

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 ผลการวิเคราะห์การศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบของอาหารสูตรต่าง ๆ ที่

เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลกติก

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ในอาหาร 9 สูตร อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เมื่อทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักมาวัดปริมาณกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอช พบว่า

เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงสุดเท่ากับ 1.82 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 48 ในอาหารสูตรที่ 4 ซึ่งประกอบด้วยเวย์เค็ม สารสกัดยีสต์ เปปโตน แร่ธาตุ สูงกว่าอาหารสูตรที่ 1, 5, 6, 8 และ 9 (1.15, 1.55, 1.67, 1.46 และ 1.53 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่สูงกว่าอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 7 (1.75, 1.72 และ 1.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อเมื่อดูจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งจะพบว่าในอาหารสูตรที่ 4 (5.73 กรัมต่อลิตร) จะสูงกว่าอาหารสูตรที่ 2 (5.03 กรัมต่อลิตร) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่จะมีค่าสูงกว่าอาหารสูตรที่ 7 (4.71 กรัมต่อลิตร) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออาหารสูตรที่ 4 (ร้อยละ 46.25) มีค่าต่ำกว่าอาหารสูตรที่ 2, 3, 5, 6, 7, 8 และ 9 (ร้อยละ 68.68, 70.16, 73.21, 74.26, 49.38, 77.94 และ 50.17 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่มีค่าต่ำกว่าอาหารสูตรที่ 1 (ร้อยละ 48.97) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนค่าพีเอช พบว่า อาหารสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่ในอาหารสูตรที่ 5, 6, 8 และ 9 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และในอาหารสูตรที่ 3 และ 7 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ดังตารางที่ 4.1)

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณกรดแลกติกและปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่ชั่วโมง 48 จะมีค่าสูงสุดและเริ่มลดลงเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 54 ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) มีค่าคงที่และค่าพีเอชจะมีค่าเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 120

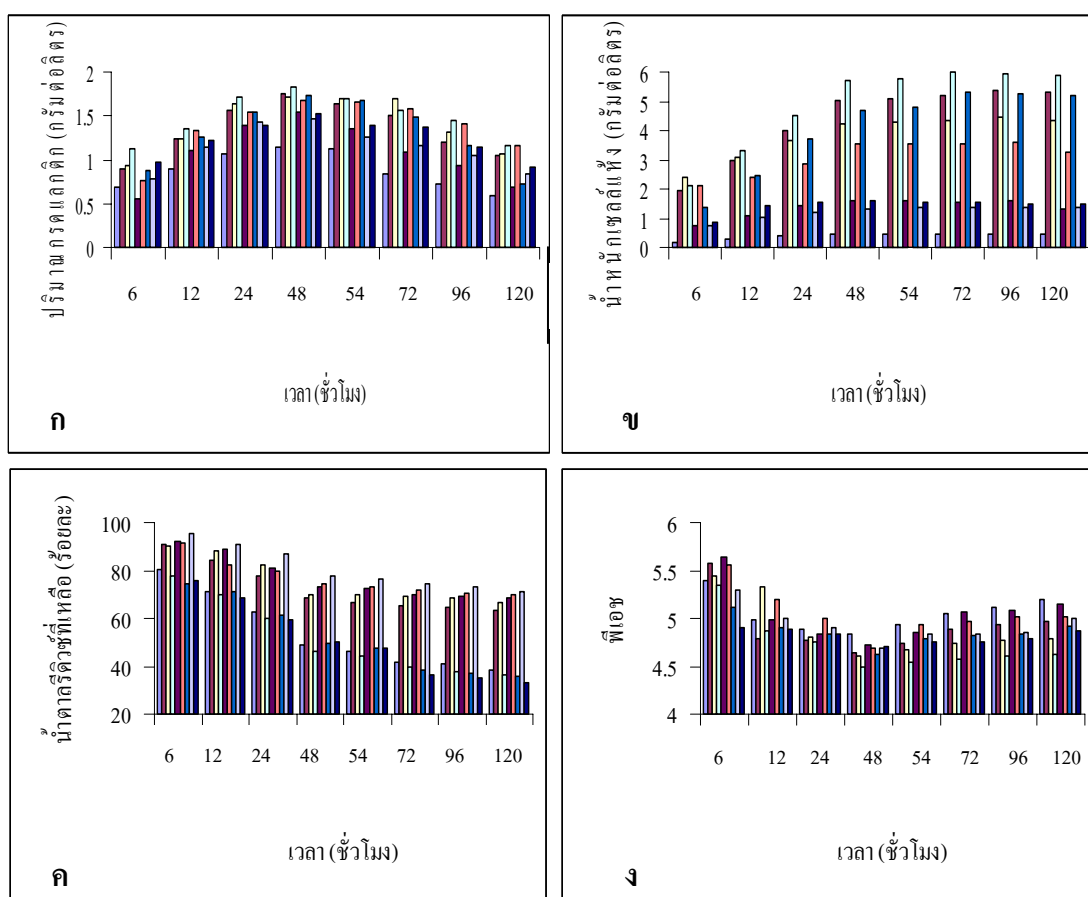
จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าอาหารสูตรที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยเวย์เค็ม สารสกัดยีสต์ แลคโตส แร่ธาตุ อาหารสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยเวย์เค็ม เปปโตน แลคโตส แร่ธาตุ อาหารสูตรที่ 4 ซึ่งประกอบด้วยเวย์เค็ม สารสกัดยีสต์ เปปโตน แร่ธาตุ และอาหารสูตรที่ 7 ซึ่งประกอบด้วยเวย์เค็ม แร่ธาตุ เป็นสูตรอาหารที่ให้ปริมาณกรดแลกติกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่เนื่องจากในอาหารสูตรที่ 4 เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 นำน้ำตาลไปใช้ในการเจริญและการผลิตกรดแลกติกได้ดีกว่าในอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 7 ซึ่งในอาหารสูตรที่ 2 และ 3 มีการเติมน้ำตาลแลคโตสเพิ่มในเวย์ด้วยซึ่งเป็นการสิ้นเปลือง เนื่องจากเชื้อใช้น้ำตาลไม่หมดและมีปริมาณน้ำตาลเหลือมาก

