J. Sci. Res. Chula. Univ. 1986 Vol. 11 : 1

การใช้กากน้ำตาลสำหรับหมักกรดแลคติก

ปราณี อ่านเปรื่อง*

Anprung, P. (1986) The use of molasses as substrate for lactic acid fermentation. *J. Sci. Res. Chula. Univ.* 11(1) : 85-88

Sample of molasses, on a dry matter basis, contained an average of 53.5% total sugars, 21.20% reducing sugar 0.62% N, 0.06% P, 0.87% Ca, 2.49% K and 0.06% Na. It contained 9.35% ash. As a major nutrient component for L. casei 703, this molasses which is grossly deficient in Mn, Mg and Fe, contains more than necessary the previously mentioned minerals for the growth and lactic acid production.

The production of lactic acid from the substrate of molasses solution contained 5% sugar by fermentation is proved possible. Moreover, in the laboratory-scale method, no particular difficulties were encountered in producing a crude lactic acid.

Key words : molasses, lactic acid, *L. casei*

ปราณี อ่านเปรื่อง (2529) การใช้กากน้ำตาลสำหรับหมักกรดแลคติก
วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 11(1) : 85-88

ตัวอย่างกากน้ำตาล ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมด 53.5%, น้ำตาลรีดิวซ์ 20-21%, ธาตุไนโตรเจน 0.62%, ธาตุฟอสฟอรัส 0.06%, ธาตุแคลเซียม 0.87%, ธาตุโปตัสเซียม 2.49% และธาตุโซเดียม 0.06% และ เถ้า 9.35% พบว่าสามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์พวกที่ผลิตกรดแลคติก ได้คือ L.casei 703 แม้ว่ากากน้ำตาลนี้จะมีธาตุแมงกานีส, แมกนีเซียม และเหล็กน้อยกว่าระดับที่จุลทรีย์ชนิดนี้จะเจริญเติบโตและผลิตกรดแลคติกได้ก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่ากากน้ำตาลที่ปรับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นร้อยละ 5 เป็นซับสเตรทที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลคติกในระดับห้องทดลอง ซึ่งคาดว่าจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการผลิตกรดแลคติกในระดับสูงต่อไปด้วย

* *ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

ปราณี อ่านเปรื่อง. "การใช้กากน้ำตาลสำหรับหมักกรดแลคติก". วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 11, 1 (2529) 85-88.

บทนำ

ในปัจจุบันนี้ในประเทศญี่ปุ่น[1] ใช้กากน้ำตาลเพื่อผลิตอาหารสัตว์ กรดอะมิโน และกรดนิวคลีอิก, อัลกอฮอล์ และสารชีวภาพอื่น ๆ เป็นปีละไม่ต่ำกว่า 8 แสนตัน อย่างไรก็ตามการหมักกรดแลคติกจากกากน้ำตาลก็คาดว่าจะเป็นวิธีหนึ่งของการใช้ประโยชน์จากกากน้ำตาล ทั้งนี้เพราะกรดแลคติกหรือเกลือกรดแลคติกมีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมหลาย ๆ ด้าน เช่น ยา อุตสาหกรรมเคมี[2] ตามที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 จะเห็นว่าประเทศไทยมีแนวโน้มที่จะผลิตกากน้ำตาลเพื่อส่งออกในปริมาณที่สูงกว่าประเทศอื่น ๆ ในเอเชีย

ตารางที่ 1 ปริมาณกากน้ำตาลส่งออก (1977-1980)[1] (หน่วยเมตริกตัน)

	1977	1978	1979	1980
เอเชีย :				
อินโดนีเซีย	67,135	203,780	239,895	224,010
ฟิลิปปินส์	548,442	387,908	462,787	467,664
ไทย	953,176	742,030	743,253	280,000
ตุรกี	88,880	119,097	63,393	90,628
รวม	1,657,553	1,452,815	1,509,328	1,062,302
ยอดรวมทั่วโลก	6,249,317	5,373,263	5,118,776	4,491,094

กระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคส[3], ไซโลส[4] เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของเอ็นไซม์หลายตัว ที่อยู่ในจุลินทรีย์ที่กำลังเจริญเติบโต เช่น *L. casei* 703, *L. vaccinostercus*[5] ซึ่งเตรียมได้ทั้งในรูปอิสระและตรึงไว้กับตัวพยุง[5,6]

สำหรับการทดลองนี้ได้ทดลองใช้กากน้ำตาลซึ่งเป็นวัตถุดิบราคาประหยัดแทนน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลไซโลสมาหมักกรดแลคติกโดยตรง แล้วศึกษาความสามารถในการผลิตกรดแลคติกของจุลินทรีย์อิสระ *L.casei* 703

วัสดุและวิธีการทดลอง

วัสดุ

สารเคมีและสารชีวเคมีที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ ซึ่งสั่งซื้อจากบริษัทการค้า น้ำที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำที่ปราศจากอิออน (deionized wat)

แลคติกแอซิดบักเตรี (lactic acid bacteria) ที่เลือกใช้คือ *Lactobacillus casei* 703 ซึ่งเพาะเลี้ยงได้ดีในอาหารเหลว GYP (2% กลูโคส 1% ยีสต์เอกซ์แทรกซ์ และ 1% เปปโตนที่ pH 6.8) บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส G = glucose, Y = yeast extract, P = peptone

วิธีการทดลอง

การวัดปริมาณการผลิตกรดแลคติก เหมือนที่อธิบายไว้ใน[6]

การวิเคราะห์น้ำตาลในกากน้ำตาล

ใช้วิธี[7] สำหรับวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ใช้วิธีของ Lane-Eynon (31.035-31.037) หรือ Munson-Walker (31.039-31.040)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. วิเคราะห์องค์ประกอบของสารอาหารในกากน้ำตาล

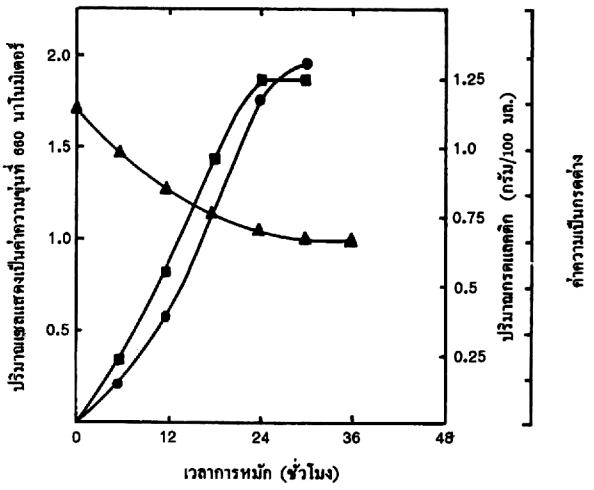
เพื่อให้กากหมักกรดแลคติกได้ผลผลิตสูง สิ่งแรกที่ต้องวิเคราะห์คือ องค์ประกอบทางอาหารของกากน้ำตาล ซึ่งให้ผลตามที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 จากตัวเลขที่วิเคราะห์ได้มานี้จะเห็นว่าใกล้เคียงกับองค์ประกอบทางอาหารของกากน้ำตาลชนิดอื่น (Burrows, 1970)[8] แต่ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสต่ำกว่า และธาตุสังกะสีไม่มี อย่างไรก็ตามจากปริมาณของธาตุต่าง ๆ ที่ปรากฏในตารางที่ 2 นี้ คาดว่าน่าจะพอเพียงสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดลองในขั้นต่อมา

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาลที่วิเคราะห์ได้

องค์ประกอบ	% น้ำหนัก/น้ำหนักกากน้ำตาล
น้ำตาลทั้งหมด	53.38 ±1.40
น้ำตาลรีดิวซ์	21.20 ±0.264
ไนโตรเจน	0.62 ±0.016
ฟอสฟอรัส	0.07 ±0.01
แคลเซียม	0.87 ±0.009
โปตัสเซียม	2.49 ±0.110
โซเดียม	0.06 ±0.002
สังกะสี	ตรวจไม่พบ
เถ้า	9.35 ±0.055
ซัลเฟต	0.38 ±0.012
pH	5.3

2. ศึกษาการเจริญเติบโตของ *L.casei* 703 ที่ใช้เลี้ยงในกากน้ำตาล

เลี้ยง *L.casei* 703 ในอาหารเหลวซึ่งประกอบด้วยสัดส่วนของอาหารดังแสดงในตารางที่ 3 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสภายใต้ภาวะไม่มีอากาศ (anaerobic condition) แล้วบันทึกผลการผลิตกรดแลคติกเป็นกรัมต่ออาหารเหลว 100 ซีซี และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นค่าความหนาแน่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนมิเตอร์ ทุก ๆ 12 ชั่วโมง ผลการทดลองดังปรากฏในรูปที่ 1 ซึ่งปรากฏว่าในระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรดด่างลดลงจาก 6.8 เป็น 4.10 และการเจริญเติบโตหยุด นอกจากนี้ปริมาณกรดแลคติกที่วัดได้เป็น 1.25 กรัม/100 ซีซี



