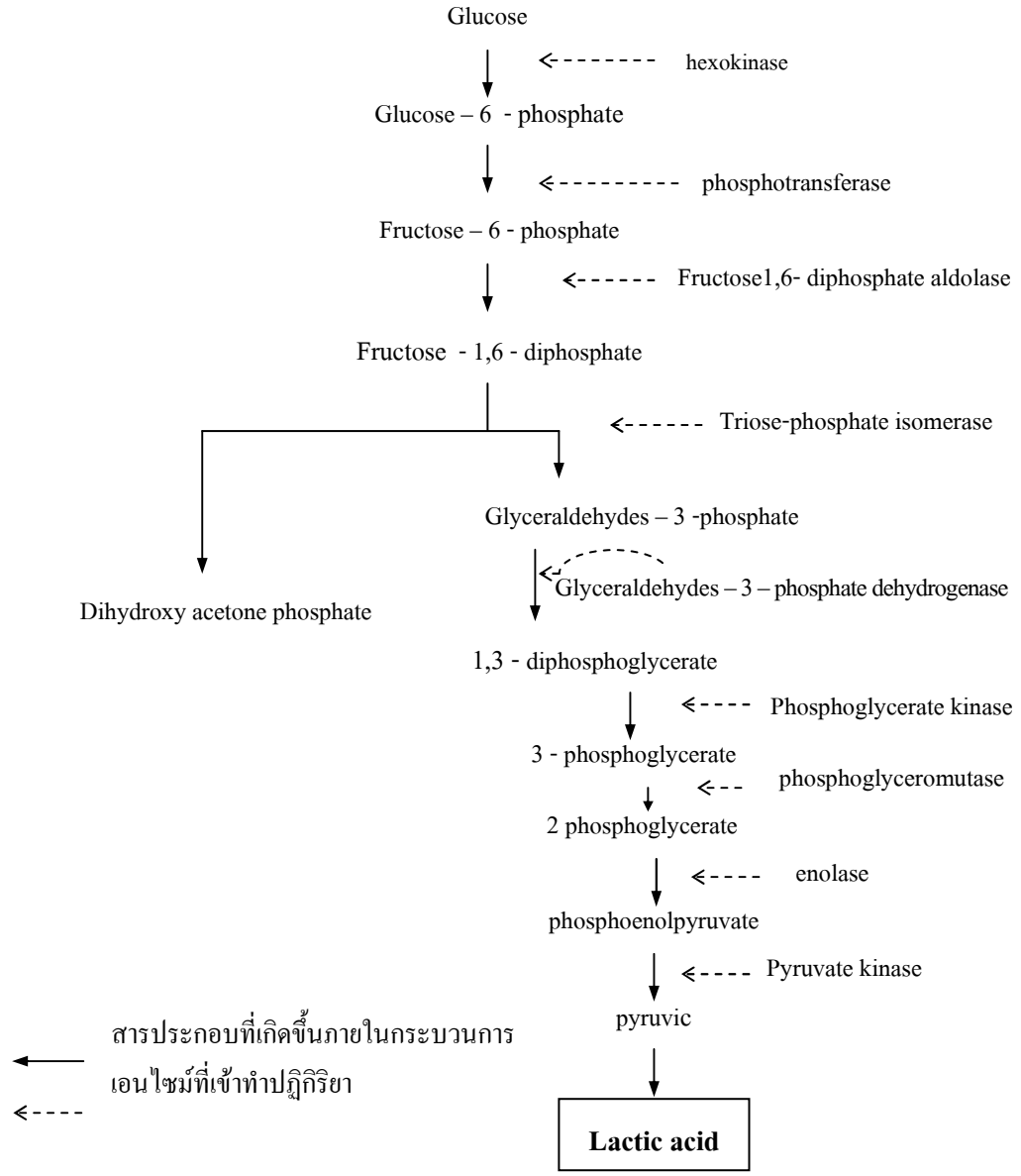
ลักษณะและความแตกต่างของแต่ละกลุ่ม แสดงดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ลักษณะและความแตกต่างของ *Lactobacillus* sp.ทั้ง 3 กลุ่ม

ลักษณะ	กลุ่ม I ,obligately homofermentative lactobacilli	กลุ่ม II,facultatively heterofermentative lactobacilli	กลุ่ม III,obligately heterofermentative lactobacilli
การหมักน้ำตาลเพนโตส	-	+	+
การสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคส	-	-	+
การสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคเนต	-	+	+
เอนไซม์ FDP aldolase	+	+	-
เอนไซม์ Phosphoketolase	-	+	+
	Lb.acidophilus	*Lb.casei*	*Lb.brevis*
	Lb.delbruckii	*Lb.curvatus.*	*Lb.buchneri*
	Lb.helveticus	*Lb.plantarum*	*Lb.fermentum*

ที่มา : Salminen *et al.* (1998)

