



ผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้

Lactic Acid Production from Fruit Waste Fermentation

ศศิธร นนทา*

สมพงศ์ โอทอง**

นุชนาถ แซ่มซ้อย***

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศภายใต้อุณหภูมิการหมักที่ต่างกัน ด้วยแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 ซึ่งเป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยการศึกษาแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 ศึกษาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ โดยใช้เศษผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ เปลือกแตงโม ชังขนุน และแกนสับปะรด ส่วนที่ 2 ศึกษาผลของอุณหภูมิการหมัก ที่มีต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่เกิดขึ้น

ผลการทดลอง พบว่า ผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเปลือกแตงโม ชังขนุน และแกนสับปะรด มีค่า 25, 56 และ 54 kg/ton ของน้ำหนักสับสเตรต เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 4 วัน ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C เช่นเดียวกัน จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเศษผลไม้ทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากหมักเป็นระยะเวลา 2 วัน และ 4 วัน และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อหมักภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C สำหรับการหมักเปลือกแตงโม ในขณะที่ค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักชังขนุนและแกนสับปะรด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อหมักภายใต้อุณหภูมิการหมัก 30°C 35°C และ 40°C อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณค่าผลผลิตจำเพาะสูงสุดของกรดแลคติกที่ได้จากการทดลอง พบว่า มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมี

*มหาบัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

**อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

***อาจารย์ประจำคณะสาธารณสุขศาสตร์และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยหัวเฉียวพระเกียรติ



ค่าเท่ากับ 378.5, 359.5 และ 376.5 kg/ton VS (Volatile solid) ตามลำดับ สำหรับการหมัก เปลือกแตงโม ชั้ชุ่น และแกนสับปะรด ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C ซึ่งจากผลการศึกษา ชี้ให้เห็นว่า อุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมสำหรับการหมักกรดแลคติกแบบไร้อากาศ คือ อุณหภูมิการหมัก 35°C

คำสำคัญ : กรดแลคติก การหมักแบบไร้อากาศ การหมักเศษผลไม้ แลคโตบาซิลลัส

Abstract

The purpose of this experimental research was to study the lactic acid production from anaerobic fermentation of fruit waste under different fermented temperatures using *Lactobacillus plantarum* TISTR 926. The study consisted of two parts, the first part was to study lactic acid production under anaerobic fermentation of three kinds of fruit wastes; watermelon shell, jackfruit fiber, and pineapple core and the second part was to study the effect of fermentation temperature on the lactic acid production.

It was found that, at 35°C, the lactic acid production from the fermentation of watermelon shell, jackfruit fiber, and pineapple core of 25, 56, and 54 kg/ton wt substrate were obtained after 4 days of fermentation under the same fermentation temperature of 35°C. From the statistical analysis results, it was found that the obtained average values of lactic acid production from the fermentation of 3 kinds of fruit wastes showed significant difference ($p < 0.05$) after 2 days and 4 days of fermentation. In addition, there was the statistical significant difference ($p < 0.05$) under the fermented temperature of 35°C for the watermelon shell fermentation. Also, the average values of lactic acid production from the fermentation of jackfruit fiber and pineapple core showed significant difference ($p < 0.05$) under the fermented temperature of 30°C, 35°C and 40°C. However, the calculation of maximum specific yield of the obtained lactic acid from the experiment showed almost the same amounts such as 378.5, 359.5, and 376.5 kg/ton VS for the watermelon shell, jackfruit fiber, and pineapple core under the fermented temperature of 35°C, respectively. The results indicated that the appropriate fermentation temperature for anaerobic fermentation of lactic acid was 35°C.

Keywords : Lactic acid, anaerobic fermentation, fruit waste fermentation, *Lactobacillus* sp.



บทนำ

ปัจจุบันความต้องการใช้กรดแลคติกมีเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากกรดแลคติกสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์นม อุตสาหกรรมเคมี เป็นต้น โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมเคมีที่มีการใช้กรดแลคติกเป็นสารตั้งต้นในการผลิตโพลีแลคติกแอซิด (polylactic acid ; PLA) ซึ่งเป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ (biodegradable plastic) ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถแทนที่พลาสติกที่ผลิตจากปิโตรเคมีที่ย่อยสลายได้ยาก โดยมีการคาดการณ์อัตราการเติบโตของปริมาณกรดแลคติกสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในตลาดโลก เท่ากับร้อยละ 10 ต่อปี (มหาวิทยาลัยขอนแก่น ศูนย์วิจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและสารอันตราย. พฤษภาคม 2550 : 70-71)