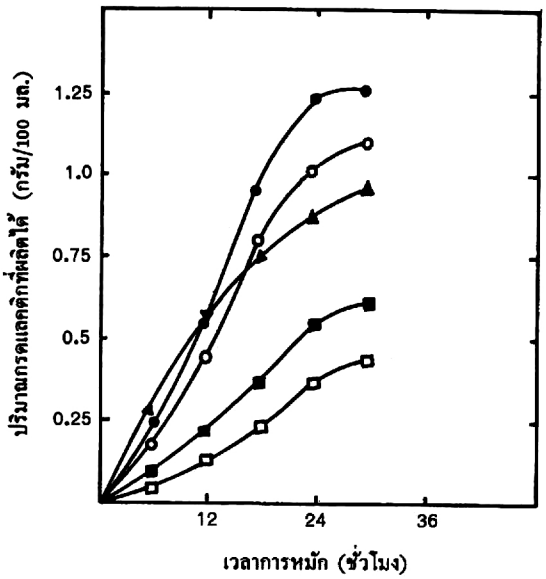
รูปที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเซล (●), ปริมาณกรดแลคติก (■) และค่าความเป็นกรดด่าง (▲) ในระหว่างการเจริญเติบโตของ *L.casei* ในอาหารเหลว กากน้ำตาลซึ่งเตรียมตามตารางที่ 3

3. ศึกษาผลของการทำให้กากน้ำตาลเจือจางต่อประสิทธิภาพการหมักกรดแลคติก

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาล ได้ทดลองนำกากน้ำตาลมาเตรียมเป็นอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ระดับต่าง ๆ กันดังนี้ คือ 1,5,7,10 และ 15% ส่วนปริมาณของธาตุต่าง ๆ ตามที่กำหนดไว้ในตารางที่ 3 ผลการทดลองตามที่ปรากฏในรูปที่ 2 จะเห็นว่าที่ระยะเวลาหนึ่งเมื่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงต่ำกว่าร้อยละ 5 ปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นแบบแปรผันตรง ดังนั้นปริมาณการผลิตกรดแลคติกจะสูงสุดเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเหลวไม่สูงกว่า 5 กรัม/100 ซีซี หากสูงไปกว่านี้น้ำตาลจะไปยังยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลคติกด้วย

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของอาหารเหลวที่ใช้สำหรับหมักกรดแลคติกโดย *L.casei 703*

องค์ประกอบ		ปริมาณ
กากน้ำตาลมี	5%	น้ำตาลรีดิวซ์
สารละลายเกลือแร่ :		
$MgSO_4.7H_2O$	200	มิลลิกรัม
$MnSO_4.4H_2O$	10	"
$FeSO_4.7H_2O$	10	"
NaCl	10	"
น้ำปริมาตรทั้งหมด	1	ลิตร
pH	6.8	



รูปที่ 2 แสดงผลการทำให้กากน้ำตาลเจือจางต่อประสิทธิภาพการหมักกรดแลคติก

(▲) ปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นร้อยละ 1

(●) ปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นร้อยละ 5

(○) ปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นร้อยละ 7

(■) ปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นร้อยละ 10

(□) ปริมาณการผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เป็นร้อยละ 15

สรุป

ผลการทดลองดังกล่าวมาแล้ว แสดงให้เห็นว่ากากน้ำตาลที่นำมาทำให้เจือจางในระดับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ประมาณร้อยละ 5 สามารถใช้เป็นอาหารเหลวในการผลิตกรดแลคติกได้ไม่ต่ำกว่า 1.25 กรัมต่ออาหารเหลว 100 ซีซี จึงนับว่าการใช้กากน้ำตาลเพื่อผลิตกรดแลคติกนี้ จะเป็นวิธีหนึ่งของการพัฒนาการใช้วัตถุดิบราคาประหยัดในอุตสาหกรรมในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. เอกสารภายใน (1983) บริษัท อายิโนโมโต๊ะ คาวาซากิ ประเทศญี่ปุ่น
2. Smith, L.T., Claborn, H.U. (1973) *Ind. Eng. Chem. News Ed.17:* 370

3. Aiba, S., Humphrey, A.E., Millis, N.F.(1973) *Biochem. Eng.* 2nd ed. Univ. Tokyo Press.: 65

4. Tipayang (Anprung), P., Kozaki, M. (1982) *J.Ferment. Technol. 60* : 595

5. Tipayang (Anprung), P., Okada, S., Kozaki, M. (1983) *Ann. Meeting Agric. Biol. Chem.,* Sendai, Japan : 485

6. ปราณี ทิพยางค์ (อ่านเปรื่อง) และ Kozaki, M. : เคมีวิศวกรรม, เทคโนโลยีทางอาหารและเชื้อเพลิง ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม 2526 หน้า 28-39

7. Horwitz, W., Chichilo, P., Reynolds, H. (eds) (1970) *Official Methods of Analysis,* 11 th ed., AOAC. Arlington, U.S.A., Secs. 31.020-31.031, 31-070-31-097, 31.035-31.037, 31.039-31.041 : 517-531, 538-541, 532-533, 533-534.

8. Burrows, S. : In Rose, A.H., Harrison, J.S. (eds) (1970) *The Yeasts,* Vol.3, Academic Press, London : 349