ส่วนในอาหารสูตรที่ 7 ถึงแม้จะมีปริมาณน้ำตาลเหลือใกล้เคียงกับอาหารสูตรที่ 4 แต่มีปริมาณเหลือมากกว่าและปริมาณน้ำหนักรดแลคติกน้อยกว่าแสดงว่าการเจริญของเชื้อเจริญน้อยกว่า ดังนั้นอาหารสูตรที่ 4 เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 เพื่อใช้ในการศึกษาการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในหัวข้อต่อไป โดยการทดลองได้สอดคล้องกับการทดลองของ Kulozik and Wilde (1999) พบว่าเมื่อเติมสารสกัดยีสต์ลงไปในเวย์จะทำให้ชีวมวลของเซลล์และปริมาณกรดเพิ่มขึ้นแต่เมื่อไม่เติมสารสกัดยีสต์การเจริญของเซลล์และปริมาณกรดจะน้อยและการศึกษาของ Pauli and Fitzpatrick (2002) พบว่าการผลิตกรดแลคติกจากเวย์โดยมีการเติมสารสกัดจากมอลต์และสารสกัดยีสต์ลงไปเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้จะสูงกว่าเมื่อไม่มีการเติม

ตารางที่ 4.1 ผลของปริมาณกรดแลคติก น้ำหนักรดแลคติก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอชของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ที่เลี้ยงในอาหาร 9 สูตรที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สูตรอาหาร	ปริมาณกรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เหลือ (ร้อยละ)	พีเอช
สูตรที่ 1	1.15 ^d	0.43 ⁱ	48.97 ^{de}	4.83 ^a
สูตรที่ 2	1.75 ^{ab}	5.89 ^b	68.68 ^c	4.64 ^c
สูตรที่ 3	1.72 ^{ab}	5.21 ^d	70.16 ^c	4.6 ^d
สูตรที่ 4	1.82 ^a	6.08 ^a	46.25 ^e	4.5 ^e
สูตรที่ 5	1.55 ^c	2.01 ^f	73.21 ^b	4.72 ^b
สูตรที่ 6	1.67 ^b	4.98 ^c	74.26 ^b	4.69 ^b
สูตรที่ 7	1.74 ^{ab}	5.38 ^c	49.38 ^d	4.62 ^{cd}
สูตรที่ 8	1.46 ^c	1.21 ^h	77.94 ^a	4.69 ^b
สูตรที่ 9	1.53 ^c	1.84 ^g	50.17 ^d	4.7 ^b

หมายเหตุ ในแต่ละสัณฐานค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และตัวอักษรไม่เหมือนกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT



รูปที่ 4.1 ผลขององค์ประกอบอาหารสูตร 9 สูตร ที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลกคิก (ก) ปริมาณกรดแลกคิก (กรัมต่อลิตร) (ข) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) (ค) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และ (ง) ค่าพีเอช ของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ชั่วโมง ที่ 6, 12, 24, 48, 54, 72, 96 และ 120 ตามลำดับ โดยทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง

4.2 ผลการศึกษาสภาวะต่างๆที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

4.2.1 ผลการศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ในอาหาร 9 สูตร อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เมื่อทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักมาวัดปริมาณกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอช พบว่า

เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงสุดเท่ากับ 1.77 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 48 ในอาหารสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วย เวย์เดมสารสกัดยีสต์และเปปโตน ในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1 ตามลำดับ สูงกว่าอาหารสูตรที่ 2, 4, 5, 6 และ 7 (1.6, 1.61, 1.58, 1.6 และ 1.54 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่สูงกว่าอาหารสูตรที่ 1, 8 และ 9 (1.68, 1.74 และ 1.73 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อเมื่อดูจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง จะพบว่า ในอาหารสูตรที่ 3 (1.98 กรัมต่อลิตร) จะสูงกว่าอาหารทั้ง 8 สูตร อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออาหารสูตรที่ 3 (ร้อยละ 49.62) มีค่าต่ำกว่าอาหารสูตรที่ 1, 2, 4, 5, 6 และ 7 (ร้อยละ 52.86, 60.26, 60, 63.06, 62.12 และ 65.68 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่มีค่าต่ำกว่าอาหารสูตรที่ 8 และ 9 (ร้อยละ 51.58 และ 51.96 ตามลำดับ) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนค่าพีเอช พบว่า อาหารสูตรที่ 3, 4, 5, 8 และ 9 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และอาหารสูตรที่ 3 และ 7 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ในอาหารสูตรที่ 1, 2 และ 6 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ดังตารางที่ 4.2)