จากการศึกษาศักยภาพของชีวมวลและของเสียเพื่อการผลิตกรดแลคติกที่ผ่านมา พบว่ากรดแลคติกสามารถผลิตได้จากชีวมวล ได้แก่ ของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม เศษอาหาร ของเหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น ช้างข้าวโพด กากน้ำตาล ชานอ้อย เป็นต้น (Gao, Ma and Xu. November-December 2011 : 931) และเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้สำหรับการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติก ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Sporolactobacillus inulinus* และ *Bacillus* เป็นต้น โดยเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ SP1-3 ให้

ผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักน้ำอ้อยในปริมาณ 17-20 กรัมต่อลิตร (ธัญรัตน์ ประชามอญ, มัลลิกา บุญมี และกรรข ชามสุโพธิ์. กรกฎาคม-กันยายน 2551 : 1) เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สามารถผลิตกรดแลคติกจากการหมักเส้นใยพืชในปริมาณ 46 กรัมต่อ 100 กรัมของเส้นใยสับสเตรต (substrate) (Sreenath et al. July 2001 : 518) และเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus lactis* ให้ผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักแป้งสาลีในปริมาณ 0.77-1.00 กรัมต่อกรัมของสับสเตรต (John et al. March-April 2009 : 147) เป็นต้น ซึ่งปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมัก ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก โดยอุณหภูมิที่มีรายงานว่าเหมาะสมต่อการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติกอยู่ในช่วง 33.5-38.0°C (Akerberg et al. June 1998 : 682 ; Sreenath et al. July 2001 : 521 ; Nancib et al. June 2001 : 150-152) อย่างไรก็ตาม การศึกษาผลผลิตกรดแลคติกจากชีวมวลและของเสียชนิดอื่น ๆ ก็ยังเป็นที่ต้องการ เพื่อเป็นทางเลือกในการนำของเสียมาใช้ประโยชน์ และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาต่อยอดเพื่อประโยชน์ในเชิงการค้าต่อไป

ดังนั้น การวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นในการศึกษาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ โดยใช้แบคทีเรีย *Lactobacillus* ทำหน้าที่ในการย่อยเศษของเสียดังกล่าว เพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติกในปริมาณต่าง ๆ รวมทั้งศึกษาผลของอุณหภูมิการหมักที่มีต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่เกิดขึ้น



วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ
2. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิการหมักที่มีต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่เกิดขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ขอบเขตของการวิจัย

1.1 งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ในการหมักเศษผลไม้ชนิดต่าง ๆ แบบไร้อากาศ ได้แก่ เปลือกแตงโม ชังขนุน และแกนสับปะรด โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน คือ 1) ศึกษาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่เกิดขึ้น และ 2) ศึกษาผลของอุณหภูมิการหมักที่มีต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่เกิดขึ้น

1.2 สถานที่ศึกษาทดลอง คือ ห้องปฏิบัติการอนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ วิทยาเขตบางพลี

1.3 ระยะเวลาในการศึกษาวิจัย คือ เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2556 – มีนาคม พ.ศ. 2558

2. ขั้นตอนและวิธีการศึกษา

2.1 การเตรียมสับสเตรตและเชื้อจุลินทรีย์

1) เตรียมสับสเตรต (เศษผลไม้ชนิดต่างๆ ได้แก่ เปลือกแตงโม ชังขนุน และแกนสับปะรด) เพื่อใช้ในการหมักแบบไร้อากาศ โดยปั่นด้วยเครื่องปั่นอาหารในครัวเรือนทั่วไป (Phillip HR-2011 Blender 1.5 L 200-240 V 350 W 2 speed) ที่ความเร็วสูงสุด 19,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที เพื่อให้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และนำไปวิเคราะห์ส่วนประกอบ โดยมีรายละเอียดวิธีวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 1

2) เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ โดยเพาะเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 (จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (freeze-dried cultures) ตามวิธีของสถาบันฯ เริ่มต้นจากการเพาะเชื้อใน Lactobacilli MRS Agar (Difco™) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อลงสู่อาหารเหลว (Lactobacilli MRS broth) โดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตามลำดับ



ตารางที่ 1 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์ (APHA. 1998)