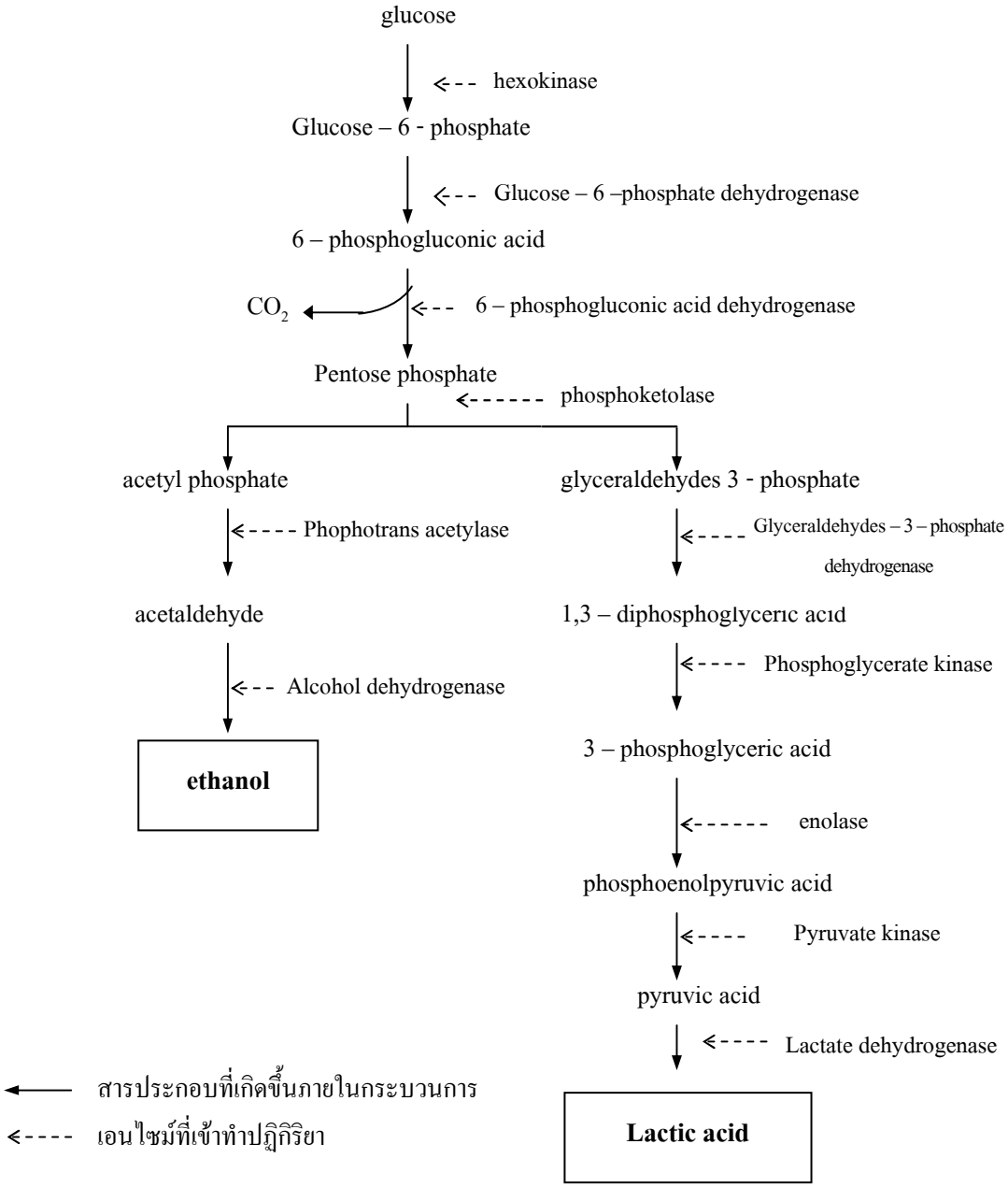
กลุ่ม I obligately homofermentative lactobacilli แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถหมักน้ำตาลเฮกโซส (มากกว่าร้อยละ 85) เป็นกรด แลกติกโดยวิถี Embden – Meyerhof- Parnas (EMP) สามารถผลิตเอนไซม์Fructose-1,6-bisphosphate-aldolase แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ phosphoketolase ดังนั้นจึงไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโทสและกลูโคเนตได้ (Wood and Holzapfel.1995) ดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 วิถี Embden – Meyerhof- Parnas (EMP) ในการผลิตกรดแลกติกของกลุ่ม obligately homofermentative lactobacilli

ที่มา : Salminen *et al.*(1998)