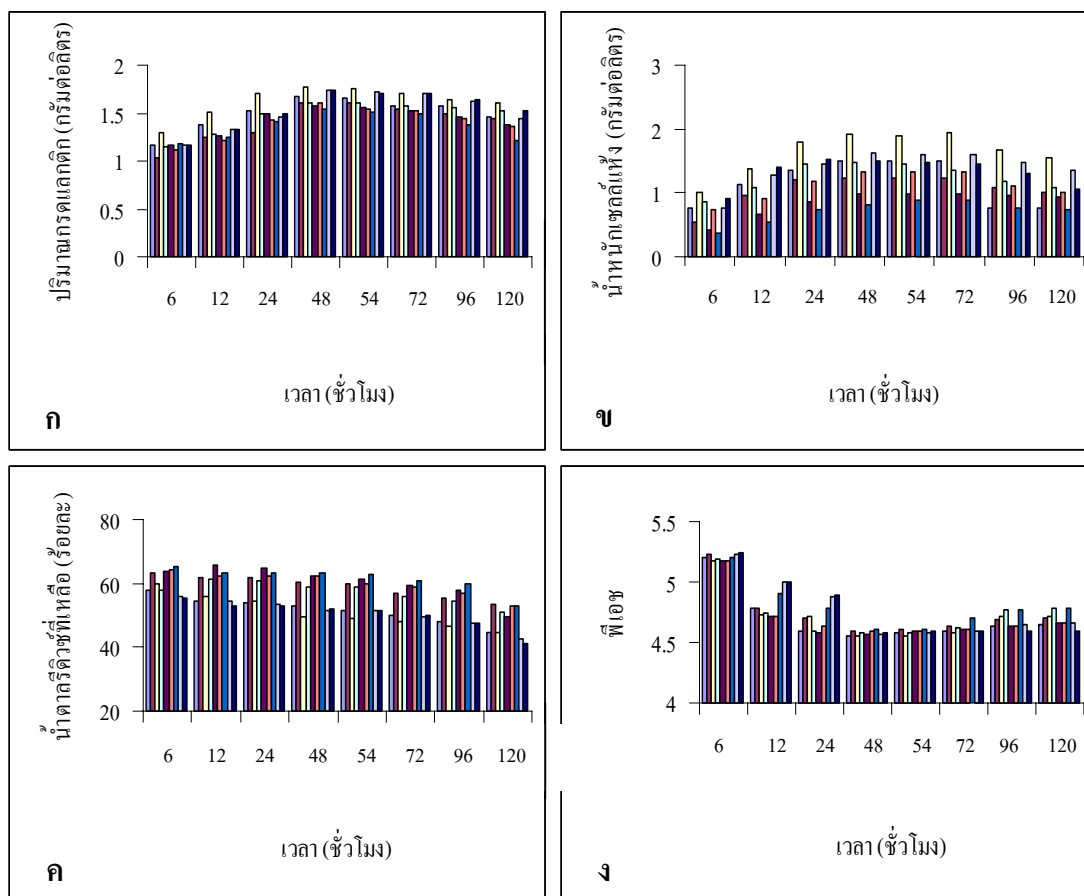
จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus casei* TISTR 1341 สามารถผลิตกรดแลกติกและเจริญได้ดีในอาหารสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยเวย์เดมสารสกัดยีสต์และเปปโตน ในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1 ตามลำดับ เนื่องจากว่าในอาหารสูตรที่ 1, 8 และ 9 ถึงแม้ว่าจะให้ปริมาณกรดแลกติกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่ 3 แต่เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารสูตรที่ 1, 8 และ 9 จะมีปริมาณน้อยกว่าอาหารสูตรที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งในอาหารสูตรที่ 8 และ 9 มีการเติมยูเรียเพิ่มในเวย์ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองเนื่องจากเชื้อไม่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้เมื่อดูจากปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในอาหารสูตรที่ 3 ก็มีปริมาณน้อยกว่าในอาหารสูตรที่ 1, 8 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน แสดงว่าในอาหารสูตรที่ 3 นอกจากปริมาณกรดแลกติกจะมีปริมาณสูงที่สุดการเจริญของเชื้อก็มีการเจริญที่ดีกว่าและมีการใช้น้ำตาลได้มากกว่า ทั้งนี้โดยทั่วไปเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เจริญได้ดีในแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน(สมใจ. 2544) ดังนั้นอาหารสูตรที่ 3 เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 เพื่อใช้ในการศึกษาการเจริญและการผลิตกรดแลกติกในหัวข้อต่อไป โดยการทดลองได้สอดคล้องกับการทดลองของ Fu and Mathew (1999) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากอาหารสังเคราะห์โดยได้ดัดแปลงสูตรอาหารมาจากอาหาร MRS ซึ่งมีส่วนประกอบของเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร สารสกัดยีสต์

5 กรัมต่อลิตร โดยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้มีปริมาณสูงถึง 40 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.2 ผลของปริมาณกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอชของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ที่เลี้ยงในชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจนของอาหาร 9 สูตรที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สูตรอาหาร	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เหลือ (ร้อยละ)	พีเอช
สูตรที่ 1	1.68 ^{ab}	1.51 ^b	52.86 ^d	4.6 ^{ab}
สูตรที่ 2	1.6 ^{bc}	1.24 ^c	60.26 ^c	4.6 ^{ab}
สูตรที่ 3	1.77 ^a	1.98 ^a	49.62 ^e	4.55 ^c
สูตรที่ 4	1.61 ^{bc}	1.48 ^c	60 ^c	4.58 ^{abc}
สูตรที่ 5	1.58 ^{bc}	0.98 ^f	63.06 ^b	4.57 ^{bc}
สูตรที่ 6	1.6 ^{bc}	1.32 ^d	62.12 ^{bc}	4.59 ^{ab}
สูตรที่ 7	1.54 ^c	0.82 ^g	65.68 ^a	4.61 ^a
สูตรที่ 8	1.74 ^a	1.62 ^b	51.58 ^{de}	4.57 ^{bc}
สูตรที่ 9	1.73 ^a	1.51 ^c	51.96 ^{de}	4.58 ^{abc}