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
ความเป็นกรดต่าง (pH)	Electrometric method (APHA 4500-H ⁺)
ของแข็งทั้งหมด (Total solids)	อบที่ 103-105°C
ของแข็งระเหยง่าย	เผาที่ 550°C
เถ้า (Ash)	เผาที่ 550°C
ความชื้น (Moisture)	อบที่ 135°C
ซีโอดี (COD)	Closed reflux method (APHA 5220)
ทีเคเอ็น (TKN)	Kjeldahl method (APHA 4500-N _{org})
น้ำมันและไขมัน (Oil & grease)	Soxhlet Extraction (APHA 5520)
น้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) กลูโคส (Glucose), ไกซ์โลส (Xylose)	วิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC (UV/VIS detection)
ผลผลิตกรดแลคติก (Lactic acid)	วิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC (UV/VIS detection)

2.2 จำลองกระบวนการหมักกรดแลคติกแบบไร้อากาศภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน (aseptic fermentation) ในขวดซีรัม ปริมาตร 120 mL โดยแบ่งชุดทดลองตามอุณหภูมิในการหมัก เป็น 3 ชุดทดลอง ได้แก่ ชุดทดลองกระบวนการหมักที่อุณหภูมิ 30°C, 35°C และ 40°C โดยในแต่ละชุดทดลอง ใช้สับสเตรตระหว่าง 15-36 g (5 g Total sugar) ปรับ pH ของ สับสเตรตให้อยู่ในช่วง 4-5 ทำให้เกิดสภาพไร้อากาศในแบบจำลองการหมัก โดยการเป่าด้วยก๊าซอาร์กอนประมาณ 2 นาที และนึ่งฆ่าเชื้อชุดทดลองทั้งหมดที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ก่อนใส่เชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* TISTR 926 ที่ผ่านการเพาะเชื้อในอาหารแข็งและอาหารเหลวแล้วในปริมาณ 5% (v/v) หลังจากนั้นนำชุดทดลองไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ โดยในแต่ละชุดทดลองมีชุดควบคุม (กลูโคส 5 g/L) 1 ชุด

2.3 การเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

1) เก็บตัวอย่างจากชุดทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิในแต่ละวัน โดยใช้เข็มสำหรับเก็บตัวอย่าง (syringe) ดูดส่วนที่เป็นของเหลวจากในขวดซีรัม ปริมาณ 5 mL

2) บั่นแยกตัวอย่างที่เก็บมาจากขั้นตอนที่ 1 เพื่อแยกส่วนที่เป็นอนุภาคออกจากส่วนของเหลวอย่างแท้จริง โดยใช้เครื่องเหวี่ยง (Eppendorf) ที่ความเร็วรอบ 13,400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 μ อีกครั้ง ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยกำหนดสภาวะของเครื่อง HPLC ดังนี้ เครื่องมือ (HPLC: Agilent 1100), Column: Animex HPX-87H, Dimensions 300 mm x 7.8 mm, Detector: UV-VIS detector and Refractive Index



detector, in series, Mobile phase: 4 mM H_2SO_4 solution in filtrated milliQ-water, Flow rate: 0.6 ml/min, Run time 25 min/sample

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ
วิเคราะห์ข้อมูลปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเศษผลไม้ชนิดต่างๆ แบบไร้อากาศ ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 30, 35, และ 40°C สถิติที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าร้อยละ และการวิเคราะห์ความแปรปรวน

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. ส่วนประกอบของสับสเตรตที่ใช้ในการหมักกรดแลคติก สับสเตรตที่ใช้ในการหมักกรดแลคติกในการศึกษาค้างนี้ ได้แก่ เศษผลไม้ (เปลือกแตงโม ชังขนุน และแกนสับปะรด) มีส่วนประกอบแสดงดังตารางที่ 2 โดยเปลือกแตงโมมีค่าเฉลี่ยความเป็นกรดต่างสูงที่สุด (5.21) และมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด (ร้อยละ 92.87) ส่วนเศษผลไม้อื่น ๆ พบว่า ชังขนุน มีค่าพารามิเตอร์สูงที่สุด คือ ปริมาณเฉลี่ยของของแข็งทั้งหมด (174.80 g/kg) ของแข็งระเหยง่าย (155.62 g/kg) เถ้า (19.18 g/kg) ซีโอดี (182.33 g/L) และทีเคเอ็น (2.67 g/kg) สำหรับปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่มีอยู่ในเศษผลไม้ ที่ใช้ในการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 15.33-39.06 g/kg โดยแกนสับปะรดเป็นเศษผลไม้ที่มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยเฉลี่ยสูงที่สุด (39.06 g/kg) ในขณะที่

