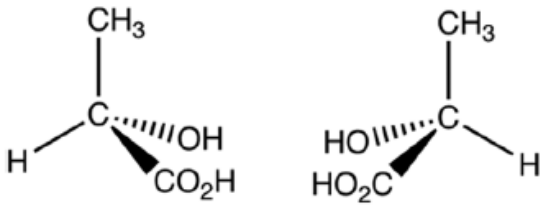
บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 กรดแลคติก

กรดแลคติก (2-hydroxypropanoic acid; $CH_3CHOHCOOH$) ประกอบด้วยหมู่แอลกอฮอล์ (OH) และหมู่คาร์บอกซิลิก (COOH) มี 2 ไครัลไอโซเมอร์ (Chiral isomer) คือ D-lactic และ L-lactic (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 ไอโซเมอร์ของกรดแลคติก



D (-) Lactic acid L (+) Lactic acid

ที่มา: อมรรัตน์ เลิศวรสิริกุล. 2554

กรดแลคติกที่มีความบริสุทธิ์สูง จะอยู่ในรูปของผลึกสีขาว หรือของเหลวใส ไม่มีสี ไปจนถึงเหลืองอ่อน ๆ ไม่มีกลิ่น มีคุณสมบัติดูดความชื้นได้ง่าย กรดแลคติกสามารถละลายน้ำได้ดี ให้รสเปรี้ยวปานกลาง นอกจากนี้ ยังสามารถละลายในแอลกอฮอล์ อะซีโทน อีเทอร์ แต่ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม ปิโตรเลียมอีเทอร์ และคาร์บอนไดซัลไฟด์ โดยคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก

คุณสมบัติ	รายละเอียด
น้ำหนักโมเลกุล	90.08
จุดหลอมเหลว D(-) or L(+)	52.8-54.0 (องศาเซลเซียส)
DL	16.8 (องศาเซลเซียส)
จุดเดือด DL	82 ^{o}C ที่ 0.5 มิลลิเมตรของปรอท
	122 ^{o}C ที่ 14 มิลลิเมตรของปรอท
ค่าคงที่ของการแตกตัว (K_a) ที่ 25 องศาเซลเซียส	1.37 X 10^{-4}
ค่าความร้อนของการเผาไหม้ (ΔH_c)	1361 กิโลจูลต่อโมล
ค่าความร้อนจำเพาะ (C_p) ที่ 20 องศาเซลเซียส	190 จูลต่อโมลต่อองศาเซลเซียส

ที่มา: Vickroy, T.B. 1985

2.1.2 ประโยชน์ของกรดแลคติก

กรดแลคติกถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท (แผนภูมิที่ 2) โดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ซึ่งมีความต้องการกรดแลคติกประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อุตสาหกรรมที่ไม่ใช่อาหาร (Nonfood industry) เช่น เครื่องสำอาง เภสัชกรรม และการประยุกต์ใช้ทางเคมี มีความต้องการกรดแลคติกในกระบวนการประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

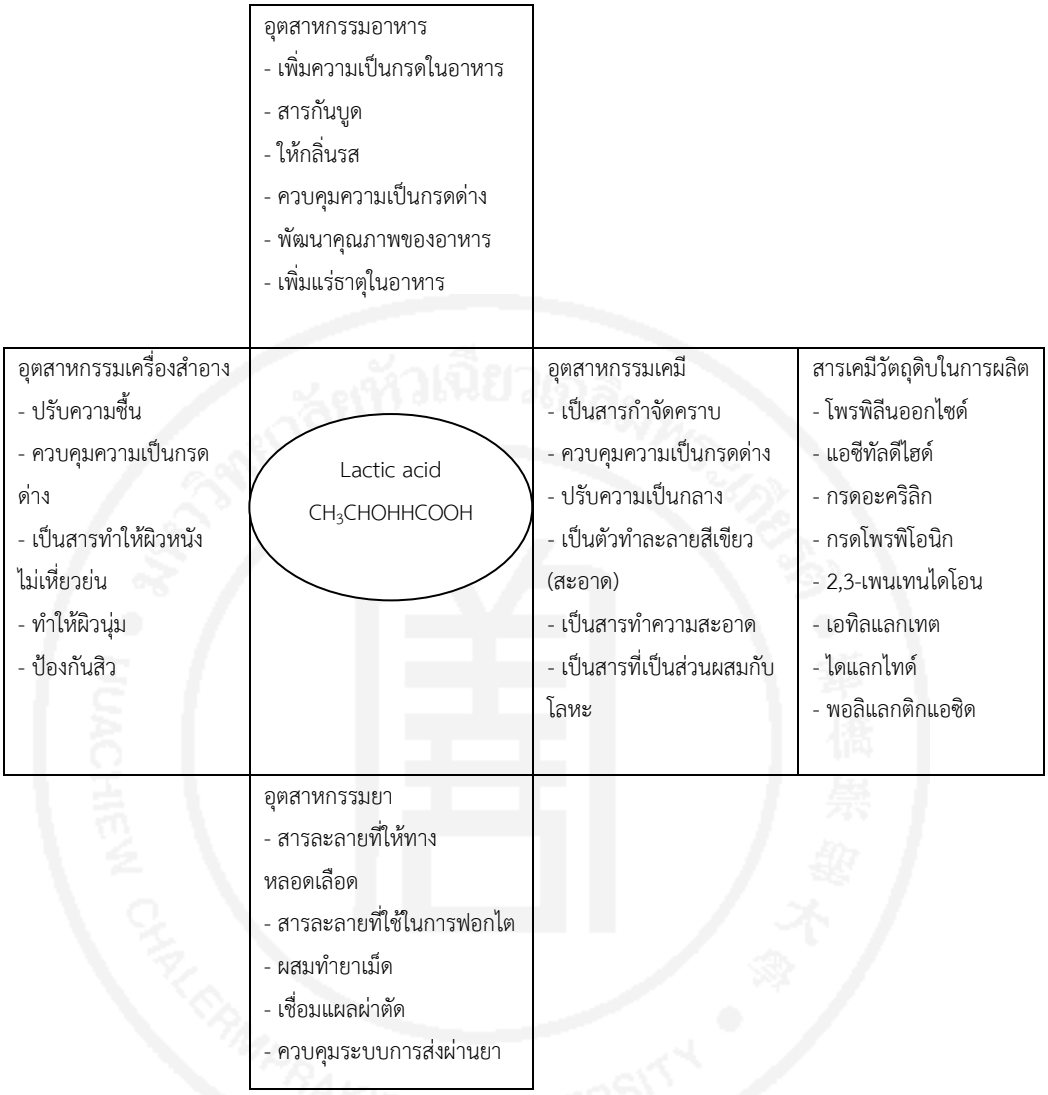
อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ใช้กรดแลคติกเป็นตัวทำให้เกิดความชุ่มชื้น ช่วยควบคุมพีเอช ยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้ผิวขาวขึ้น โดยกรดแลคติกมีฤทธิ์ยับยั้งองค์ประกอบของ Tyrosinase และเอทิลแลกเทต (Ethyl lactate) เป็นส่วนประกอบที่ว่องไวในการส่งเสริมกิจกรรมของสารประกอบที่ใช้ในการป้องกันสิว ดังนั้น กรดแลคติกและเกลือของกรดแลคติก จึงเป็นส่วนประกอบที่มีความปลอดภัยสูง มีประโยชน์ในการเป็นส่วนผสมที่สำคัญในเครื่องสำอาง

อุตสาหกรรมเภสัชกรรม ใช้กรดแลคติกเป็นอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte) เช่น ใน Lactated Ringer's หรือ Hartmonn's solution, CAPD (Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis) solution

นอกจากนี้ ยังมีการใช้ประโยชน์กรดแลคติกและเกลือของกรดแลคติกในกระบวนการทางเคมีหลายประเภท โดยเฉพาะการใช้กรดแลคติกเป็นมอนอเมอร์ในการผลิต PLA ซึ่งเป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ โดยผ่านปฏิกิริยาต่าง ๆ คือ Polycondensation depolymerization และ Ring-opening polymerization ซึ่งพอลิเมอร์ (PLA) ที่ได้สามารถนำไป

ประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง เช่น ทำเสื้อเกราะ ผลิตภัณฑ์สำหรับบรรจุอาหาร แผ่นฟิล์มที่ใช้ห่อหุ้ม ถุงขยะ ภาชนะบรรจุที่มีรูปร่างคงตัว และถาด (ภาชนะบรรจุ) ที่มีอายุการใช้งานสั้น ดังนั้น การเติบโตของตลาด PLA จึงเป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นความต้องการกรดแลคติกในอนาคต ให้เพิ่มขึ้นได้เป็นอย่างมาก

แผนภูมิที่ 2 การประยุกต์ใช้กรดแลคติกและเกลือของกรดแลคติกในทางการค้า



ที่มา: Wee, Y.J. et al. 2006 : 169 อ้างถึงใน สุขใจ ชูจันทร์. 2554

2.1.3 การหมัก

การหมัก (Fermentation) หมายถึง กระบวนการแปรสภาพของสารประกอบอินทรีย์ที่ถูกควบคุมด้วยการทำงานของเอนไซม์ (ตะวัน ฉัตรสูงเนิน. 2546) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักจากจุลินทรีย์ หรือกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ เรียกว่า ผลิตภัณฑ์หมักดอง (Fermented Production) โดยประเภทของกระบวนการหมัก มีดังนี้

2.1.3.1 การแบ่งประเภทของกระบวนการหมักตามกระบวนการผลิต (ตะวัน ฉัตรสูงเนิน. 2546)

1) กระบวนการหมัก แบ่งตามความต้องการออกซิเจน มี 2 ประเภท คือ

1.1) Aerobic fermentation คือ กระบวนการหมักที่ใช้จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักกรดซิติก (Citric acid) และกรดอะซิติก (Acetic acid)

1.2) Anaerobic fermentation คือ กระบวนการหมักที่ใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักอะซิโตน (Acetone) และบิวทานอล (Butanol) เป็นต้น

2) กระบวนการหมัก แบ่งตามสภาพการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อ ซึ่งแบ่งได้ 3 ประเภท คือ

2.1) Septic fermentation เป็นการหมักในสภาพเปิด ซึ่งไม่จำเป็นต้องกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก หรือปนเปื้อนในระหว่างการหมัก แต่ใช้วิธีการปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ และไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

2.2) Semi-septic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่นจากภายนอก แต่ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก และใช้วิธีการปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ และไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

2.3) Aseptic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิด ซึ่งต้องทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักปราศจากเชื้อปนเปื้อน นอกจากนี้ ยังต้องระวังไม่ให้มีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นในระหว่างการหมักด้วย

2.1.4 กลไกการหมักกรดแลคติก

การผลิตกรดแลคติกโดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย) เป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการผลิตกรดแลคติกทางชีวภาพ ซึ่งประกอบด้วยกระบวนการหมัก การแยกหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิต และการทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้บริสุทธิ์ ทั้งนี้ แบคทีเรียจะผลิตเอทานอลหรืออะซีเทต ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการหมัก เช่น การหมักแบบโฮโมแลคติก หรือการหมักแบบเฮทเทอโรแลคติก เป็นต้น โดยผลผลิตที่เกิดขึ้นแสดงดังสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$C_6H_{12}O_6$ ⟶ (Homolactic Fermentation) $2CH_3CHOHCOOH$ + 1ATP (1)

กรดแลคติก

$C_6H_{12}O_6$ ⟶ (Heterolactic Fermentation) $CH_3CHOHCOOH$ + CH_2OH (Acetate) + CO_2 (2)

กรดแลคติก เอทานอลหรือแอซีเทต คาร์บอนไดออกไซด์

+ Formic Acid (trace) + ATP

กรดฟอร์มิก

2.1.5 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติก

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรีย (Lactic Acid Bacteria; LAB) และฟังไจ โดยประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตกรดแลคติกในระดับอุตสาหกรรม จะมุ่งไปที่การใช้แบคทีเรียในการหมัก โดยเฉพาะแบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc* และ *Enterococcu* ส่วนสายพันธุ์ของฟังไจ เช่น *Mucor, Monilia* และ *Rhizopus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติกทางเทคโนโลยีชีวภาพ

จุลินทรีย์	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)	ผลผลิต (กรัม/กรัม)	อัตราการผลิต (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง	เอกสารอ้างอิง
Rhizopus oryzae ATCC 52311	83.0	0.88	2.6	Zhou and Dominguez (1999)
Rhizopus oryzae NRRL 395	104.6	0.87	1.8	Park et al. (1998)
Enterococcus faecalis RKY1	144.0	0.96	5.1	Yun et al. (2003)
Lactobacillus rhamnosus ATCC 10863	67.0	0.84	2.5	Berry et al. (1999)
Lactobacillus helveticus ATCC 15009	65.5	0.66	2.7	Schepers et al. (2002)
Lactobacillus bulgaricus ATCC B-548	38.7	0.90	3.5	Burgos-Rubio et al. (2000)
Lactobacillus casei NRRL B-441	82.0	0.91	5.6	Hujanen and Linko (1996)
Lactobacillus plantarum ATCC 21028	41.0	0.97	1.0	Fu and Mathews (1999)
Lactobacillus pentosus ATCC 8041	21.8	0.77	0.8	Bustos et al. (2004)
Lactobacillus amylophilus GV6	76.2	0.70	0.8	Vishnu et al. (2000)
Lactobacillus delbrueckii NCIMB 8130	90.0	0.97	3.8	Kotzanmanidis et al. (2002)
Lactococcus lactis ssp. Lactis IFO 12007	90.0	0.76	1.6	Roble et al. (2003)

ที่มา: Wee, Y.J. et al. 2006 : 164 อ้างถึงใน สุขใจ ชูจันทร์. 2554

LAB สามารถจำแนกออกเป็น Homofermentative lactic acid bacteria ผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายทั้งหมด และ Heterofermentative lactic acid bacteria ให้ผลผลิตมากกว่า 1 ชนิด เช่น เอทานอล (Ethanol) ไดแอซีทิล (Diacetyl) ฟอร์เมต (Formate) อะซีตอย (Acetoin) หรือกรดอะซีติก คาร์บอนไดออกไซด์ และกรดแลคติก ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายชนิดใดขึ้นอยู่กับสภาวะในการผลิต โดย LAB สามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามกิจกรรมของเมตาบอลิซึมได้ 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ออบลิเกตโฮโมแลกติก (Obligate Homolactic) LAB กลุ่มนี้ใช้วิถีไกลคอลิติกในการหมักน้ำตาลเฮกโซสเท่านั้น โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ Fructose-1, 6-bisphosphate-aldolase แต่ไม่มี Phosphoketolase และไม่สามารถหมัก กลูโคเนตและเพนโทสได้ แบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มนี้

เช่น *Lb. acidophilus, Lb. helveticus, Lb. delbrueckii subsp. Delbrueckii, Lb. delbrueckii subsp. Lactis, Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus,*

กลุ่มที่ 2 แฟคัลเททีฟเฮเทอโรแลกติก (Facultative Heterolactic) LAB กลุ่มนี้ใช้วิถีไกลคอลิติกในการหมักน้ำตาลเฮกโซส มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง Aldolase และ Phosphoketolase นอกจากสามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสแล้วยังสามารถหมักน้ำตาลเพนโทส และบางครั้งสามารถหมักกลูโคเนตโดยในขณะที่มีกลูโคส เอนไซม์ของวิถีฟอสโฟกลูโคเนตจะถูกยับยั้งแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มนี้ เช่น *Lb. plantarum, Lb. rhamnosus, Lb. coryneformis, Lb. curvatus, Lb. casei, Lb. paracasei*

กลุ่มที่ 3 ออบลิเกตเฮเทอโรแลกติก (Obligate Heterolactic) LAB กลุ่มนี้ใช้วิถีฟอสโฟกลูโคเนตในการหมักน้ำตาลเฮกโซส ผลผลิตที่ได้ คือแลกเทต เอทานอล (อะซีเทต) และคาร์บอนไดออกไซด์ และบางครั้งอาจจะหมักน้ำตาลเพนโทสแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มนี้ *เช่น Lb. brevis, Lb. buchneri, Lb. fermentum, Lb. kefir*, *Lb. reuteri* (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 กลุ่มของแบคทีเรียสกุล Lactobacillus

การหมักแบบโฮโมแลกติก	การหมักแบบเฮเทอโรแลกติก	
ออบลิเกต	แฟคัลเททีฟ	ออบลิเกต
Lb. acidophilus	*Lb. plantarum*	*Lb. brevis*
Lb. helveticus	*Lb. rhamnosus*	*Lb. buchneri*
Lb. delbrueckii subsp. delbrueckii	*Lb. coryneformis*	*Lb. fermentum*
Lb. delbrueckii subsp. Lactis	*Lb. curvatus*	*Lb. kefir*
Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus	*Lb. casei*	*Lb. reuteri*
	Lb. paracasei	

ที่มา: Panesar, P.S. et al. 2007

2.1.6 สับสเตรตสำหรับการหมักกรดแลคติก

การศึกษาการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ LAB และ *Rhizopus sp.* เดิมส่วนใหญ่ใช้กลูโคสเป็นสับสเตรต ต่อมา Yin et al. (1997) และ Bulut et al. (2004) ได้ศึกษาการใช้คาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ ที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกหลายแบบ พบว่า กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีสำหรับการผลิตกรดแลคติก รองลงมาคือแป้ง อย่างไรก็ตาม ผู้ใช้กรดแลคติกเพื่อนำไปผลิตพอลิเมอร์ และผู้ใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ต้องการกรดแลคติกปริมาณมาก โดยต้องการให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ ดังนั้น วัตถุดิบที่นำมาผลิตกรดแลคติกควรมีลักษณะดังนี้ คือ ราคาถูก มีสิ่งเจือปนอยู่ในระดับต่ำ อัตราการผลิตเร็ว ได้ผลผลิตสูง และไม่มีผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการหมัก หรือมีน้อย สามารถทำการหมักได้โดยไม่ต้องใช้วิธีการเตรียมตัวอย่าง (Pre-treatment) หรือใช้ในปริมาณน้อย และวัตถุดิบมีใช้เพียงพอตลอดปี ด้วยเหตุนี้วัตถุดิบที่เป็นทรัพยากรทดแทน เช่น กากน้ำตาล วัสดุที่มีแป้ง และเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบ (กากมันสำปะหลัง ฟางข้าว ฯลฯ) และลิกโนเซลลูโลส (ซังข้าวโพด และเศษไม้ต่าง ๆ) ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกและมีจำนวนมาก สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อราคาต้นทุนการผลิต เนื่องจากราคาของสับสเตรตเป็นหนึ่งในราคาต้นทุนการผลิต คือประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ของราคาต้นทุนทั้งหมด ซึ่งการผลิตกรดแลคติกโดยวิธีทางชีวภาพจากวัตถุดิบที่มีราคาถูกชนิดต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4

2.1.7 การทำกรดแลคติกให้บริสุทธิ์

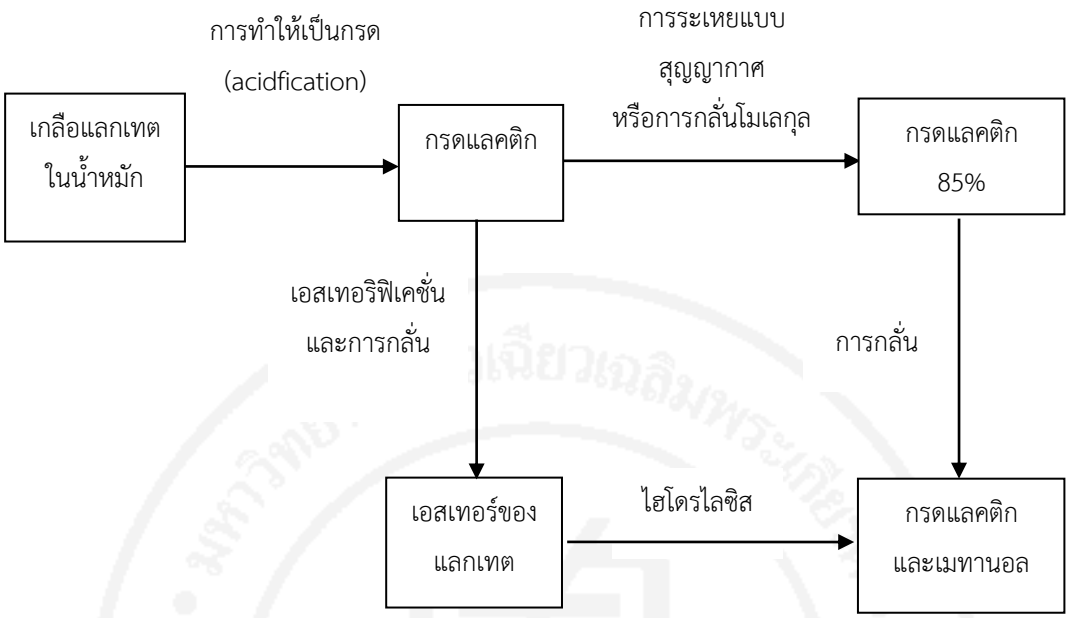
กระบวนการหมักกรดแลคติกเพื่อให้คุ้มทุน ขึ้นอยู่กับการพัฒนาประสิทธิภาพของวิธีการเก็บเกี่ยวผลผลิตกรดแลคติกจากน้ำหมัก เนื่องจากขั้นตอนในกระบวนการแยกและการทำให้บริสุทธิ์สามารถคิดเป็นราคาต้นทุนการผลิตได้ประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์ โดยแม้ว่ากรดแลคติกและน้ำจะมีจุดเดือดที่แตกต่างกัน แต่ก็ไม่สามารถทำให้เกิดกรดแลคติกบริสุทธิ์ได้ เพราะกรดแลคติกมีคุณสมบัติคือ มีความชอบน้ำสูง ดังนั้น จะเกิดรูปแบบแลกเทตไดเมอร์เมื่อกรดแลกติกมีความเข้มข้นสูง ผลิตภัณฑ์กรดแลกติกทางการค้าโดยทั่วไปอยู่ในรูปของเหลว ที่ประกอบด้วยกรดแลกติก 85 เปอร์เซ็นต์ โดยกระบวนการแยกและการทำให้กรดแลคติกบริสุทธิ์จากอาหารในกระบวนการหมักดังแสดงในแผนภูมิที่ 3

ตารางที่ 4 การผลิตกรดแลคติกโดยกระบวนการเทคโนโลยีชีวภาพจากวัสดุราคาถูกชนิดต่าง ๆ

วัตถุดิบ		เรีย์	อัตราการผลิต
แป้ง	ข้าวสาลี (โฮลวีท)	*Lactobacillus lactis* ATCC 19435	0.77-1 กรัม/กรัม
	แป้งสาลี	*L. lactis* and *Lactobacillus delbrueckii*	0.93-0.95 กรัม/กรัม
	ข้าวบาเลย์	*Lactobacillus casei* NRRL B-441	00.87-0.98 กรัม/กรัม
	รำข้าวสาลี	*L. amylophilus* GV 6	>0.90 กรัม/กรัม
	มันสำปะหลัง, ชานอ้อย	*L. delbrueckii* NCIM 2025, L. casei	0.90-0.98 กรัม/กรัม
	ข้าวโพด, ข้าว, ข้าวสาลี	Lactobacillus amylovorus ATCC 3 3620	<0.70 กรัม/กรัม
	แป้งมันฝรั่ง	*Rhizopus oryzae*, R. amhizus	0.87-0.97 กรัม/กรัม
	แป้งข้าวโพด	*L. amylovorus* NRRL B-4542	0.935 กรัม/กรัม
	ข้าวสาลี, รำข้าว	*Lactobacillus* sp.	129 กรัม/ลิตร
	ของเสียจากอุตสาหกรรมการเกษตร	*Enterococcus faecails* RKY1	~0.93 กรัม/กรัม
เซลลูโลส	เซลลูโลส	*L. bulgaricus* NRRL B-548	>80 กรัม/ลิตร
	ซังข้าวโพด	*Rhizopus* sp. MK-96-1196	90 กรัม/ลิตร
	เนื้อไม้	*Rhizopus oryzae* NRRL 395	>0.85 กรัม/กรัม
	เศษกระดาษ	*Rhizopus oryzae*	>0.8 กรัม/กรัม
	เนื้อไม้ที่ผ่านขั้น Hydrolyzate	*Enterococcus faecails* RKY1	~0.99 กรัม/กรัม
	เซลลูโลส	*Lactobacillus corynisfomis* ssp. *Tarquens* ATCC 25600	0.89 กรัม/กรัม
	เนื้อไม้ที่มีการ Treated	*Lactobacillus delbrueckii*	48-62 กรัม/ลิตร

ที่มา: John, R.P. et al. 2009

แผนภูมิที่ 3 กระบวนการแยกและการทำให้กรดแลคติกบริสุทธิ์



ที่มา: Xiaobo et al. 2006 : 421 อ้างถึงใน สุขใจ ชูจันทร์. 2554

โดยจากในอดีตจนถึงปัจจุบัน ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการแยกกรดแลคติกด้วยวิธีกาต่าง ๆ ได้แก่ วิธี Reactive extraction, Membrane separation, Ion-exchange, Electrodialysis, Chemical reaction distillation และ Reverse osmosis ซึ่งในแต่ละวิธีก็มีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกัน ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1) Reactive Extraction

วิธีนี้ใช้ตัวสกัดจำเพาะที่ให้ประสิทธิภาพในการแยกสูง การสกัดโดย Reactive มีข้อได้เปรียบ คือ แยกกรดแลคติกออกจากน้ำหมักได้ง่าย ป้องกันค่าพีเอชที่ต่ำลงกระบวนการสกัดไม่มีผลต่อความเสถียร และความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ ขณะเดียวกัน ก็ต้องการพลังงานต่ำ วิธีนี้เอมีนในเฟสของตัวทำละลาย จะทำปฏิกิริยากับกรดแลคติกในเฟสที่เป็นของเหลว ผลที่ได้จากการสกัด คือ กรดจะอยู่ใน organic phase มีการประยุกต์ใช้ตัวนำที่เป็นสารอินทรีย์และสารเจือจาง (Diluent) ชนิดต่าง ๆ พบว่า แอลกอฮอล์สายยาว เช่น ออกทานอล (1-octanol) และเดคานอล (1-decanol) มีความเป็นพิษน้อยกว่าตัวทำละลายอื่น ๆ

2) Adsorption Fermentation Process

ได้มีการศึกษากระบวนการหมักและการดูดซับ โดยการควบคุมค่าพีเอชจากการดูดซับกรดแลคติก ขณะเดียวกันมีการใช้ Ion-exchange resin อย่างแพร่หลายในกระบวนการแยกทางชีวภาพ สารแลกเปลี่ยนไอออนชนิดต่าง ๆ ได้ถูกนำมาใช้เพื่อแยกแลกเทต ใน 2-3 ปีที่ผ่านมา เทคนิคนี้มีการแข่งขันกัน เนื่องจากมีความสามารถในการแยกสารที่ต้องการ และมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนสูง รวมทั้งมีการทำงานที่ไม่ยุ่งยาก

3) Membrane Separation

การใช้เมมเบรนร่วมกับกระบวนการหมัก จะทำให้เกิดกระบวนการแยกผลิตภัณฑ์ไปด้วย กรดแลคติกจะถูกแยกอย่างต่อเนื่องจากเมมเบรน พร้อมกับความหนาแน่นของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการผลิตกรดแลคติกสูง นั่นคือ ได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณมาก

2.1.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างกรดแลคติก

1) พีเอช

แลคติกแอซิดแบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 4.5-6.5) Liu (2003) รายงานว่า *Lactobacillus bulgaricus* สามารถผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการใช้น้ำตาลกลูโคสในสภาวะที่เป็นกรด ในขณะเดียวกันเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่เป็นด่าง พบว่า *Lb. bulgaricus* มีการสร้างกรดอะซีติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า พีเอชมีอิทธิพลต่อเมตาบอลิซึมของไพรูเวต และการผลิตกรดแลคติกของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Champagne et al. 1989 ; Bobillo and Marshall. 1992 อ้างถึงใน Liu. 2003) อย่างไรก็ตาม จากการรายงานของ Wee et al. (2004) พบว่า *E. faecalis* RKY1 สามารถผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณสูงจากการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในสภาวะที่เป็นกลาง (พีเอช 7.0) ซึ่งปริมาณกรดแลคติกที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับปริมาณกรดแลคติกที่เลี้ยงในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 6.0) (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และวิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2549)

2) ออกซิเจน

โดยทั่วไปแลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน นอกจากนี้ ยังพบว่าออกซิเจนมีผลต่อรูปแบบของการหมัก (โฮโมหรือเฮเทอโรเฟอร์เมนท์เทชัน) Condon (1987) รายงานว่า เมื่อเลี้ยง *Leuconostoc* sp. ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน พบว่า Ln. sp. มีการผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะเดียวกันเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีออกซิเจน พบว่า Ln. sp. มีการสร้างกรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะที่ Tseng and Montville (1993) รายงานว่า ออกซิเจนมีผลต่อไพรูเวตเมตาบอลิซึมของ *Lb. plantarum* ซึ่งออกซิเจนจะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแลคเตทไปเป็นอะซิเทต และคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างกระบวนการหมัก นอกจากนี้ Maicas et al. (2002) รายงานว่า เมื่อเลี้ยง *Oenococcus oeni* ในสภาวะที่มีออกซิเจน

พบว่า *O. oeni* มีการเจริญที่ค่อนข้างต่ำ และออกซิเจนยังมีผลทำให้กระบวนการหมักเปลี่ยนจากโฮโมแลคติกแอซิดเฟอร์เมนท์เทชัน (Homo lactic acid fermentation) เป็นเฮเทอโรแลคติกแอซิดเฟอร์เมนท์ เทชัน (Hetero lactic acid fermentation) ส่งผลให้ปริมาณกรดแลคติกที่สร้างขึ้น มีค่าลดลง (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และวิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2549)

3) ปริมาณและชนิดของสับสเตรต

ปริมาณและชนิดของสับสเตรตที่ใช้ในกระบวนการหมักกรดแลคติก มีผลต่อการสร้างผลิตภัณฑ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยพบว่า เมื่อเลี้ยง *Lactococcus lactis* แบบกะ ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสอย่างจำกัด พบว่า ปริมาณของกรดแลคติกที่ถูกสร้างจะลดลง และมีการสร้างกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก และเอทานอลเพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันเมื่อเลี้ยง *Lc. Lactis* ในอาหารที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสอย่างเพียงพอ พบว่า *Lc. Lactis* ผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก (มากกว่า 90 เปอร์เซนต์) และมีการผลิตกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก และเอทานอลเพียงเล็กน้อย (Thomas et al. 1987) นอกจากนี้ ยังพบว่าผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นคล้ายกับผลการทดลองลี้ยง *Lb. casei* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบกะ (de Varies et al. 1970 ; Thomas et al. 1987 ; Yoo et al. 1997) ซึ่งนอกจากการจำกัดปริมาณของสับสเตรตแล้ว ชนิดของสับสเตรตยังมีผลต่อการสร้างกรดแลคติก โดยพบว่า *Lc. Lactic* จะผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการใช้น้ำตาลกลูโคส ในขณะเดียวกัน เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลมอลโตสและกาแลคโตส พบว่า ปริมาณกรดแลคติกที่ถูกสร้างจะลดลง และมีการสร้างกรดอะซิติกเพิ่มขึ้น (Thomas et al. 1987) นอกจากนี้ชนิดของสับสเตรตยังมีผลต่อการผลิตกรดแลคติกในจุลินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งจากการรายงานของ Bulut et al. (2004) พบว่า เมื่อเลี้ยง Rhizopus oryzae ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน R. oryzae สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่า (ประมาณ 3 เท่า) เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยง R. oryzae ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และวิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2549)

4) ไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่จำป็นสำหรับการสังเคราะห์กรดอะมิโน ฟิวรีน ไพริมิดีน คาร์โบไฮเดรตบางชนิด ลิพิด เอนไซม์ โคแฟกเตอร์ และสารชนิดอื่น ๆ ซึ่งแหล่งของไนโตรเจน ได้แก่ เกลืออนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต $[(NH_4)_2SO_4]$ และแอมโมเนียมไนเทรต (NH_4NO_3) และสารประกอบอินทรีย์ เช่น เพปโทน สารสกัดยีสต์ และน้ำแช่ข้าวโพด โดยข้อมูลในตารางที่ 5 ชี้ให้เห็นว่า การเพิ่มสารอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนมีประโยชน์สำหรับการผลิตกรดแลคติกโดยสารสกัดยีสต์ ซึ่งแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดจะให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงที่สุด โดยถั่วเหลือง และเมล็ดฝ้าย สามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนราคาถูกได้ และสามารถใช้แอมโมเนียมซัลเฟตแทนสารสกัดยีสต์ได้ แต่ต้องเพิ่มการเติมวิตามินด้วย ทั้งนี้ แอมโมเนียมสามารถรวมตัวกับสารอินทรีย์ได้ง่ายกว่าสารอนินทรีย์ ดังนั้น

ไนโตรเจนชนิดอื่น ๆ เช่น เกลือไนเทรต และเกลือไนไทรต์ จะถูกรีดิวซ์เป็นอันดับแรก เพื่อเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมก่อนที่ไนโตรเจนจะเปลี่ยนเป็นสารอินทรีย์ เกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ใช้อย่างกว้างขวาง ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้เพื่อหมักกรดแลคติก โดยเชื้อ *Rhizopus sp.* อยู่ระหว่าง 1.4-4.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งแอมโมเนียมซัลเฟตมีความเหมาะสมเพื่อนำมาผลิตกรดแลคติกมากกว่าแอมโมเนียมไนเทรต ยูเรีย สารสกัดยีสต์ เพปโทน และน้ำแช่ข้าวโพด

5) เกลืออนินทรีย์

เกลืออนินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติกในอาหารส่วนใหญ่ คือ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอตเฟต (KH_2PO_4) 0.15-0.60 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) 0.15-0.75 กรัมต่อลิตร ซิงก์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) 0.04-0.09 กรัมต่อลิตร และเฟอริกซัลเฟต [$Fe_2(SO_4)_3$] สำหรับเชื้อรา *Rhizopus sp.* ใช้ในปริมาณ 0.01 กรัมต่อลิตร (สุขใจ ชูจันทร์. 2554)

ตารางที่ 5 การเสริมสารอาหารแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติก

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	ผลผลิต (กรัม/กรัม หรือ กรัม/ลิตร) อัตราการผลิต (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
Lb. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	WFH	-	0.11 กรัม/กรัม
		YE	0.18 กรัม/กรัม
Lb. delbrueckii subsp. *delbrueckii*	WFH	-	0.80 กรัม/กรัม
		YE	0.91 กรัม/กรัม
Lb. delbrueckii subsp. *lactis*	Potato waste	-	1.0 กรัม/กรัม
	Hydrolysate	CSL	0.78 กรัม/กรัม
Lb. paracasei	Sweet sorghum	-	0.79 กรัม/กรัม
		YE + peptone	0.91 กรัม/กรัม
Lb. delbrueckii NRRL B 445	Molasses	-	0.81 กรัม/กรัม
		YE + peptone	0.70 กรัม/กรัม
Lb. salivarious NRRL B 1950	Soy molasses	-	0.76 กรัม/กรัม
		YE	0.85 กรัม/กรัม
Lb. lactis subsp. *lactis* AS 211	WFH	-	0.77 กรัม/กรัม
		YE	0.91 กรัม/กรัม
Lb. lactis subsp. *lactis* ATCC 19435	WFH	-	0.76 กรัม/กรัม
		YE	0.88 กรัม/กรัม
Lb. lactis subsp. *lactis* ATCC 19435	WFH + protease	-	1.5 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง
	WFH + protease	Vitamins	2.4 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง
	WFH + protease	Amino acid	2.8 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง
Lb. casei ATCC 10863	WFH + protease	Peptides	2.2 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง
	WFH	-	0.23 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง
	Glucose	RHH (1%)	0.88 กรัม/กรัม
Lactobacillus sp.	Glucose	RHH (6%)	0.44 กรัม/กรัม
	Glucose	RHH (7%)	0.28 กรัม/กรัม
	Cane juice	-	8.1 กรัม/ลิตร
		1% YE	10.8 กรัม/ลิตร
		1% SWL	13.5 กรัม/ลิตร
Lb. delbrueckii		1% YA	15.3 กรัม/ลิตร
		1% SW	12.6 กรัม/ลิตร
	Alfalfa extract	-	0.55 กรัม/กรัม
		YP + PP	0.58 กรัม/กรัม

ตารางที่ 5 (ต่อ)

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	ผลผลิต (กรัม/กรัม หรือ กรัม/ลิตร) อัตราการผลิต (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
Lb. plantarum	Alfalfa extract	-	0.58 กรัม/กรัม
		YP + PP	0.62 กรัม/กรัม
Lb. amylovorus	Cassava starch	-	4.8 กรัม/ลิตร
		peptone	7.7 กรัม/ลิตร

WFH : Wheat flour hydrolysate, MS : malt sprout, YE : yeast extract, CSL : corn steep liquor, RHH : ram horn hydrolysate, SWL : silk worm larvae, YA : yeast autolysate, SW : shrimp waste and PP : polypeptone

ที่มา: John et al. 2007 : 530 อ้างถึงใน สุขใจ ชูจันทร์. 2554

6) สารปรับสภาพให้เป็นกลาง

อุตสาหกรรมที่ใช้กระบวนการทางชีวภาพในการผลิตกรดแลคติก มักมีการเติมสารปรับสภาพให้เป็นกลาง เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต โซเดียมคาร์บอเนต โซเดียมไฮดรอกไซด์และแอมโมเนียในอาหารหมัก เพื่อควบคุมค่าพีเอชระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำหมัก เพื่อรักษาความเข้มข้นของกรดแลคติก และช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอิสระจากผลิตภัณฑ์ โดยแคลเซียมคาร์บอเนต เป็นสารที่ใช้มากในสภาวะฟลาสก์เขย่าและในถังหมัก อย่างไรก็ตาม การเติมแคลเซียมคาร์บอเนต และสารปรับสภาพให้เป็นกลางอื่น ๆ สำหรับควบคุมพีเอชของกรดแลคติก ซึ่งมีค่า pKa 3.86 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการสร้างเกลือแลคเทตแทนกรดแลคติก เป็นผลให้กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ทำได้ยาก และมีต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วย (สุขใจ ชูจันทร์. 2554)

7) อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีบทบาทสำคัยในการแสดงออกของเอนไซม์บางชนิด ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดแลคติกในแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยพบว่า การแสดงออกของเอนไซท์แลคแตทดีไฮโดรจิเนส (Lactate dehydro genase) ใน *Lb. rhamnosus* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีค่าลดลงและส่งผลให้การผลิตกรดแลคติกที่สภาวะดังกล่าวลดลงด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยง *Lb. rhamnosus* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (De Figueroa et al., 2001) และจากการรายงานของ Kwon et al. (2000) พบว่า เมื่อเลี้ยง *Lb. rhamnosus* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส *Lb. rhamnosus* สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่าเมื่อ

เปรียบเทียบกับการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องสาเซลเซียส (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และวิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2549)

8) การตรึงเซลล์

การตรึงเซลล์มีจุดประสงค์เพื่อรักษาเซลล์ไว้ในถังหมักให้ได้นานจากการยับยั้งการผลิตของผลิตภัณฑ์ (Product inhibition) นอกจากนี้ ยังเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ให้มากขึ้น เพิ่มอัตราการผลิต และสามารถแยกเซลล์ได้ดีกว่าในช่วงการเก็บเกี่ยว วัสดุที่ใช้สำหรับการตรึงเซลล์ของ LAB เพื่อผลิตกรดแลคติก เช่น Ca-alginate gels, poly (Ethyleneimine) ซึ่ง Senthuran et al. (1999) ได้รายงานการผลิตกรดแลคติกโดยการหมักแบบต่อเนื่องของเชื้อ *Lb. casei* ที่ถูกตรึงอยู่ใน Poly (Ethyleneimine) ระบบนี้ทำควบคู่กับ Cell-recycle bioreactor โดยพบว่า ปัจจัยที่มีความสำคัญของวิธีการตรึงเซลล์ คือ ขนาดของเม็ดเจล และจากการตรึงเซลล์เชื้อรา *R. oryzae* สำหรับผลิตกรดแลคติก โดยผันแปรชนิดของวัสดุส่งผ่านและกระบวนการ พบว่า การตรึงเซลล์เชื้อรา มีผลทำให้อัตราการผลิตกรดแลคติกเพิ่มขึ้น (สุขใจ ชูจันทร์. 2554)

2.1.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าและพัฒนาวิธีการสกัดกรดแลคติกจากวัตถุดิบต่าง ๆ เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิต และมีการศึกษาเกี่ยวกับสภาพที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อสกัดกรดแลคติกออกมา ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ ที่จะส่งผลต่อปริมาณกรดแลคติกที่จะสามารถสกัดออกมา ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่าง สภาพที่ใช้ในการหมัก ระยะเวลาในการหมัก และความเหมาะสมของชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก โดยจากการศึกษาและทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องสรุปได้ว่า ในแต่ละประเทศที่มีการทำการเกษตร และมีโรงงานอุตสาหกรรมจากผลผลิตทางการเกษตร จึงทำให้มีวัสดุเศษเหลือใช้จากกิจกรรมต่าง ๆ เหล่านี้ เช่น ข้าวฟ่างหวาน เปลือกข้าวโพด ฟางข้าว กากชานอ้อย มันสำปะหลัง เป็นต้น วัสดุเหลือใช้เหล่านี้นอกจากจะทำเป็นชีวมวล (Biomass) แล้ว ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในแขนงของเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะเทคโนโลยีการหมัก ซึ่งผลผลิตที่ได้เป็นกรดแลคติกจากการหมักเศษวัสดุเหลือใช้ นอกจากนี้ยังพบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก ประกอบด้วย ปัจจัยที่เหมาะสม ได้แก่ ค่า pH ระหว่าง 6.5-7 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสม และการเติมเกลืออนินทรีย์ก็มีผลในการแยกกรด แลคติกด้วยเช่นกัน ซึ่งจากการทบทวนผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตกรดแลคติก สามารถสรุปปัจจัยและสภาวะที่สำคัญในการหมักดังรายละเอียดในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สรุปสภาวะในการผลิตและผลผลิตกรดแลกติคจากกระบวนการหมัก

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
1) การผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากกากน้ำตาลโดยใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง	0.85 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง	4.2 และ 8.5	37 และ 42 องศาเซลเซียส	กฤษณะ ลิ้มไพบูลย์ (2554)
2) การผลิตกรดแอล-แลคติกจากมันสำปะหลังโดยรา Rhizoppus oryzae ในระดับนำร่อง	-	-	-	ณัฏฐา ทองจุล (2554)
3) การผลิตกรดแอลแลคติกด้วยแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus* TISTR 108	กากชานอ้อย 1.41 g/L ฟางข้าว 1.37 g/L ข้าวฟ่างหวาน 1.29 g/L เปลือกข้าวโพด 1.20 g/L	6.2 ± 0.2	37 องศาเซลเซียส (ให้ปริมาณกรดสูงสุดที่ 72 ชั่วโมง) เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง	ธนพร วิชัย และวรรัตน์ ปัตรประกร (2554)
4) การผลิตกรดแลคติกโดยใช้น้ำอ้อยเป็นสารตั้งต้น	15-23 กรัมต่อลิตร	6	37 องศาเซลเซียส	ธัญรัตน์ ประชามอญ, มัลลิกา บุญมี และกรกช ฮามสุโพธิ์ (2551)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
5) การใช้ฟางข้าวและชานอ้อยเพื่อผลิตกรดแลคติกด้วย Weissella sp. MVP04 โดยใช้กากยีสต์แห้งจากโรงงานเบียร์เป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทน	ความเข้มข้นที่ผลิตได้ 10.21 g/L อัตราการผลิตกรดแลคติกได้ 0.68 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	6.5	37 องศาเซลเซียส	แพรวพรรณ ยุวเดชกุล และคณะ (2554)
6) การแยกและทำบริสุทธิ์กรดอินทรีย์จากน้ำหมักโดยกระบวนการแผ่นเยื่อบาง : นาโนฟิวเตรชั่น	-	-	-	จักรกฤษณ์ อัมพุช (2553)
7) การพัฒนาหารผลิตกรดแลคติกจากมันสำปะหลังโดยแบคทีเรียกรดแลคติก ใช้ยีสต์เหลือทิ้งจากโรงงานเบียร์เป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมัก	ความเข้มข้นสูงสุด 150 g/L (72 ชม.) ผลผลิตกรดแลคติก > 0.9 กรัมของผลผลิตต่อกรัมของสับสเตรต	6	37 องศาเซลเซียส	ไพลิน บุญทาวัน (2553)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
8) การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบเพคตินจากใบกรุงเขมา (*Cissampelos pareira* L.) ในการตรึงเซลล์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* TISTR 108 และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* TISTR 1339 เพื่อผลิตกรดแลคติก	- *Lactobacillus casei* TISTR 108 ผลิตได้เท่ากับ 38.5 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 98	-	37 องศาเซลเซียส	อรทัย วิไลวัลย์ และสุขใจ ชูจันทร์ (2553)
9) การผลิตกรดแลคติกจากเวย์โดยเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus lactis* TISTR 1401 และ *Lactobacillus casei* TISTR 1341	16.68 กรัมต่อลิตร	-	-	สุขใจ ชูจันทร์ และฤทัยรัตน์ สุทธิสุวรรณ (2551 ก)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
10) การพัฒนาการผลิตกรดแลคติกด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพโดยเซลล์ตรึงของเชื้อผสมระหว่าง *Lactococcus lactis* TISTR 1401 ร่วมกับเชื้อ *Lactibacillus casei* TISTR 1341	29.89 กรัมต่อลิตร (ใช้การเซลล์ตรึง)	-	-	สุขใจ ชูจันทร์ และ ฤทัยรัตน์ สุทธิสุวรรณ (2551ข)
11) การศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเวย์โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341	- สามารถผลิตกรดแลคติกได้ 7.26 กรัมต่อลิตร - อัตราการผลิตกรดแลคติก 0.061 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	6.5	37 องศาเซลเซียส	จงกมล จริยกุล (2550)
12) การผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลังโดยแลคติกแบคทีเรียที่ได้จากลูกแป้ง	ให้ปริมาณกรดแลคติกได้สูงสุดที่ 3.85 และ 0.10 กรัมต่อลิตร	7	37 องศาเซลเซียส	นคร หน่อแก้ว (2550)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
13) การผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเซทของกระดาษหนังสือพิมพ์โดยแบคทีเรีย Enterococcus faecium SU-1	0.42 และ 0.38 กรัม/กรัมของน้ำตาลทั้งหมดที่ใช้ไป	7	37 องศาเซลเซียส	ญาณิกา วัชรเทวินทร์กุล และคณะ (2549)
14) การผลิตกรดแลคติกแบบต่อเนื่องสองขั้นตอน	21.29 กรัมต่อลิตร	6	37 องศาเซลเซียส	มีชัย ลัดดี (2546)
15) การหมักกรดแลคติกด้วย *Pediococcus* sp. และ *Lactobacillus* sp. และการกู้ผลผลิตด้วยตัวทำละลายอินทรีย์	9.2 กรัมต่อลิตร	-	-	ปนัดดา จันทร์เนย, ภิรมย์รัตน์ รักญาติ และวรลักษณ์ อังศุวรางกูร (2545)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
16) การผลิตกรดแลคติกแบบต่อเนื่องด้วยการหมักสองขั้นตอน	4.71 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	-	37 องศาเซลเซียส	สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล และคณะ (2544)
17) การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการผลิตกรดแลคติกจากวัสดุเหลือทิ้งของการผลิตน้ำสับปะรด โดยเชื้อ และ *Lactobacillus delbrueckii*	-	6.5	37 องศาเซลเซียส	Idris, A. and Suzana, W. (2006)
18) การศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันฝรั่งโดยเชื้อ Rhizoppus oryzae	0.85 - 0.92 กรัมต่อกรัมสารตั้งต้น	6	30 องศาเซลเซียส	Huang et al. (2005)
19) การผลิตกรดแลคติกจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วย Enterococcus faecalis RKY1 ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะ	3.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	-	38 องศาเซลเซียส	Oh et al. (2005)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
20) การผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาล (sugar molasses) ด้วย E. facalis RKY1 ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะ	4 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	7	38 องศาเซลเซียส	Wee et al. (2004)
21) การศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแหล่งคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ โดยใช้เชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY1 ด้วยวิธีการหมักแบบกะ	5.2 – 6.0 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส มอลโตส	-	-	Yun, J.S., Wee, Y.J. and Ryu, H.W. (2003)
22) การผลิตกรดแลคติกจากสารละลายที่ได้จากไฮโดรไลซ์ฟางข้าวสาลี (wheat straw) ที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน	6.7 กรัมต่อลิตร	-	33.5 องศาเซลเซียส	Garde, A. et al. (2002)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
23) การผลิตกรดแลคติกจากแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกันโดย *Lb. manihotivorans* OND32^{T}	0.96 กรัมกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาล (สับสเตรต เซโลไบโอส)	-	-	Guyot, J.P. and Morlon-Guyot, J. (2001)
24) ศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลคติก	ความเข้มข้นกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 98.8 กรัมต่อลิตร	-	-	Hujanen, M. et al. (2001)
25) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกโดย *Lb. casei* subsp. *Rhamnosus* ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะ	46 กรัมต่อลิตร	-	38 องศาเซลเซียส	Nancib, N. et al. (2001)
26) การผลิตกรดแลคติกแบบบูรณาการจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	46 กรัมต่อ 100 กรัมของ Fiber	-	37 องศาเซลเซียส	Sreenath, H.K. et al. (2001)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	อัตราการผลิตกรดแลคติก	พีเอช	อุณหภูมิ	อ้างอิง
27) การศึกษาผลของอุณหภูมิระหว่าง 30 ถึง 40 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง ต่อการผลิตกรดแลคติก	2.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	6	33.5 องศาเซลเซียส	Akerberg, C. et al. (1998)

2.2 กรอบแนวคิดการวิจัย

กรอบแนวคิดในการวิจัยครั้งนี้ แสดงดังแผนภูมิที่ 4

แผนภูมิที่ 4 กรอบแนวคิดการวิจัย