หมายเหตุ ในแต่ละสัณคณ์ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และตัวอักษรไม่เหมือนกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT



รูปที่ 4.2 ผลของชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลกติก (ก) ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) (ข) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) (ค) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และ (ง) ค่าพีเอช ของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ชั่วโมง ที่ 6, 12, 24, 48, 54, 72, 96 และ 120 ตามลำดับ โดยทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง

4.2.2 ผลการศึกษาความเร็วรอบที่เหมาะสม

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ในเวย์เต็มสารสกัดยีสต์และเปปโตโน ในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1 ตามลำดับ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง ความเร็ว 50, 70, 100, 150 และ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เมื่อทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักมาวัดปริมาณกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอช พบว่า

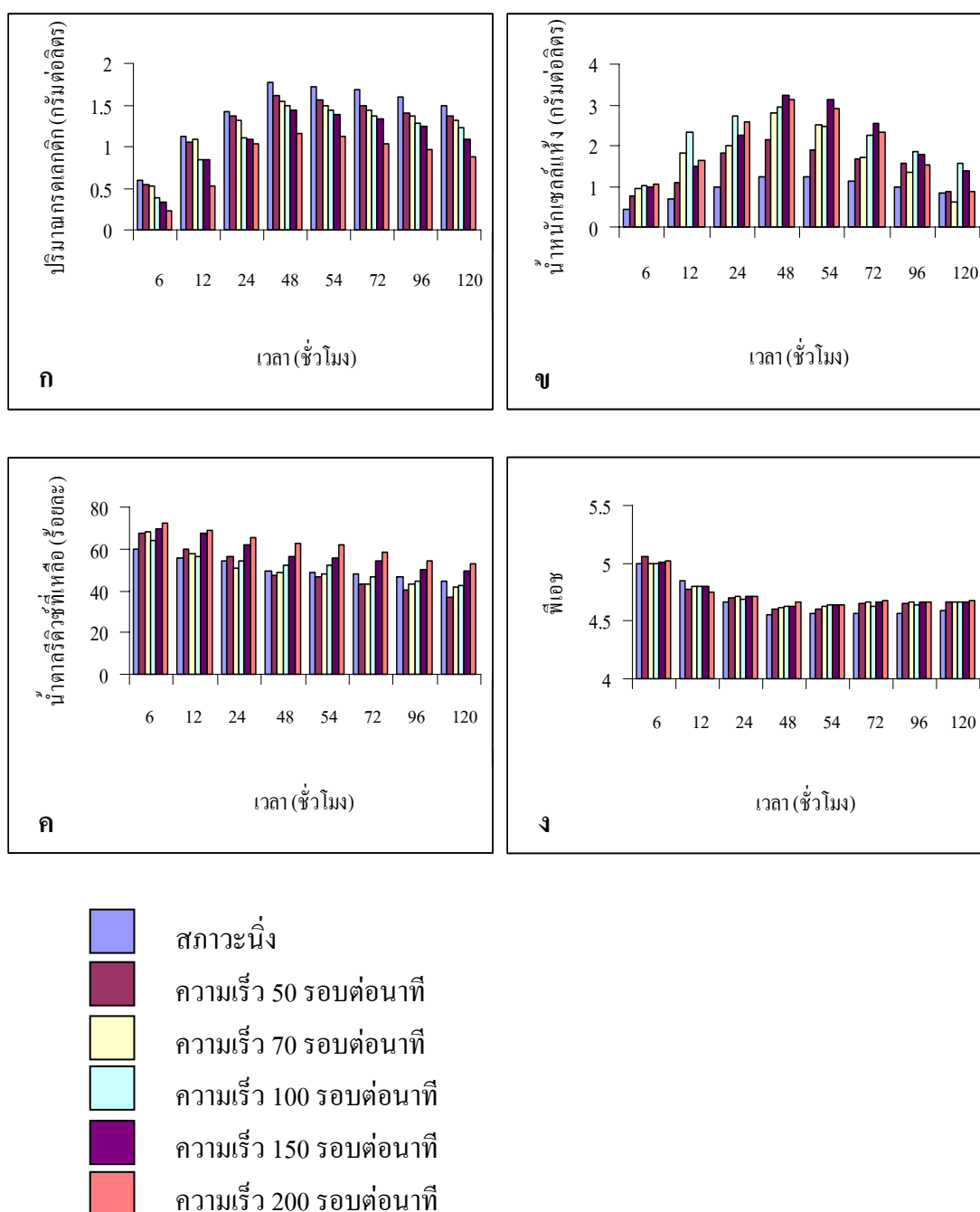
เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงสุดเท่ากับ 1.77 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 48 ที่สภาวะนิ่ง สูงกว่าความเร็ว 50, 70, 100, 150 และ 200 รอบต่อนาที (1.62, 1.55, 1.49, 1.43 และ 1.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อ เมื่อดูจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งจะพบว่า ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที (3.48 กรัมต่อลิตร) จะสูงกว่าที่สภาวะนิ่ง ความเร็ว 50, 70, 100 และ 150 รอบต่อนาที (1.24, 2.15, 2.79, 2.94 และ 3.24 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ทั้งนี้โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ จะใช้แหล่งคาร์บอนร้อยละ 10 ในการสร้างเซลล์ ส่วนจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศ จะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 50 – 55 ในการสร้างเซลล์ (สมใจ, 2544) ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือที่สภาวะนิ่ง (ร้อยละ 46.83) มีค่าต่ำกว่าที่ความเร็ว 100, 150 และ 200 รอบต่อนาที (ร้อยละ 52.41, 56.35 และ 62.48 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่มีค่าต่ำกว่าความเร็ว 50 และ 70 รอบต่อนาที (ร้อยละ 47.28 และ 48.59 ตามลำดับ) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนค่าพีเอช พบว่าที่สภาวะนิ่งมีค่าต่ำกว่า (4.55) ความเร็วรอบ 50, 70, 100, 150 และ 200 รอบต่อนาที อย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ความเร็ว 50, 70, 100, และ 150 รอบต่อนาที (4.6, 4.62, 4.63 และ 4.63) แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และที่สภาวะนิ่งและที่ความเร็ว 200 รอบ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ดังตารางที่ 4.3)

จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus casei* TISTR 1341 สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงที่สภาวะนิ่งและสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ความเร็วรอบแต่เนื่องจากการทดลองนี้ศึกษาผลผลิตปริมาณกรดแลกติก ดังนั้นที่สภาวะนิ่งจึงเหมาะสมที่นำไปศึกษาขั้นต่อไป โดยการทดลองได้สอดคล้องกับการทดลองของ Arasaratnam *et al.* (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่งพบว่ากรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณสูงถึง 41 กรัมต่อลิตร และ Mostafa (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ในสภาวะนิ่งพบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้สูงถึงร้อยละ 2.2

ตารางที่ 4.3 ผลของปริมาณกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอชของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ที่สภาวะนิ่ง ความเร็ว 50,70,100,150 และ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เหลือ (ร้อยละ)	พีเอช
สภาวะนิ่ง	1.77 ^a	1.24 ^f	46.83 ^d	4.55 ^c
50	1.62 ^b	2.15 ^e	47.28 ^d	4.60 ^b
70	1.55 ^{bc}	2.79 ^d	48.59 ^d	4.62 ^b
100	1.49 ^{cd}	2.94 ^c	52.41 ^c	4.63 ^{ab}
150	1.43 ^d	3.24 ^b	56.35 ^b	4.63 ^{ab}
200	1.16 ^e	3.48 ^a	62.48 ^a	4.66 ^a

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และตัวอักษรไม่เหมือนกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT



รูปที่ 4.3 ผลของสภาวะนิ่งและความเร็ว 50, 70, 100, 150 และ 200 รอบต่อนาทีที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลกติก (ก) ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) (ข) จำนวนเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) (ค) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และ (ง) ค่าพีเอชของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ชั่วโมง ที่ 6, 12, 24, 48, 54, 72, 96 และ 120 ตามลำดับ โดยทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4.2.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ในเวย์เดิมสารสกัดยีสต์และเปปโตโน ในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1 ตามลำดับ ที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิห้อง 35, 37, 40 และ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เมื่อทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักมาวัดปริมาณกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอช พบว่า

เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงสุดเท่ากับ 1.76 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 48 ที่ 37 องศาเซลเซียส สูงกว่าอุณหภูมิห้อง 35, 40 และ 42 องศาเซลเซียส (1.63, 1.64, 1.4 และ 1.36 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อเมื่อดูจาก ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งจะพบว่า อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (1.97 กรัมต่อลิตร) จะสูงกว่า อุณหภูมิห้อง 35, 40 และ 42 (1.04, 1.08, 0.92 และ 0.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออุณหภูมิ 37 (ร้อยละ 49.58) มีค่าต่ำกว่าอุณหภูมิ 35 (ร้อยละ 51.67) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง 40 และ 42 (ร้อยละ 54.35, 66, และ 67.58 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนค่าพีเอชพบว่า ที่อุณหภูมิ 40 และ 42 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่แตกต่างกันที่อุณหภูมิห้อง 35 และ 37 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ดังตารางที่ 4.4)