ตรวจไม่พบปริมาณน้ำมันและไขมันในเศษผลไม้ทุกชนิด

2. ปริมาณผลผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Production) จากกระบวนการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ จากผลการทดลองหมักเศษผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ เปลือกแตงโม ชังขนุน และแกนสับปะรด แบบไร้อากาศ โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 โดยแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก คือ ที่ 30, 35, และ 40°C พบว่า ได้ปริมาณผลผลิตหลัก คือ กรดแลคติก และผลผลิตพลอยได้อื่น ๆ เช่น ไซโลส (xylose) อราบินอส (arabinose) กรดซัคซินิค (succinic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) และอะซิเตท (acetate) เป็นต้น ในแต่ละชุดทดลองที่มีอุณหภูมิในการหมักแตกต่างกัน โดยผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเปลือกแตงโมมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 25 kg/ton wt substrate ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 4 วัน (ภาพที่ 1) ในขณะที่ผลผลิตกรดแลคติกเฉลี่ยสูงสุดที่ได้จากการหมักชังขนุนเมื่อหมักด้วยระยะเวลาเท่ากัน (4 วัน) มีค่าสูงกว่า (56 kg/ton wt substrate) เมื่อหมักภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C เช่นเดียวกัน ซึ่งเมื่ออุณหภูมิการหมักสูงขึ้น (40°C) ผลผลิตกรดแลคติกที่ได้มีค่าต่ำลง นอกจากนี้ จากผลการทดลอง พบว่า ผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักแกนสับปะรดมีค่าใกล้เคียงกับการหมักชังขนุน โดยมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเมื่อหมักเป็นระยะเวลา 4 วัน เท่ากับ 54 kg/ton wt substrate โดยเมื่ออุณหภูมิการหมักสูงขึ้น ผลผลิตกรดแลคติกที่ได้มีค่าลดลงเช่นเดียวกับผลที่เกิดขึ้นกับชังขนุน



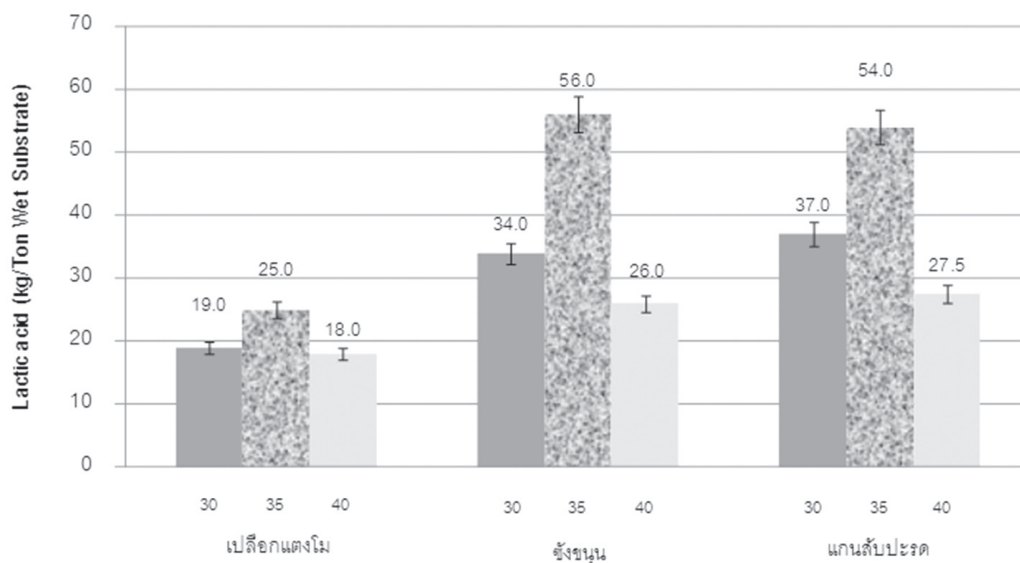
ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของสับสเตรตที่ใช้ในการหมักกรดแลคติก

พารามิเตอร์	เปลือกแดงโม		ซังขนุน		แกนสับปะรด	
	ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD
ความเป็นกรดต่าง	5.21	0.01	4.70	0.02	3.80	0.01
ของแข็งทั้งหมด (g/kg)	64.00	2.97	174.80	0.82	145.37	0.84
ของแข็งระเหยง่าย (g/kg)	52.02	0.59	155.62	5.65	142.56	0.74
เถ้า (g/kg)	11.98	3.03	19.18	5.59	2.82	0.12
ความชื้น (%)	92.87	0.26	85.31	0.83	82.68	0.55
ซีโอดี (g/L)	70.48	1.85	182.33	0.00	153.73	8.23
ทีเคเอ็น (g/kg)	nd		2.67	0.21	nd	
น้ำมันและไขมัน	nd		nd		nd	
น้ำตาลทั้งหมด (g/kg)	15.33	1.54	31.00	0.42	39.06	4.62

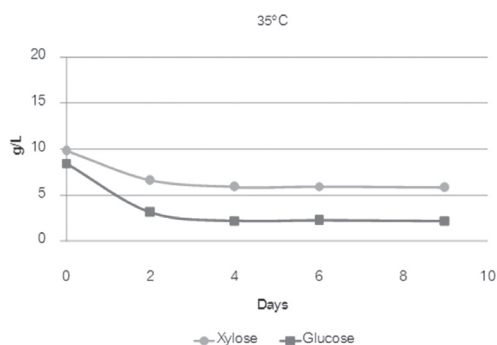
nd = ตรวจไม่พบ, ค่าเฉลี่ย (Triplicate)

เมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเศษผลไม้ทั้ง 3 ชนิด แล้ว พบว่า ซังขนุน เป็นเศษผลไม้ที่มีศักยภาพที่สุด และเหมาะที่จะนำมาเป็นสับสเตรตสำหรับการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติกในปริมาณสูงโดยใช้ระยะเวลาหมัก 4 วัน (ตารางที่ 3) ดังจะเห็นได้จากปริมาณน้ำตาล (กลูโคสและไซโลส) ที่ลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากการหมักเพียง 2 วัน ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C (ภาพที่ 2 ก) ทั้งนี้ ส่วนหนึ่งน่าจะมาจากปริมาณน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบของซังขนุน ที่มีปริมาณเพียงพอสำหรับกระบวนการแปรสภาพของแบคทีเรีย ซึ่งน้ำตาลโดยเฉพาะกลูโคส จัดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดี

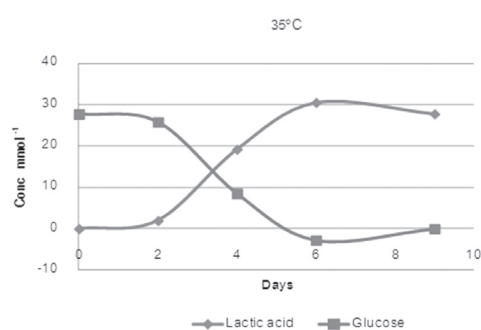
สำหรับการผลิตกรดแลคติก รวมทั้งปริมาณสารอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบในซังขนุนที่มีปริมาณสูง (ตารางที่ 2) ทำให้สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงกว่าสับสเตรตอื่น ๆ ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยแนวโน้มการลดลงของปริมาณน้ำตาลจากการหมักสับสเตรตชนิดอื่นภายใต้อุณหภูมิการหมัก 30°C และ 40°C ก็มีลักษณะเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ได้จากชุดควบคุม (กลูโคส) พบว่า กลูโคส 1 โมล ถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก 2 โมล ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดแลคติกในทางทฤษฎี (ภาพที่ 2 ข)



ภาพที่ 1 ผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศภายใต้อุณหภูมิการหมักที่ 30, 35 และ 40°C ระยะเวลาการหมัก 4 วัน



(ก) ช้างขนุน



(ข) ผลผลิตกรดแลคติกจากชุดควบคุม

ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำตาลตลอดระยะเวลาการหมักช้างขนุนและผลผลิตกรดแลคติกจากชุดควบคุม (กลูโคส)

3. ผลผลิตจำเพาะ (Specific Yield)
ที่ได้จากการหมักเศษผลไม้แต่ละชนิด จากการคำนวณค่าผลผลิตจำเพาะของกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเศษผลไม้ที่มีส่วนประกอบของสาร

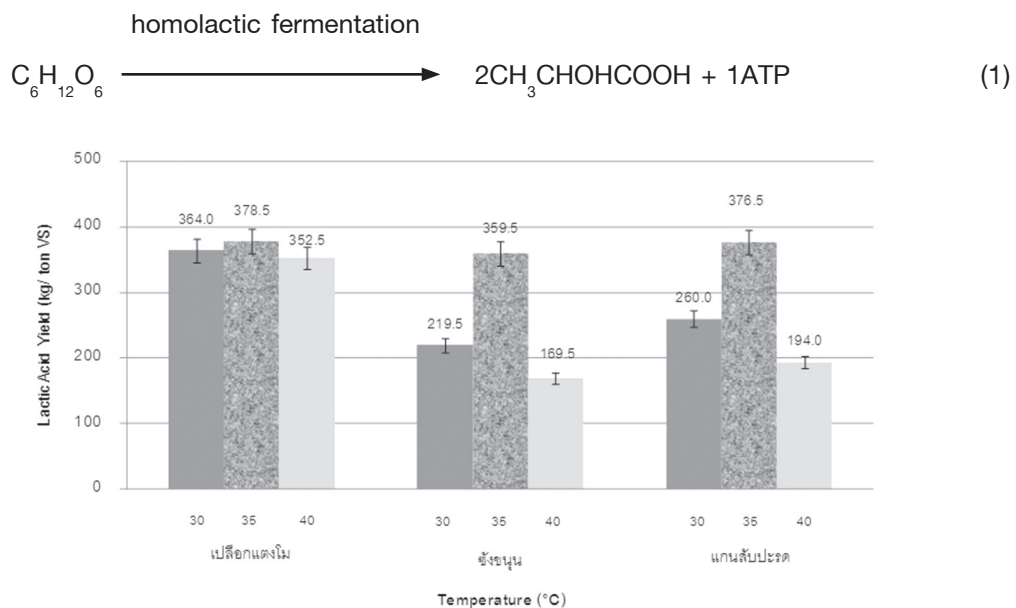
อินทรีย์ที่แตกต่างกัน พบว่า ค่าผลผลิตจำเพาะของกรดแลคติกสูงสุดที่ได้ มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 378.5, 359.5 และ 376.5 kg/ton VS (Volatile solid) สำหรับการหมักเปลือกแตงโม



ซังซุน และแกนสับปะรด เป็นระยะเวลา 4 วัน ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C ตามลำดับ (ภาพที่ 3)

จากผลการทดลอง ชี้ให้เห็นว่า ปริมาณสารอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบในเศษผลไม้แต่ละชนิด (น้ำตาลในรูปของกลูโคสและไซโลส) ถูกเปลี่ยนไปเป็นผลผลิตกรดแลคติกประมาณร้อยละ 40 โดยเปลือกแตงโมที่มีปริมาณของแข็งระเหยง่ายเป็นส่วนประกอบต่ำที่สุด (ร้อยละ 5.15) มีปริมาณผลผลิตกรดแลคติกต่อปริมาณของแข็งระเหยง่ายเท่ากับ 18.5 gVS/L ส่วนซังซุนและแกนสับปะรด

มีปริมาณของแข็งระเหยง่ายสูงกว่า โดยมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 15.56 และร้อยละ 14.34 และมีปริมาณผลผลิตกรดแลคติกต่อปริมาณของแข็งระเหยง่าย เท่ากับ 31.1 และ 21.5 gVS/L ตามลำดับ ซึ่งจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ (อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก และผลผลิตหลักที่เกิดขึ้น) เป็นส่วนสนับสนุนว่า การหมักครั้งนี้เป็นการหมักแบบโฮโมแลคติก (homolactic fermentation, สมการที่ 1) โดยมีผลผลิตอื่น ๆ (อะซิเตด) เกิดขึ้นในปริมาณต่ำ



ภาพที่ 3 ผลผลิตจำเพาะของกรดแลคติกจากการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศภายใต้อุณหภูมิการหมักที่ 30, 35 และ 40°C ระยะเวลาการหมัก 4 วัน

4. ผลของอุณหภูมิการหมักที่มีต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ

จากการทดลองหมักเศษผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 30°C, 35°C และ 40°C

พบว่า ได้ผลผลิตกรดแลคติกในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยเมื่อใช้เปลือกแตงโมเป็นสับสเตรตในการหมัก พบว่า ได้ผลผลิต กรดแลคติกสูงสุดภายใต้ อุณหภูมิการหมัก 35°C และเมื่อใช้ซังซุนและแกนสับปะรดเป็นสับสเตรตในการหมัก พบว่า



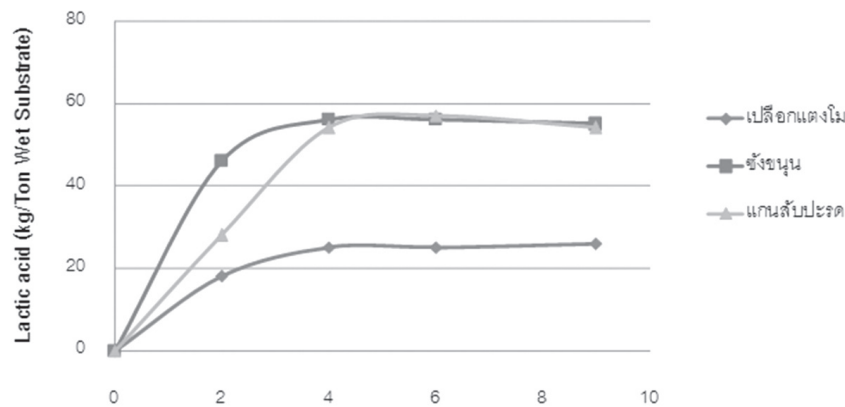
ได้ผลผลิตกรดแลคติกสูงสุดภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 1) โดยเมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิต กรดแลคติกที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักภายใต้อุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมดังกล่าวนี้ พบว่า ปริมาณผลผลิตกรดแลคติกมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก และมีปริมาณสูงหลังจากหมักได้ 4 วัน (ตารางที่ 3) โดยซึ่งชนุนเป็นสับสเตอร์ที่หมักแล้วให้ผลผลิตกรดแลคติกในปริมาณสูงที่สุดภายใต้ระยะเวลาการหมักดังกล่าว (ภาพที่ 4) อย่างไรก็ตาม จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ค่าเฉลี่ยผลผลิต

กรดแลคติกที่ได้จากการหมักเศษผลไม้ทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากหมักเป็นระยะเวลา 2 วัน และ 4 วัน และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อหมักภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C สำหรับการหมักเปลือกแดงโม ในขณะที่ยาค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักซึ่งชนุนและแกนสับปะรด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อหมักภายใต้อุณหภูมิการหมัก 30°C 35°C และ 40°C (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ ภายใต้อุณหภูมิการหมักต่าง ๆ

สับสเตอร์	อุณหภูมิ (°C)	ค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติก (kg/ton wt substrate)*				
		0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	9 วัน
เปลือกแดงโม	30	0 ^{ad}	16 ^{be}	19 ^{cg}	18 ^{cg}	19 ^{cg}
	35	0 ^{ad}	18 ^{bf}	25 ^{ch}	25 ^{ch}	26 ^{ch}
	40	0 ^{ad}	17 ^{be}	18 ^{cg}	16 ^{cg}	16 ^{cg}
ซึ่งชนุน	30	0 ^{ad}	30 ^{be}	34 ^{ch}	36 ^{ch}	37 ^{ch}
	35	0 ^{ad}	46 ^{bf}	56 ^{ci}	56 ^{ci}	55 ^{ci}
	40	0 ^{ad}	19 ^{bg}	26 ^{cj}	30 ^{cj}	25 ^{cj}
แกนสับปะรด	30	0 ^{ad}	24 ^{be}	37 ^{ch}	42 ^{ch}	40 ^{ch}
	35	0 ^{ad}	28 ^{bf}	54 ^{ci}	57 ^{ci}	54 ^{ci}
	40	0 ^{ad}	26 ^{bg}	28 ^{cj}	29 ^{cj}	28 ^{cj}

*ตัวอักษรหลังค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติกลำดับแรก แสดงความเหมือน/แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของค่าเฉลี่ยฯ ที่ระยะเวลาการหมักต่างกัน และตัวอักษรหลังค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติกลำดับที่ 2 แสดงความเหมือน/แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของค่าเฉลี่ยฯ ที่อุณหภูมิการหมักต่างกัน



ภาพที่ 4 ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดจากการหมักเศษผลไม้ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35°C ตลอดระยะเวลาการหมัก (9 วัน)