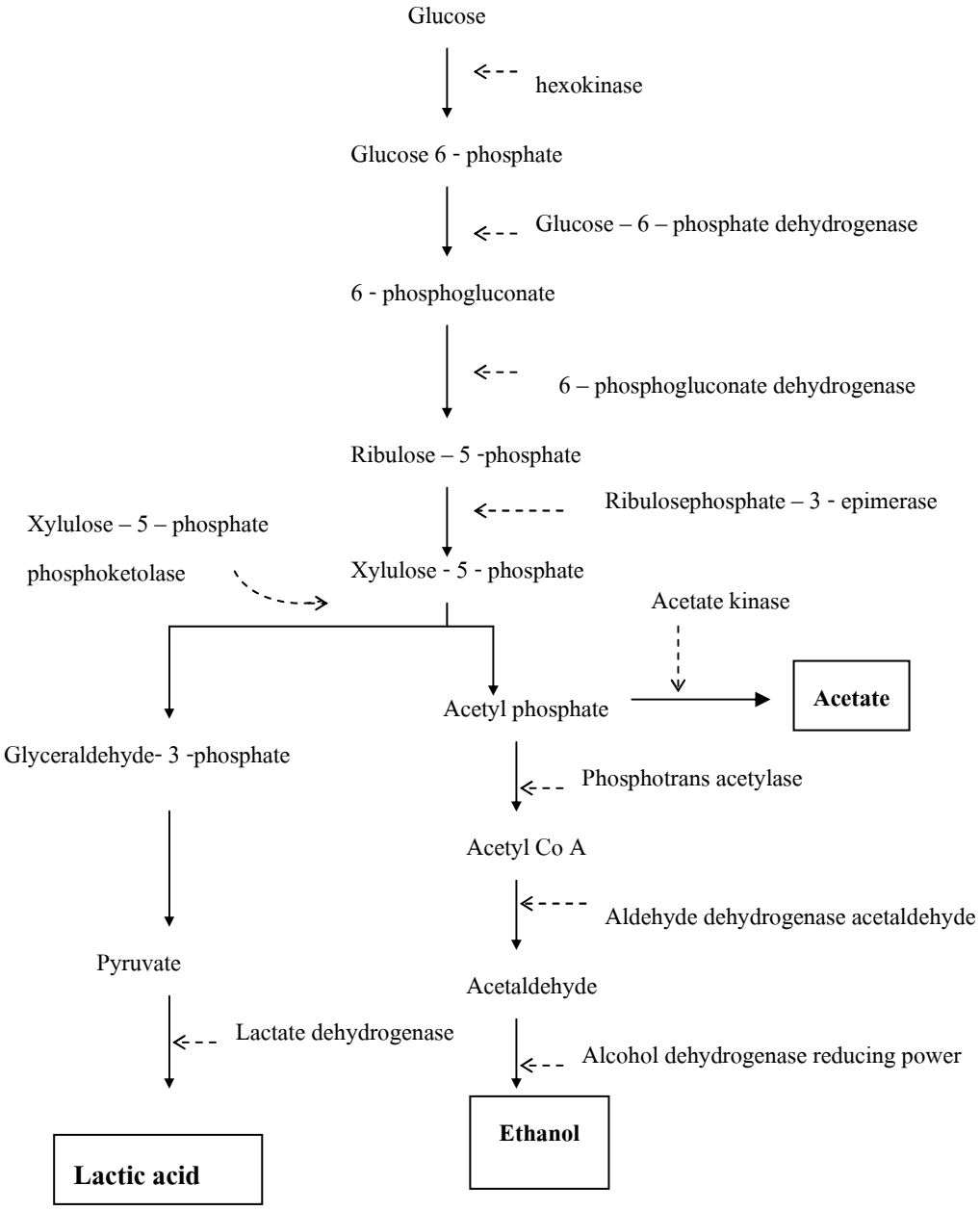
กลุ่ม II facultatively heterofermentative lactobacilli แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถหมักน้ำตาล เฮกโซสเป็นกรดแลกติกโดยวิถี Embden – Meyerhof- Parnas (EMP) สามารถผลิตเอนไซม์ aldolase และ phosphoketolase ดังนั้นจึงสามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโตสได้ (Wood and Holzapfel.1995) ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 วิถี Embden – Meyerhof- Parnas (EMP) ในการผลิตกรดแลกติกของกลุ่ม facultatively heterofermentative lactobacilli

ที่มา : www.brighton73.freeserve.co.uk

กลุ่ม III obligately heterofermentative lactobacilli แบคทีเรียกลุ่มนี้หมักน้ำตาลเฮกโซส และเพนโทสผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนตเป็นแลคเตต เอทานอล (กรดอะซิติก) และคาร์บอนไดออกไซด์ (Wood and Holzapfel.1995) ดังรูปที่ 2.12

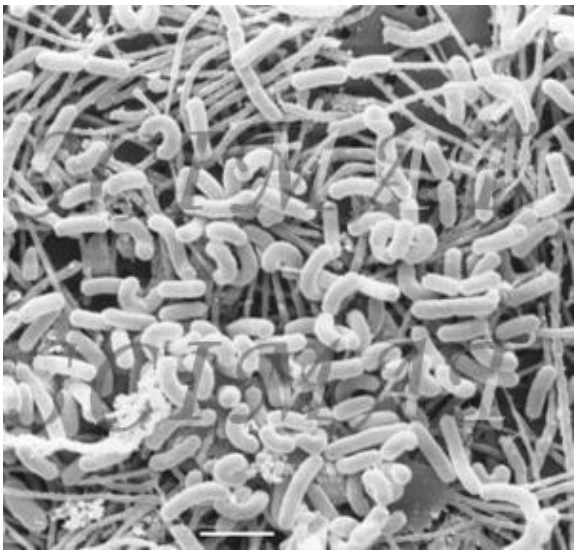


รูปที่ 2.12 วิถีฟอสโฟกลูโคเนตในการผลิตกรดแลกติกของกลุ่ม obligately heterofermentative lactobacilli
ที่มา : www.brighton73.freeserve.co.uk

แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษา

Lactobacillus casei เป็น facultatively anaerobic จัดอยู่ในกลุ่ม facultatively lactobacilli แบคทีเรียแกรมบวก ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่สร้างสปอร์ รูปร่างเป็นท่อน(Sneath *et al*.. 1984) ดังรูปที่ 2.13 แบคทีเรียแลกติกที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรม พบในน้ำนมและผลิตภัณฑ์จากพืช และในบริเวณลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ *Lactobacillus casei* สายพันธุ์ชิโรต้าเป็นสายพันธุ์หลักในการผลิตนม นอกจากนี้ได้มีการนำ *Lactobacillus casei* ไปใช้ในงานวิจัยและอุตสาหกรรมต่างๆ อีกมากมาย ดังนี้

ลัญจกร และคณะ (2548) ได้ศึกษาการพัฒนาสูตรอาหารเพื่อการผลิตแบคเทอริโอซินจาก *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* SN 11 โดยใช้น้ำมะพร้าวและน้ำนึ่งปลาทูน่าเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ในอาหารทุกสูตร แต่เจริญได้ดีที่สุดในอาหารสำเร็จ (MRS) โดยให้กิจกรรมยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็น 20 AU/ml ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 16 – 24 ซึ่งเป็นช่วง late log phage ถึงระยะ early stationary phase ในขณะที่สูตรอาหารดัดแปลง CW1 (สัดส่วนน้ำนึ่งปลาทูน่า ต่อน้ำมะพร้าว เป็น 1 ต่อ 1) ให้ค่ากิจกรรมการยับยั้งเป็น 20 AU / ml ใน ชั่วโมงที่ 20 และสูตรอาหารดัดแปลง CW 2 (1 ต่อ 2),CW 3(1ต่อ 3)และ CW 4 (1 ต่อ 4) มีกิจกรรมการยับยั้งเป็น 10 AU / ml ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 16 ตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง และพบกิจกรรมการยับยั้งเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยในสูตรอาหาร ทูน่า 2 (สัดส่วนน้ำนึ่งปลาทู ต่อน้ำมะพร้าว เป็น 2 ต่อ 1) และ ทูน่า 3 (3 ต่อ1) และไม่พบกิจกรรมการยับยั้งใดๆ ในสูตรอาหารทูน่า 4 (4 ต่อ1)



รูปที่ 2.13 *Lactobacillus casei* ขนาด 2 ไมครอน โดยกล้องจุลทรรศน์ส่องผ่าน

ที่มา : www.lactospore.com

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก

2.4.1 แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสร้างพลังงานและเซลล์ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ จะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 10 ในการสร้างเซลล์ ส่วนจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศ จะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 50 – 55 ในการสร้างเซลล์ (สมใจ.2544)

ปนัดดาและคณะ(2545) ศึกษาการหมักกรดแลกติกในอาหาร MRS น้ำสับปะรดและนมพร่องมันเนยด้วย *Pediococcus* sp. และ *Lactobacillus* sp. พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus* sp. ในอาหาร MRS มีปริมาณสูงสุด 9.2 กรัมต่อลิตร ในอาหารน้ำสับปะรดและในนมพร่องมันเนยมีปริมาณ 7.6 และ 7.98 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับกรดแลกติกที่ผลิตได้จากเชื้อ *Pediococcus* sp.ในอาหารทั้ง 3 ชนิด พบว่าอาหาร MRS อาหารน้ำสับปะรด อาหารนมพร่องมันเนยมีปริมาณกรดแลกติก 11.8, 11.1 และ 11.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Arasaratnam *et al.* (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าเมื่อนำเวย์มาเติมกลูโคสลงไป 20 กรัมต่อลิตรร่วมกับสารสกัดยีสต์ปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร กรดแลกติกที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้น

Yun *et al.* (2003) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในการผลิตกรดแลกติกจากเชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY 1 แหล่งคาร์บอนที่ใช้ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตส น้ำตาลมอลโตส น้ำตาลกาแลกโตส น้ำตาลแลกโตส กลีเซอรอล ไซโลส เวย์และแป้ง พบว่า ในน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตสและน้ำตาลมอลโตส จุลินทรีย์สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงถึง 18.18, 17.95 และ 16.80 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำตาลกาแลกโตส น้ำตาลแลกโตส กลีเซอรอล ไซโลส เวย์และแป้งจะให้ปริมาณกรดแลกติก 2.7, 1.26, 2.24, 1.68, 1.83 และ 1.19 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำ

Yun *et al.* (2003) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแหล่งคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ โดยใช้เชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY 1 ด้วยวิธีการหมักแบบกะ พบว่า เมื่อเซลล์เจริญในอาหารที่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลมอลโตส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนปริมาณการผลิตจะอยู่ระหว่าง 5.2 – 6.0 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง กรดแลกติกที่ได้คิดเป็น 0.96 กรัมต่อกรัมแหล่งคาร์บอน การผลิตกรดแลกติกจากกลูโคส ฟรุกโตสและมอลโตส โดย *Enterococcus faecalis* RKY 1 สามารถให้ปริมาณกรดแลกติกที่สูง

Bulet *et al.*(2004) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส โมลาส ฝักถั่ว เละรำข้าวสาลี ในการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* พบว่ากลูโคส เพียงอย่างเดียวให้กรดแลกติกในปริมาณที่สูง เช่นเดียวกับที่ใช้น้ำตาลจากฝักถั่วให้ปริมาณกรดแลกติก สูงถึง 58 กรัมต่อลิตร

Wee *et al.* (2004) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากโมลาสในการผลิตกรดแลกติก โดยใช้เชื้อ *Enterococcus faecalis* ด้วยวิธีการหมักแบบกะ พบว่าที่ความเป็นกรดด่าง 7.0 ได้ปริมาณกรดแลกติก 95.7 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 94.9

Huang *et al.*(2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้งมันฝรั่ง โดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* และ *Rhizopus arrhizus* พบว่า ความเข้มข้นของแป้งที่ 20 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด – ด่างที่ 6.0 อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณกรดแลกติก 0.85 – 0.92 กรัมต่อกรัมสารตั้งต้น

Oh *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูก เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีและข้าวโพด โดยนำมาย่อยกับเอนไซม์ และจึงนำไปผลิตกรดแลกติก ด้วยเชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY 1 พบว่า เมื่อใช้ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีเป็นสารตั้งต้นจะให้ปริมาณกรดแลกติกมากกว่า 0.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่ออาหารประกอบด้วยแป้งสาลีที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 200 กรัมต่อลิตร แป้งข้าวโพด 15 กรัมต่อลิตร สารสกัดยีสต์ 1.5 กรัมต่อลิตร ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตจะสูงถึง 5.36 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ปริมาณเซลล์จะสูงถึง 14.08 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการใช้แป้งสาลีเพียงอย่างเดียว

Kadam *et al.* (2006) ศึกษาแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส แลคโตส กาแลคโตส ไซโลส มอลโตส ที่สามารถให้ปริมาณกรดที่สูง โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่ากลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่สามารถให้ปริมาณกรดแลกติกที่สูงที่สุด

Ohkouchi and Inoue (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเศษอาหารเหลือทิ้งจากโรงอาหาร โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้สูงถึง 9.2 กิโลกรัมต่อลิตร

Saha (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากสารอินนูลิน โดยเชื้อ *Lactobacillus intermedius* NRRL B – 3693 พบว่าที่ความเข้มข้นของอินนูลินร้อยละ 25 ให้ปริมาณกรดแลกติกสูงถึง 35.9 กรัมต่อลิตร

Tanaka *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติก ในรูปของ D- form จากรำข้าวซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้สูงถึง 9.2 กิโลกรัมต่อลิตร

Wee *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากการใช้น้ำตาลกลูโคสโดยเชื้อ *Lactobacillus* sp. RKY 2ที่ปริมาณต่างๆ ได้แก่ 50, 75, 100 และ 125 กรัมต่อลิตร พบว่าที่ปริมาณน้ำตาล 125 กรัมต่อลิตรให้ปริมาณกรดแลกติกมากที่สุด

Xu *et al.*(2006)ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแหล่งคาร์บอนต่างๆ ได้แก่ กลูโคส เซลโลไบโอส และไซโลส โดยเชื้อ *Lactobacillus sake* และ *Lactobacillus casei* พบว่า *Lactobacillus sake* และ *Lactobacillus casei* สามารถใช้กลูโคสได้ดีที่สุดในการผลิตกรดแลกติก ซึ่งให้ผลผลิต 3 กรัมต่อลิตรและ 5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Ganguly *et al*. (2007) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากใยบวบด้วยวิธีการตรึงเซลล์โดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* RBU 2-10 พบว่ากรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณสูงถึง 70 กรัมต่อลิตร

2.4.2 แหล่งไนโตรเจน

จุลินทรีย์มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 8 – 10 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ความต้องการไนโตรเจนของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป จุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีอนินทรีย์ไนโตรเจน แต่บางชนิดต้องการไนโตรเจนจากสารประกอบอินทรีย์ (สมใจ.2544)

Arasaratnam *et al.* (1996) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดยีสต์ เปปโตน ถั่วเหลืองและแอมโมเนียมซัลเฟตที่เติมลงในเวย์และกลูโคสที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่ดีและเหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกได้แก่ สารสกัดยีสต์

Fu and Mathews (1999) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากอาหารสังเคราะห์โดยดัดแปลงสูตรอาหารมาจากอาหารสังเคราะห์ MRS ซึ่งมีส่วนประกอบของเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร สารสกัดยีสต์ 5 กรัมต่อลิตร โดยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้มีปริมาณสูงถึง 40 กรัมต่อลิตร

Kulozik and Wilde (1999) พบว่าเมื่อเติมสารสกัดยีสต์ลงไปในเวย์จะทำให้ชีวมวลของเซลล์ (A.O.A.C 1990)และปริมาณกรดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อไม่เติมสารสกัดยีสต์การเจริญของเซลล์และปริมาณกรดจะน้อย

Fitzpatrick and O'Keeffe (2001) ศึกษาถึงอิทธิพลของการเติม whey protein hydrolysate (WPH) ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนลงไปใน whey permeate สำหรับการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus helveticus* พบว่า สามารถเปลี่ยนน้ำตาลแลกโตสในเวย์ให้เป็นกรดแลกติกได้ในปริมาณสูง ภายในระยะเวลา 30 – 40 ชั่วโมง

Nancib *et al.* (2001) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดยีสต์ เปปโตน ยูเรีย corn steep และแอมโมเนียมซัลเฟตที่เติมลงในน้ำอินทผลัม โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพสามารถผลิตกรดแลกติกได้ดี คือ สารสกัดยีสต์

Pauli and Fitzpatrick (2002) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยมีการเติมสารสกัดจากมอลต์และสารสกัดยีสต์ลงไปเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าเมื่อเติมสารสกัดจากมอลต์และสารสกัดยีสต์ลงไป ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้จะสูงกว่าเมื่อไม่มีการเติม

Altaf *et al.* (2005) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วเบงกอล ถั่วเขียว ถั่วเหลืองและ baker's yeast ที่เติมลงในแป้งซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต

กรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus amylophilus* GV6 พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จะสูงถึงร้อยละ 92

Nancib *et al.* (2005) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดยีสต์ แอมโมเนียมซัลเฟต ทริปทิซอย ยูเรีย เปปโตน เคซีน ที่ใส่ลงในน้ำอินทผลัมโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp.*rhamnosus* พบว่าปริมาณกรดแลกติกจะสูงถึง 24.8 กรัมต่อลิตรเมื่อใช้สารสกัดยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน

Kadam *et al.* (2006) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดยีสต์ น้ำแช่ข้าวโพด ยูเรีย แอมโมเนียมซัลเฟต ที่เติมลงในอาหารสังเคราะห์โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 พบว่าเมื่อใช้สารสกัดยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจนปริมาณกรดแลกติกสูงถึง 89 กรัมต่อลิตร

2.4.3 แหล่งแร่ธาตุ

แร่ธาตุที่มีความสำคัญ ซึ่งตามปกติต้องเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ซัลเฟอร์ แคลเซียมและคลอไรด์ นอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์อีก เช่น โคบอลล์ ทองแดง เหล็ก แมงกานีสและซิงค์ แต่โดยทั่วไปมักจะพบแร่ธาตุเจือปนอยู่ในน้ำหรือสารประกอบเชิงซ้อนต่างๆ ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณที่เพียงพออยู่แล้ว ดังนั้นจึงอาจไม่จำเป็นต้องเติมแร่ธาตุเหล่านี้ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ (สมใจ.2544)

Fitzpatrick *et al.* (2001) ศึกษาอิทธิพลของแมงกานีสที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ที่มีการเติมแมงกานีสในรูปของ $MnSO_4.H_2O$ ร่วมกับสารสกัดยีสต์ลงไปในเวย์ พบว่าเวลาที่ใช้ในการผลิตกรดจะสั้นลงและเชื้อสามารถเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสได้ดี แต่เมื่อไม่มีการเติมแมงกานีสเวลาที่ใช้ในการผลิตจะนานขึ้นและเชื้อไม่สามารถนำน้ำตาลแลคโตสไปใช้ได้ดีเท่าที่ควร

Huang *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้งมันฝรั่งโดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* และ *Rhizopus arrhizus* พบว่ามีการเติมแร่ธาตุชนิดต่างๆ ได้แก่ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟตและซิงค์ซัลเฟตลงไป เพื่อช่วยให้จุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลได้เร็วขึ้น

Nancib *et al.* (2005) ศึกษาอิทธิพลของการเติมวิตามินบีร่วมกับแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดยีสต์ แอมโมเนียมซัลเฟต ทริปทิซอย ยูเรีย เปปโตน เคซีน ที่ใส่ลงในน้ำอินทผลัมโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* พบว่าปริมาณกรดแลกติกจะสูงเมื่อมีการเติมวิตามินบีร่วมกับแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ

Ohkouchi and Inoue (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้งและเศษอาหารที่เหลือทิ้งจากโรงอาหาร โดยเชื้อ *Lactobacillus manihotvorans* LMG 18011 พบว่าเมื่อเติมแมงกานีสลงไปปริมาณกรดแลกติกจะสูงกว่าเมื่อไม่เติมแมงกานีส

2.4.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตมากเช่นกัน เนื่องจากเชื้อแต่ละชนิดจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตแตกต่างกันไป (สมใจ.2544)

Mostafa (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

Wee *et al.* (2004) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากโมลาสโดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกคือ 38 องศาเซลเซียส

Oh *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูกโดยเชื้อ *Enterococus faecalis* RKY 1 ในการศึกษาได้มีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 38 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณสูง

Idris and Suzana (2006) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุเหลือทิ้งของการผลิตน้ำสัปปะรด โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbruekii* ซึ่งในการทดลองได้ศึกษาอุณหภูมิที่ระดับ 27 30 37 40 45 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์สามารถผลิตกรดแลกติกได้ดีที่สุด

John *et al.* (2006) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดแลกติก

Tanaka *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากรำข้าว โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* IFO 3202 พบว่าอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

Vishu *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้ง โดยเชื้อ *Lactobacillus amylophilus* GV 6 พบว่าอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

2.4.5 ค่าความเป็นกรดด่าง (พีเอช)

การผลิตจำเป็นต้องมีการควบคุมพีเอชให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม จึงจะได้ผลผลิตปริมาณสูง การควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถทำได้โดยการเติมสารประกอบบางอย่างลงไปเพื่อให้ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งมีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่ละลายน้ำ ถ้าพีเอชลดลงคาร์บอเนตจะสลายตัวทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีพีเอชคงที่ประมาณ 7 หรืออาจควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการให้กรดหรือด่าง เช่น กรดซัลฟิวริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์เติมลงไป

Roukas and Kotzekidou (1998) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* และ *Lactococcus lactis* ได้มีการปรับค่าพีเอช อยู่ในช่วง 5.7 – 6.3 พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้สูงถึงร้อยละ 48.4

Fu and Mathews (1999) ได้ศึกษาอิทธิพลของพีเอช สารตั้งต้นและปริมาณออกซิเจนในการผลิตกรดแลกติก จากน้ำตาลแลคโตส โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* พบว่าค่าพีเอชที่เหมาะสมของเชื้อที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติกอยู่ในช่วง 5 – 6

Senthuran *et al.* (1999) ศึกษาการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกอยู่ในช่วง 5.5 – 6.5 ถ้าพีเอชสูงกว่า 6.5 การผลิตกรดแลกติกจะลดลง

Pauli and Fitzpatrick (2002) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าในการศึกษามีการควบคุมให้ค่าพีเอชอยู่ที่ 5.4 จึงจะเหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

Wee *et al.* (2004) ศึกษาอิทธิพลของพีเอชที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติกจากโมลาส โดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY 1 พบว่าพีเอช 6 สามารถให้ปริมาณกรดแลกติกสูงถึง 96.1 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 96.3

Huang *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้งมันฝรั่งโดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* และ *Rhizopus arrhizus* พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกอยู่ระหว่าง 6 - 7

Kourkoutas *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ด้วยวิธีการตรึงเซลล์กับชิ้นผลไม้ พบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกอยู่ในช่วง 5.5 –6.0

Oh *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูกโดยเชื้อ *Enterococus faecalis* RKY 1 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกคือ 7

Idris and Suzana (2006) ศึกษาอิทธิพลของพีเอชที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุเหลือทิ้งของการผลิตน้ำสัปปะรด โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าที่พีเอช 6.5 การใช้ปริมาณน้ำตาลจะเร็วและให้ปริมาณกรดแลกติกที่สูง

John *et al.* (2006) ศึกษาอิทธิพลของพีเอชที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* จากแป้งมันสำปะหลัง พบว่าพีเอช 6.5 เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดแลกติก

2.4.6 การให้อากาศ

ออกซิเจนเป็นธาตุชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยเฉพาะพวกที่ต้องการอากาศ (aerobe) ปริมาณออกซิเจนในอาหารจะเป็นตัวควบคุมอัตราการเจริญและการผลิตสารเมตาบอไลท์ (สมใจ.2544)

Arasaratnam *et al.* (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่งพบว่ากรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณสูงถึง 41 กรัมต่อลิตร

Gonzalez – vara *et al*. (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp.casei DSM 20011 และ *Lactobacillus coryniformis* subsp. torquens DSM 20004 ด้วยการหมักแบบต่อเนื่องในสภาวะที่ไม่มีอากาศ พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้มีปริมาณ 35 กรัมต่อลิตร และ 39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Mostafa (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ในสภาวะนิ่งพบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้สูงถึงร้อยละ 2.2

Roukas and Kotzekidou (1998) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* และ *Lactococcus lactis* ซึ่งมีการกวนให้อากาศ 300 รอบต่อนาที พบว่ากรดแลกติกที่ผลิตได้สามารถผลิตได้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง

Fu and Mathew (1999) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากน้ำตาลแลคโตส โดยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ซึ่งในการศึกษาได้มีการศึกษาถึงการผลิตกรดแลกติกแบบ anaerobic และ aerobic ที่มีการกวนให้อากาศที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที พบว่าการเลี้ยงแบบ anaerobic จะให้ผลผลิตกรดแลกติกสูงกว่าการเลี้ยงแบบ aerobic

Senthuran *et al.* (1999) ศึกษาการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่า มีการให้อากาศโดยการกวนที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญภายในเวลา 8 ชั่วโมง สำหรับการเพิ่มกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตกรดแลกติก

Nancib *et al.* (2001) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากน้ำอินทผลัม โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ได้มีการให้อากาศ โดยการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที พบว่า เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญอยู่ในช่วง stationary phase ภายในเวลา 20 ชั่วโมง

Wee *et al*. (2004) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากโมลาสโดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในการศึกษามีการควบคุมการให้อากาศโดยการกวนที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีพบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้สูงถึงร้อยละ 98

Nancib *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากน้ำอินทผลัมโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* NRRL – B445 พบว่ามีการควบคุมการให้อากาศโดยการกวนที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เนื่องจากจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการศึกษาเป็นสายพันธุ์ facultative anaerobic จึงไม่ต้องการการให้อากาศแบบพ่น (air – sparging)

Oh *et al.* (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูกโดยเชื้อ *Enterococus faecalis* RKY 1 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกคือมีการให้อากาศโดยมีการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที

Gao *et al*. (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเศษปลา โดยเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* (NBRC 3863) ในการหมักได้มีการใช้ถังหมักขนาด 2 ลิตร มีการควบคุมอุณหภูมิ

ค่าพีเอช และการกวนที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จะสูงถึง 87 กรัมต่อลิตร

2.4.7 ผลของแคลเซียมคาร์บอเนต

กระบวนการหมักทางชีวภาพที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตกรดต่างๆนั้นยังมีปัญหา เมื่อกรดที่เชื้อผลิตมานั้นมีความเข้มข้นสูงจนเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโต (product inhibition) จึงได้มีการศึกษาการใช้สารเพื่อปรับสภาพให้เป็นกลางให้สภาวะที่ทำการหมักมีสภาพเป็นกลางเพื่อให้เชื้อสามารถเจริญและผลิตกรดได้มากขึ้น สารตัวกลางหนึ่งที่ใช้ในกระบวนการหมัก คือ แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ซึ่งได้มีผู้ทำการศึกษาการผลิตกรดโดยใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารปรับสภาพให้เป็นกลาง ดังนี้

Arasaratnam *et al.* (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ ด้วยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* โดยในเวย์ได้มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงไป 30 กรัมต่อลิตร เพื่อแก้ปัญหาระดับพีเอชที่ลดลงซึ่งมีผลทำให้ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณน้อย

Altaf *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกด้วยอาหารแข็งจากเชื้อ *Lactobacillus amylophilus* GV 6 โดยในอาหารได้มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงไปเพื่อเป็นบัฟเฟอร์ในการปรับค่าพีเอชของอาหาร พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณ 3.8 กรัมต่อ 6 กรัมสารตั้งต้น

Ding and Tan (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากอาหารสังเคราะห์โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* โดยมีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงไป 15 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณสูงขึ้น

Kadam *et al.*(2006) ศึกษาการปรับปรุงสายพันธุ์ *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2361 สำหรับการผลิตกรดแลกติก พบว่าเชื้อเจริญได้ดีต้องมีการเติมแคลซียมคาร์บอเนตลงไปด้วย