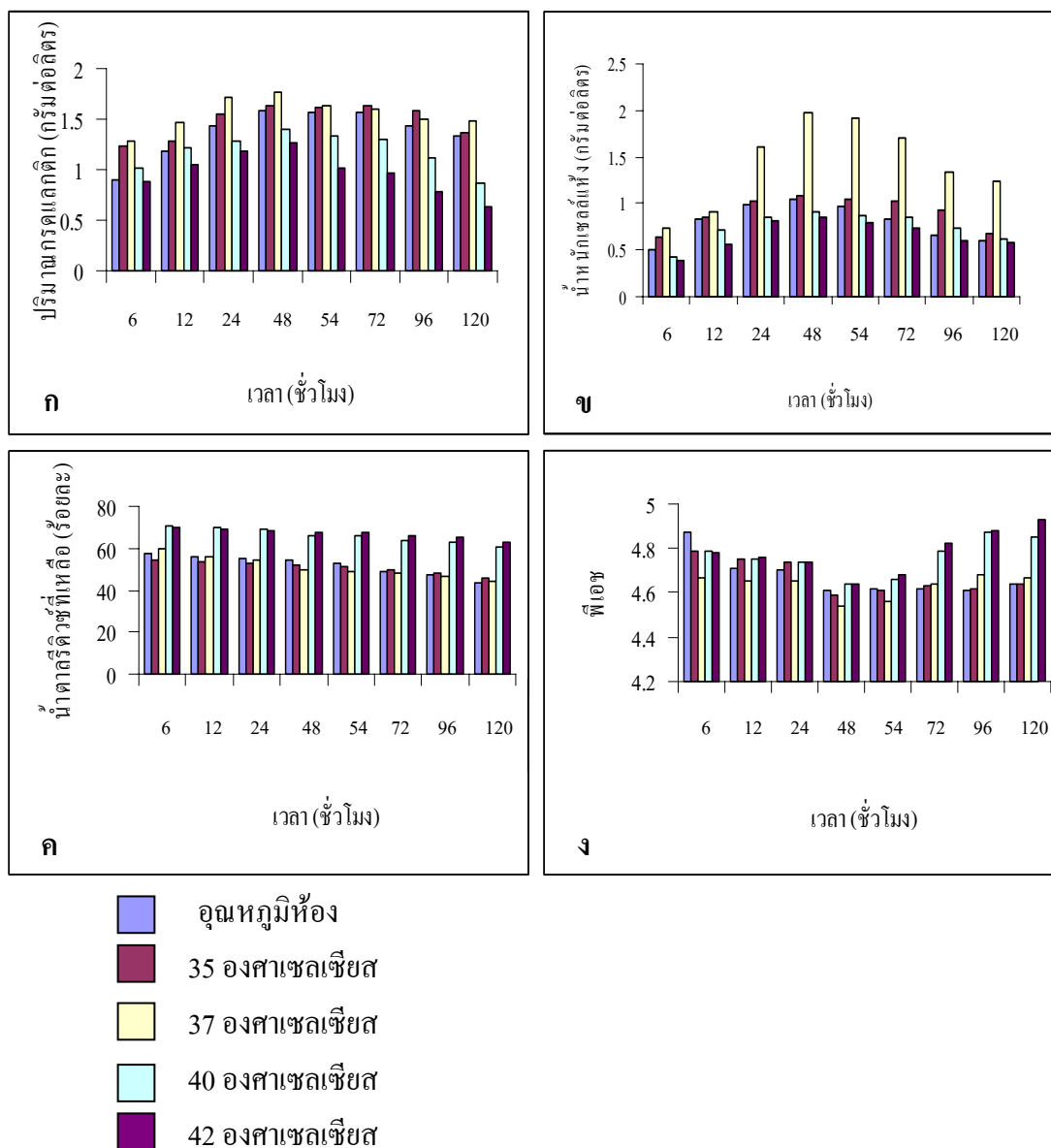
ตารางที่ 4.4 ผลของปริมาณกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ)

และค่าพีเอชของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ที่สภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิห้อง 35, 37, 40 และ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เหลือ (ร้อยละ)	พีเอช
อุณหภูมิห้อง	1.63 ^b	1.04 ^c	54.35 ^b	4.61 ^{ab}
35	1.64 ^b	1.08 ^c	51.67 ^c	4.59 ^{bc}
37	1.76 ^a	1.97 ^a	49.58 ^c	4.54 ^d
40	1.40 ^c	0.92 ^d	66 ^a	4.64 ^a
42	1.36 ^c	0.86 ^d	67.58 ^a	4.64 ^a

หมายเหตุ ในแต่ละสัณณัค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และตัวอักษรไม่เหมือนกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสสามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง 35, 40 และ 42 องศาเซลเซียส โดยการทดลองได้สอดคล้องกับการทดลองของ Mostafa (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและ John *et al.* (2006) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดแลกติก



รูปที่ 4.4 ผลของอุณหภูมิห้อง 35, 37, 40 และ 42 ที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลกติก (ก) ปริมาณกรดแลกติก(กรัมต่อลิตร) (ข) น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร) (ค) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และ(ง) ค่าพีเอช ของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ชั่วโมง ที่ 6, 12, 24, 48, 54, 72, 96 และ 120 ตามลำดับ โดยทำการเลี้ยงที่สภาวะนิ่ง

4.2.4 ผลการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ที่เหมาะสม

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ในเวย์เต็มสารสกัดยีสต์และเปปโตน ในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1 ตามลำดับ ที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เมื่อทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักมาวัดปริมาณกรดแลกติก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอช พบว่า

เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงสุดเท่ากับ 4.77 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 48 ในสูตรอาหารที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 สูงกว่าสูตรที่ไม่เติมและที่มีการเติม ร้อยละ 1 (1.77 และ 4.44 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่สูงกว่าสูตรที่เติมร้อยละ 2, 3 และ 4 (4.74, 4.74 และ 4.75 ตามลำดับ) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือสูตรที่มีการเติมร้อยละ 2, 3, 4 และ 5 (ร้อยละ 25.34, 24.77, 23.51 และ 22.76) มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่แตกต่างจากสูตรที่ไม่มีการเติมและสูตรที่มีการเติม ร้อยละ 1 (46.83 และ 30.51 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนค่าพีเอช พบว่าสูตรอาหารที่มีการเติมร้อยละ 2, 3, 4 และ 5 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่จะแตกต่างจากสูตรที่ไม่เติมและสูตรที่มีการเติมร้อยละ 1 (ดังตารางที่ 4.5)