จากผลการศึกษา ซึ่งเห็นว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักมีผลต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติก เนื่องจากอุณหภูมิมีบทบาทสำคัญในการแสดงออกของเอ็นไซม์บางชนิดที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดแลคติก เช่น เอ็นไซม์แลคเตทไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) โดยซังขนุนเป็นสับสเตรตที่แสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนที่สุดถึงผลของอุณหภูมิที่ใช้สำหรับการหมัก ซึ่งอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ คือ อุณหภูมิการหมักที่ 35°C (ภาพที่ 1) ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ที่ศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย แนะนำให้ใช้ในการหมัก คือ อุณหภูมิ 30°C อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการทำงานของแบคทีเรียชนิดนี้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มแฟคัลเททีฟ

(Facultative) (Panesar et al. March 2007 : 7-8) มีค่าอยู่ในช่วง 20-40°C (Idris and Suzana. May 2006 : 1120-1121)

สรุปผลการวิจัย

1. ปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ โดยแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 4 วัน มีค่าสูงสุดจากการหมักซังขนุน (56 kg/ton wt substrate) แกนสับปะรด (54 kg/ton wt substrate) และเป็ลือกแดงโม ให้ผลผลิตกรดแลคติกต่ำที่สุด (25 kg/ton wt substrate) ตามลำดับ

2. อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการหมักกรดแลคติกจากเศษผลไม้แบบไร้อากาศ โดยแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 ที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ คือ อุณหภูมิการหมัก 35°C



ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. ในการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 เพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติกในปริมาณสูง นอกจากปัจจัยที่สำคัญ คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก แล้ว ควรพิจารณาปริมาณของแข็งระเหยง่าย และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเศษผลไม้ที่ใช้ในการหมัก ร่วมด้วย

เพื่อใช้ในการพิจารณาศักยภาพของเศษผลไม้ที่จะนำมาใช้หมักเพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติก

2. ควรศึกษาศักยภาพการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติกจากเศษผลไม้ชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น เปลือกกล้วย เปลือกส้มโอ เปลือกมังคุด เป็นต้น เนื่องจากเป็นเศษของเสียจากผลไม้ที่มีปริมาณมากในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ทั้งในเชิงสิ่งแวดล้อม (ลดปริมาณของเสีย) และการประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรม (ผลิตในเชิงพาณิชย์)





เอกสารอ้างอิง

- ธัญรัตน์ ประชามอญ, มัลลิกา บุญมี และกรรข ฮามสุโพธิ์. (กรกฎาคม-กันยายน 2551) “การผลิตกรดแลคติกโดยใช้น้ำอ้อยเป็นสารตั้งต้น” **วารสารวิจัย มข.** (ฉบับบัณฑิตศึกษา) 8 (3) หน้า 1-8.
- มหาวิทยาลัยขอนแก่น ศูนย์วิจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและสารอันตราย. (2550) **รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการส่งเสริมและสนับสนุนการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวเคมีที่ใช้อ้อยเป็นวัตถุดิบต้นน้ำ** [ออนไลน์] แหล่งที่มา : http://agkb.lib.ku.ac.th/ocsb/search__detail/download__digital__file/157690/46078 (23 มิถุนายน 2556)
- Akerberg, C. et al. (June 1998) “Modelling the influence of pH, temperature, glucose and lactic acid concentrations on the kinetics of lactic acid production by *Lactococcus lactis* ssp. Lactis ATCC 19435 in whole flour” **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 49 page 682-690.
- APHA. (1998) **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** 20th ed. Bultimore : United Book Press.
- Gao, C., Ma, C., and Xu, P. (November-December 2011) “Biotechnological routes based on lactic acid production from biomass” **Biotechnology Advances.** 29 page 930-939.
- Idris, A. and Suzana, W. (May 2006) “Effect of sodium alginate concentration, bead diameter, initial pH and temperature on lactic acid production from pineapple waste using immobilized *L. delbrueckii*” **Process Biochemistry.** 41 page 1117-1123.
- John, R. P. et al. (March-April 2009) “Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production” **Biotechnology Advances.** 27 page 145-152.
- Nancib, N. et al. (June 2001) “The effect of supplementation by different nitrogen sources on the production of lactic acid from date juice by *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*” **Bioresource Technology.** 78 page 149-153.



Panesar, P. S. et al. (March 2007) “Bioutilisation of whey for lactic acid production” **Food Chemistry**. 105 page 1-14.

Sreenath, H. K. et al. (July 2001) “Lactic acid production by simultaneous saccharification and fermentation of alfalfa fiber” **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 92 (6) page 518-523.

