

52313202 : สาขาวิชาจุลชีววิทยา

คำสำคัญ : กรดแลคติก/*Lactobacillus casei*/แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว/Plackett-Burman design/  
วิธีการพื้นผิวตอบสนอง/Box-Behnken design

ชยากรณ์ สมานสรณคุณ : การผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วโดย  
แบคทีเรียกรดแลคติก. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ. ดร.เขาวรีย์ อรรถถังรอง. 125 หน้า.

งานวิจัยนี้ได้นำแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีราคาถูกและหาได้ง่ายในประเทศไทยมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตกรดแลคติก จากการคัดกรองแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความเหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้ว คือ *Lactobacillus casei* TISTR 453 สายพันธุ์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการผลิตกรดแลคติกจากภาวะที่เหมาะสมคือ 34 องศาเซลเซียสโดยหมักในสภาวะนิ่ง เป็นเวลา 96 ชั่วโมง การคัดเลือกองค์ประกอบของอาหารที่ส่งผลต่อการผลิตกรดแลคติกด้วยแผนการทดลอง Plackett-Burman design พบว่าจาก 13 ปัจจัยที่ศึกษานั้นมี 10 ปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการผลิตกรดแลคติก อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบของอาหาร 4 ชนิดคือ สารสกัดจากยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์ เปปโตน สารสกัดจากเนื้อ และ ไดโทเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตถูกเลือกเพื่อใช้ในการศึกษาหาค่าที่เหมาะสมขององค์ประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology) ด้วยแผนการทดลอง Box-Behnken design จากผลการทดลองในระดับขวดเข่าพบว่าได้กรดแลคติกสูงสุด 126.43 กรัมต่อลิตรจากน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 140 กรัมต่อลิตร เมื่อมีองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อคือ สารสกัดจากยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์ 10 กรัมต่อลิตร เปปโตน 10 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากเนื้อ 12 กรัมต่อลิตร โดยที่ไม่เติมไดโทเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต หมักที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมงเขย่า 200 รอบต่อนาที ภายใต้ปริมาณองค์ประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสามารถสร้างสมการแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกซึ่งทำนายกรดแลคติกได้ 120.18 กรัมต่อลิตร ผลจากการทวนสอบ (Verification) มีค่าใกล้เคียงกับค่าการที่ได้จากการทดลอง เมื่อทำการทดลองในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยใช้ภาวะการหมักที่เหมาะสมที่ได้จากระดับขวดเข่า ยกเว้นการใช้ไดแอมโมเนียมซัลเฟตแทนไตรแอมโมเนียมซัลเฟต ในการหมักชั่วโมงที่ 36 พบว่าได้กรดแลคติก  $124.80 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตรและมี productivity สูงสุด  $3.47 \pm 0.00$  กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งผลิตกรดแลคติกได้เร็วกว่าในระดับขวดเข่า 12 ชั่วโมง

ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

52313202 : MAJOR : MICROBIOLOGY

KEY WORD : LACTIC ACID/LACTOBACILLUS CASEI/TAPIOCA STARCH  
HYDROLYSATE/PLACKETT-BURMAN DESIGN/RESPONSE SURFACE  
METHODOLOGY/BOX-BEHNKEN DESIGN

CHAYAPORN SAMANSORANAKUN : LACTIC ACID PRODUCTION FROM TAPIOCA  
STARCH HYDROLYSATE BY LACTIC ACID BACTERIA. THESIS ADVISOR : ASST.PROF  
CHAOWAREE ADTHALUNGRONG, Ph.D. 125 pp.

Tapioca starch was used as a raw material for lactic acid production in the present study since it is cost-effective and there are plenty of cassavas in Thailand. From the screening of lactic acid bacteria suitable for the production of lactic acid from tapioca starch hydrolysate, *Lactobacillus casei* TISTR 453 was selected. The strain showed high efficiency to produce lactic acid at optimal conditions (34°C, under static condition and 96 h of fermentation). In selection of medium components which influenced lactic acid production, Plackett-Burman design was applied. The results suggested that 10 out of 13 parameters studied significantly affected lactic acid production. However, only 4 medium components namely winery yeast disposal, peptone, meat extract and dipotassium hydrogen phosphate were chosen for further medium optimization by response surface methodology (RSM) with Box-Behnken experimental design. The results from shake flask scale revealed that the highest lactic acid yield (126.43 g/l lactic acid from approximately 140 g/l reducing sugar) was obtained when 10 g/l winery yeast disposal, 10 g/l peptone and 12 g/l meat extract were added whereas dipotassium hydrogen phosphate was omitted. Fermentation was carried out at 34°C for 48 h with 200 rpm agitation. Under the optimal levels of medium components, the model generated from RSM estimated a maximum lactic acid concentration at 120.18 g/l, which was close to the experimental value observed in a verification step. Then, lactic acid fermentation was carried out in a 5-litre fermenter using optimal conditions obtained from shake flask scale except that di-ammonium citrate was added in place of tri-ammonium citrate. At 36 h of fermentation, 124.80 g/l lactic acid and a maximum productivity (3.47 g/l/h) were obtained. The production of lactic acid was 12 h faster than shake flask scale.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จและดำเนินไปด้วยดีจากความรู้ความเข้าใจอย่างยิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เชาว์วิทย์ อรรถลัทรอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ สนับสนุนอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆในงานวิจัย การแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่างๆที่เป็นประโยชน์และคำปรึกษาด้านต่างๆ ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่กรุณาให้ความรู้ตลอดมา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน ขอขอบพระคุณบุคลากรทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวนามภายใต้ภาควิชาจุลชีววิทยา ขอขอบคุณรุ่นพี่ รุ่นน้องและเพื่อนๆ ที่เป็นกำลังใจและคอยช่วยเหลือเป็นอย่างดี ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณทุกท่านมา ณ ที่นี้ด้วย ที่ได้สละเวลาในการให้ความรู้และคำปรึกษา ตลอดจนอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆและสนับสนุนการทำวิจัยนี้ดำเนินไปด้วยดี

และสุดท้ายขอขอบพระคุณบิดามารดาและครอบครัวของผู้วิจัย ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนทางการศึกษาตลอดมา ทำให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงได้ ขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