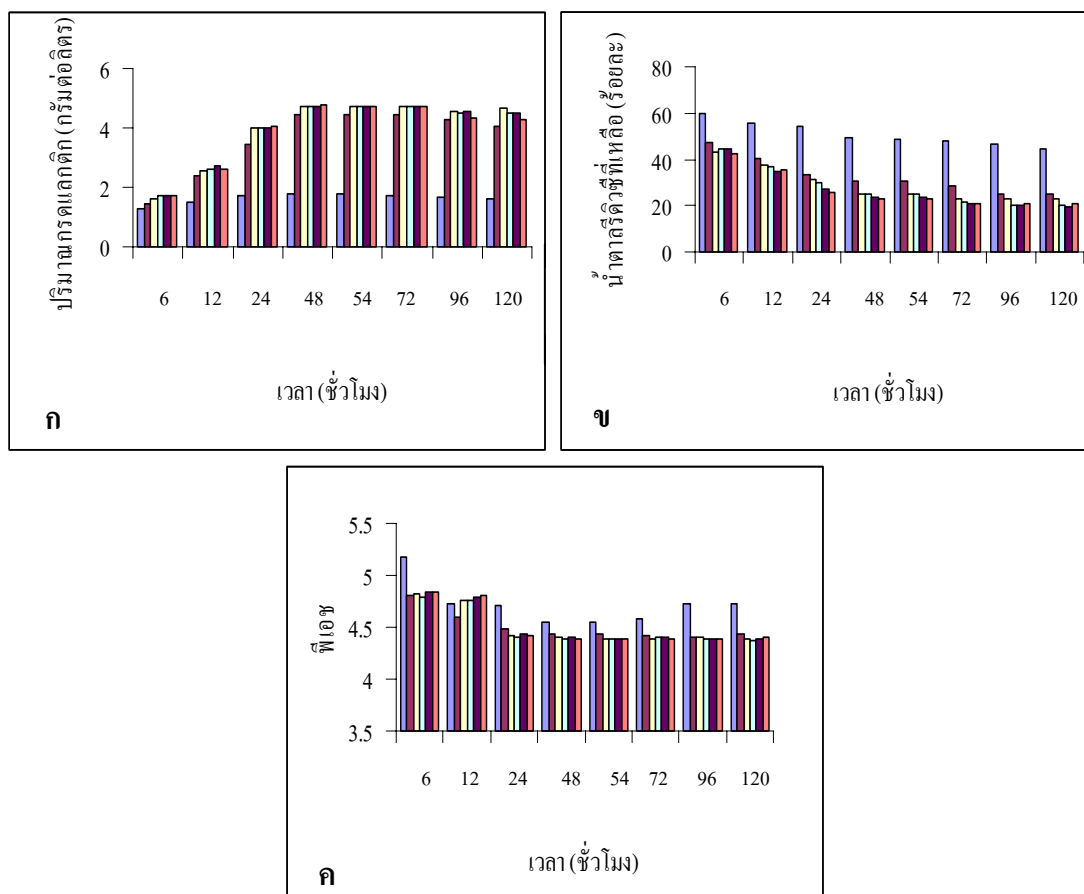
ตารางที่ 4.5 ผลของปริมาณกรดแลกติก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) และค่าพีเอชของเชื้อ

Lactobacillus casei TISTR 1341 ที่ไม่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตและที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ที่สภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิห้อง 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต (ร้อยละ)	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เหลือ (ร้อยละ)	พีเอช
0	1.77 ^c	46.83 ^a	4.55 ^a
1	4.44 ^b	30.51 ^b	4.43 ^b
2	4.74 ^a	25.34 ^c	4.39 ^c
3	4.74 ^a	24.77 ^c	4.39 ^c
4	4.75 ^a	23.51 ^c	4.40 ^c
5	4.77 ^a	22.76 ^c	4.38 ^c

หมายเหตุในแต่ละสดมภ์ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และตัวอักษรไม่เหมือนกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้เมื่อเติมแคลเซียมคาร์บอเนตมีมากกว่าในอาหารที่ไม่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต เนื่องจากแคลเซียมคาร์บอเนตทำปฏิกิริยากับกรดแลกติกได้เกลือแคลเซียมแลกเตตและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้เป็นกลางมากขึ้น (Altaf *et al.* . 2006) จึงไม่เกิดการยับยั้งการเติบโตของเชื้อที่เกิดจากกรดที่เชื้อผลิตขึ้นทำให้เชื้อสามารถเติบโตและผลิตกรดได้เพิ่มมากขึ้น และถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตจากความเข้มข้นร้อยละ 3 4 และ 5 แต่การผลิตกรดแลกติกมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เพราะฉะนั้นจึงไม่มีความจำเป็นในการใช้ความเข้มข้นในปริมาณที่สูงเพราะเมื่อสิ้นสุดการหมักในชั่วโมงที่ 120 พบว่าปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตยังคงเหลือค้างอยู่ในปริมาณมากที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 4 และ 5 และเพื่อเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในการทดลองซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Arasaratnam *et al.* (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ ด้วยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* โดยในเวย์ได้มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงไป 30 กรัมต่อลิตร เพื่อแก้ปัญหาระดับพีเอชที่ลดลงซึ่งมีผลทำให้ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณน้อย และ Ding and Tan (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากอาหารสังเคราะห์โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* โดยมีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงไป 15 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณสูงขึ้น



รูปที่ 4.5 ผลของแคลเซียมคาร์บอเนตที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลกติก (ก) ปริมาณกรดแลกติก(กรัมต่อลิตร) (ข) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) (ค) และค่าพีเอชของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ชั่วโมง ที่ 6, 12, 24, 48, 54, 72, 96 และ 120 ตามลำดับโดยทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง

4.3 ผลการศึกษาการผลิตกรดแลกติกในระดับฟลาสก์ขนาด 2 ลิตรและการผลิตในถังหมักขนาด 2 ลิตร

ทำการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 โดยใช้สูตรอาหารที่ประกอบด้วย สารสกัดยีสต์ 5 กรัมต่อลิตร เปปโตน 10 กรัมต่อลิตร แคลเซียมคาร์บอเนต ร้อยละ 2 และแร่ธาตุ 3 ชนิด ได้แก่ ไดโทแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.25 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.03 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 0.1 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวย์เป็นตัวทำละลาย ศึกษาการผลิตกรดแลกติกในระดับฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมงและศึกษาการผลิตกรดโดยใช้ถังหมัก 2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กวนด้วยใบพัดในอัตรา 100 รอบต่อนาทีและมีการควบคุมพีเอชที่ 6.5 ตลอดการทดลอง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* โดยใช้ถังหมัก ขนาด 2 ลิตร การผลิตกรดแลกติก ผลผลิต อัตราการผลิต (7.26, 0.187 และ 0.151 ตามลำดับ) จะมีค่าสูงกว่าการเลี้ยงโดยใช้ฟลาสก์ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$ และ $P < 0.05$) (ดังตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ค่า p-value การเปรียบเทียบการผลิตกรดแลกติกโดยใช้ถังหมักและฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ณ ชั่วโมงที่ 48 โดยใช้วิธี T- test

	กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิต (Yield)	อัตราการผลิต (กรัมต่อลิตร ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ)
ฟลาสก์	5.49	0.145	0.114	12.95
ถังหมัก	7.26	0.187	0.151	11.79
p-value	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ

ค่า $p\text{-value} < 0.01$ = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 99

ค่า $p\text{-value}$ อยู่ในช่วง $0.01 < p\text{-value} < 0.05$ = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

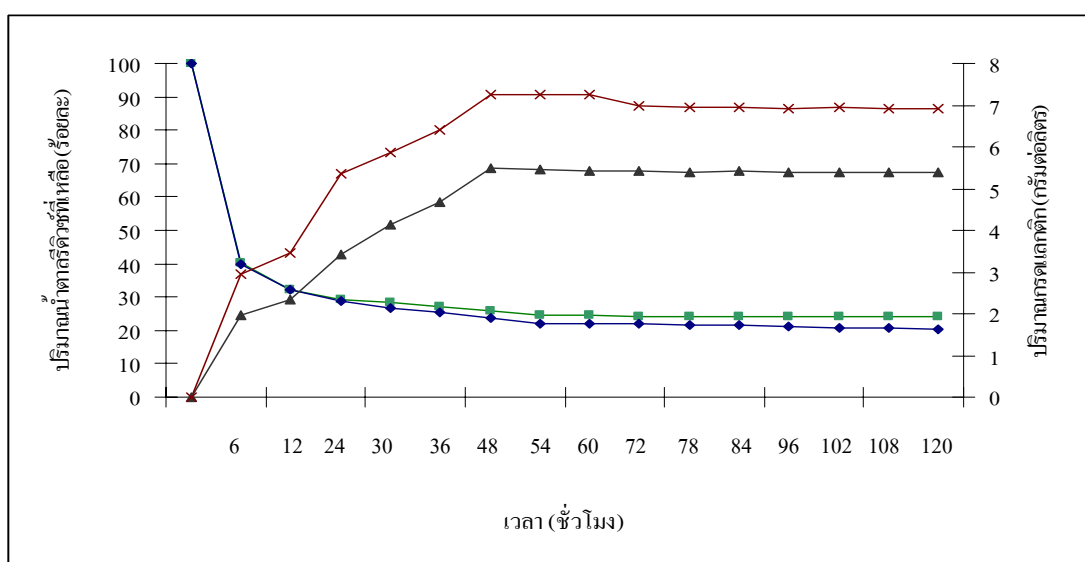
ค่า $p\text{-value} > 0.05$ = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงว่า การผลิตในถังหมักมีการควบคุมสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมคือ ควบคุมพีเอช ที่ 6.5 อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mostafa (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์ โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและ Idris and Suzana (2006) ศึกษาอิทธิพลของพีเอชที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติกจาก

วัสดุเหลือทิ้งของการผลิตน้ำสัปะรด โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าที่พีเอช 6.5 การใช้น้ำตาลจะเร็วและให้ปริมาณกรดแลกติกที่สูง

นอกจากนี้การหมักในถังหมักมีการกวนด้วยใบพัดในอัตรา 100 รอบต่อนาที ซึ่งการกวนมีผลทำให้เกิดการผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อกับเชื้อที่ใช้ในการหมักทำให้เชื้อสามารถใช้สารอาหารที่อยู่ในถังหมักได้ดียิ่งขึ้น ทำให้ได้ปริมาณกรดมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gao *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* NBRC 3863 ซึ่งใช้ถังหมักขนาด 2 ลิตร มีการกวนโดยใช้ความเร็ว 100 รอบต่อนาที พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้มีปริมาณสูงถึง 87 กรัมต่อลิตร

ดังนั้นการผลิตกรดแลกติกโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 เมื่อทำการหมักในถังหมักจึงดีกว่าการหมักในพลาสติก เพราะได้ปริมาณกรดแลกติกสูงกว่าเนื่องจากการผลิตกรดในถังหมักสามารถควบคุมพีเอช อุณหภูมิ และมีการกวน จึงทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก



- ▲ ปริมาณกรดแลกติกในพลาสติก
- × ปริมาณกรดแลกติกในถังหมัก
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) ในพลาสติก
- ◆ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) ในถังหมัก

รูปที่ 4.6 ผลการศึกษาการผลิตกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (ร้อยละ) ในระดับพลาสติกขนาด 2 ลิตรและการผลิตในถังหมักขนาด 2 ลิตร ของเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส