

การผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมัก  
แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* MSUL 702  
ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ

สิริรัตน์ ตอสูงเนิน

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ธันวาคม 2557  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

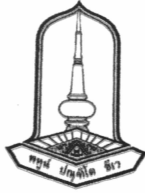


การผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมัก  
แบบกะช้ำโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* MSUL 702  
ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ

สิริรัตน์ ตอสูงเนิน

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ธันวาคม 2557  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม



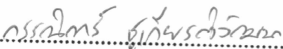


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวสิริรัตน์ ตอสูงเนิน แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
.....  
(ผศ.ดร.สุนันทา เลาวีณย์ศิริ)


ประธานกรรมการ  
(อาจารย์บัณฑิตศึกษาภายนอกคณะ)

  
.....  
(ผศ.ดร.กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา)


กรรมการ  
(ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์)

  
.....  
(อาจารย์ ดร.สมชาย ดารารัตน์)

กรรมการ  
(กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์)


  
.....  
(อาจารย์ ดร.เศศคุณธ์ มณีวรรณ)


กรรมการ  
(อาจารย์บัณฑิตศึกษาประจำคณะ)

  
.....  
(ผศ.ดร.กาญญาณี ครองธรรมชาติ)

กรรมการ  
(ผู้ทรงคุณวุฒิ)

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

  
.....  
(รศ.ดร.อนุชิตา มุ่งงาม)  
คณบดีคณะเทคโนโลยี

  
.....  
(ศ.ดร.ประดิษฐ์ เทอดทูล)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 30 เดือน 6 พ.ศ. 2557



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณา และความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ คำปรึกษาตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆตลอดมา ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ดร.สมชาย ดารารัตน์ กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้ คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนประสบผลสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนันทา เลาว์ณย์ศิริ ประธานกรรมการสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา ครองธรรมชาติ ผู้ทรงคุณวุฒิ และ ดร.เกศสุคนธ์ มณีวรรณ อาจารย์ บัณฑิตศึกษาประจำคณะที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมในการแก้ไขเนื้อหาวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จน สมบูรณ์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ภายใต้โครงการสร้างภาคีในการผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโท-เอก ระหว่างสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) กับสถาบันการศึกษา และทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัย มหาสารคามในโครงการวิจัยเพื่อพัฒนานิสิตระดับบัณฑิตศึกษา (ปริญญาโท) งบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 ผู้วิจัยจึงขอขอบคุณแหล่งทุนวิจัยทั้ง 2 แหล่งเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่านที่ให้คำชี้แนะใน การใช้เครื่องมือพร้อมทั้งอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมรุ่นทุกท่านที่ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจในการทำวิจัย

ประโยชน์ และคุณค่าจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณบิดา-มารดา ครู-อาจารย์ ที่มีส่วนให้ชีวิต และปัญญาแก่ผู้วิจัยจนประสบผลสำเร็จ

สิริรัตน์ ตอสูงเนิน



ชื่อเรื่อง	การผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะขี้โดยใช้เชื้อ <i>Lactobacillus plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ
ผู้วิจัย	นางสาวสิริรัตน์ ตอสูงเนิน
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
กรรมการควบคุม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา อาจารย์ ดร.สมชาย ดารารัตน์
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีที่พิมพ์ 2557

### บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะขี้โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อโดยมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (1.0 - 1.5 mg/l และน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l) pH เริ่มต้น (5.0 5.5 และ 6.5) และความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้น (0.2 0.4 และ 0.8% (w/v)) น้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่กระบวนการหมักมีความเข้มข้น COD 8,000 mg/l ดำเนินการหมักแบบกะขี้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ โดยเมื่อปริมาณแป้งคงเหลือในระบบการหมักแต่ละกะหมดจึงทำการระบายน้ำหมักออก 2 ใน 3 และเติมน้ำเสียสังเคราะห์แป้งมันสำปะหลังใหม่ด้วยปริมาตรที่เท่ากันลงไป ดำเนินการหมักแบบกะขี้จนกระทั่งปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียลดลงจากการหมักกะแรกมากกว่า 40% เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก 24 ชั่วโมงนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแป้งคงเหลือ ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ค่าชีวมวลเซลล์ และค่า COD (Chemical oxygen demand)

ผลการศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์พบว่า ที่สภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l ระบบให้ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ชีวมวลเซลล์ และประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดเท่ากับ 31.44 g/l 9.27 log CFU/ml 3,566.67 mg/l และร้อยละ 89.09 ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้จึงเลือกออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l เป็นออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสม

ผลการศึกษาค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกพบว่า ระบบที่ป้อนด้วยน้ำเสียที่มีค่า pH เริ่มต้น 6.5 และควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l ให้ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ชีวมวลเซลล์ และประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดเท่ากับ 31.44 g/l 9.27 log CFU/ml 3,566.67 mg/l และร้อยละ 89.09 ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้จึงเลือก pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 เป็น pH เริ่มต้นที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อไป



ผลการศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกพบว่า ระบบที่ป้อนด้วยน้ำเสียที่มีค่า pH เริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) และควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l ให้ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแลคติกแอซิด แบคทีเรีย ชีวมวลเซลล์ และประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดเท่ากับ 34.13 g/l 10.83 log CFU/ml 3,933.33 mg/l และร้อยละ 98.21 ตามลำดับ ดังนั้นสภาวะเหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลคติกจากการหมักแบบกะขี้ด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 ของการศึกษานี้คือ การใช้น้ำเสียแป่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีค่า pH เริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) และการควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำระหว่างการหมักที่ค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l

โดยสรุปผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 เป็นเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงในการผลิตกรดแลคติกจากการหมักน้ำเสียแป่งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบขั้นตอนเดียวด้วยการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ ทั้งนี้ควรการศึกษาเพิ่มเติมด้านผลของแหล่งไนโตรเจนอื่นต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียจากการหมักแบบต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตกรดแลคติก

**คำสำคัญ:** กรดแลคติก; น้ำเสียแป่งมันสำปะหลัง; กระบวนการหมักแบบกะขี้



**TITLE** Lactic acid production from repeated-batch fermentation of synthetic cassava starch wastewater by *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 under non-sterile condition

**AUTHOR** Miss Sirirat Tosungnoen

**DEGREE** Master Degree of Science **MAJOR** Biotechnology

**ADVISORS** Asst. Prof. Kannika Chookietwattana, Ph.D.  
Somchai Dararat, Ph.D.

**UNIVERSITY** Maharakham University **DATE** 2014

### ABSTRACT

This research studies on lactic acid production from synthetic cassava starch wastewater in repeated-batch fermentation using *Lactobacillus plantarum* MSUL 702. The objectives of the study to determine the optimum conditions for lactic acid production namely : dissolved oxygen (DO  $\leq$  0.5 mg/l and DO 1.0 – 1.5 mg/l), initial pH (5.0 5.0 and 6.5) and initial urea concentrations (0.2 0.4 and 0.8% (w/v)). The synthetic cassava starch wastewater having COD (Chemical oxygen demand) concentration at 8,000 mg/l was used for fermentation processes. The fermentation processes were performed at room temperature and under a non-aseptic condition. About 2 of 3 fermentation medium was withdrawn and the same amount of fresh medium was filled when the residual starch concentration in each batch was exhausted. The batch fermentation was repeated until the number of lactic acid bacteria was decreased 40% from the first batch. The fermentation medium was collect every 24 hours to analyze for lactic acid concentration, residual starch concentration, number of lactic acid bacteria, biomass concentration and COD removal efficiency.

The results of the study on an optimum dissolved oxygen concentration for lactic acid production from synthetic cassava starch wastewater found that dissolved oxygen at  $\leq$  0.5 mg/l provided the highest lactic acid concentration, lactic acid bacterial number, biomass concentration and COD removal efficiency at 31.44 g/l, 9.27 log CFU/ml, 3,566.67 mg/l and 89.09%, respectively. From the results obtained, a dissolved oxygen concentration at  $\leq$  0.5 mg/l was selected as an optimum dissolved oxygen concentration.



The results of the study on an optimum initial pH for lactic acid production from synthetic cassava starch wastewater found that an initial pH at 6.5 provided the highest lactic acid concentrations, lactic acid bacteria number, biomass concentrations and COD removal efficiency at 31.14 g/l, 9.27 log CFU/ml, 3,566.67 mg/l and 89.09%, respectively. From the results obtained, an initial pH at 6.5 was selected as an optimum initial pH for using in the study of an optimum initial urea concentration in the next experiment.

The results of the study on an optimum initial urea concentration for lactic acid production found that the fermentation system fed with wastewater having an initial pH at 6.5, an initial urea concentration at 0.2% (w/v) and controlled DO concentration at  $\leq 0.5$  mg/l provided the highest lactic acid concentration, lactic acid bacteria number, biomass concentrations and COD removal efficiency at 34.13 g/l, 10.83 log CFU/ml, 3,933.33 mg/l and 98.21%, respectively. Therefore, the optimum conditions for lactic acid production from synthetic cassava starch wastewater in repeated batch fermentation using *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 were initial pH at 6.5, initial urea concentration 0.2% (w/v), DO concentration at  $\leq 0.5$  mg/l

In conclusion, this study revealed a high potential of *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 for production of lactic acid from direct fermentation of synthetic cassava starch wastewater in repeated batch under a non-aseptic condition. In addition, the effect of the other nitrogen sources on bacterial growth and production of lactic acid from continuous fermentation should be further studied in order to increase lactic acid productivity.

**Key word:** Lactic acid; Cassava starch wastewater; Repeated batch fermentation





## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพประกอบ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.2 ความมุ่งหมายของการวิจัย	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย	2
1.4 ความสำคัญของการวิจัย	3
1.5 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ	4
บทที่ 2 ปรีทัศน์เอกสารข้อมูล	5
2.1 กรดแลคติก (Lactic acid)	5
2.2 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria)	13
2.3 แป้งมันสำปะหลัง	20
2.4 น้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	22
2.5 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ (Sequencing batch reactor)	28
2.6 กระบวนการหมัก	33
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	35
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	38
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	38
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	38
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	39
3.4 วิธีวิเคราะห์	42



บทที่ 4 ผลการวิจัย และการอภิปรายผล	44
4.1 ผลการศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสม	45
4.2 ผลการศึกษา pH เริ่มต้นที่เหมาะสม	55
4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสม	65
บทที่ 5 บทสรุป	75
5.1 สรุปผล	75
5.2 ข้อเสนอแนะ	76
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	89
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์	90
ภาคผนวก ข การศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยระบบเอสปีอาร์	99
ภาคผนวก ค มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม	103
ภาคผนวก ง ข้อมูลผลการทดลอง	107
ภาคผนวก จ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ	139
ประวัติย่อผู้วิจัย	143



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 2.1 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก	5
ตาราง 2.2 ตัวอย่างแลคติกแอซิดแบคทีเรียประเภท Homofermentative และ Hetero Fermentative	15
ตาราง 2.3 ตัวอย่างแลคติกแอซิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถย่อยแป้ง	19
ตาราง 2.4 ค่าเฉลี่ยลักษณะของน้ำเสียที่ออกจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง	25
ตาราง 2.5 ลักษณะน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านระบบบำบัดไร้อากาศแบบ Upflow anaerobic filter reactor (UAF)	28
ตาราง 3.1 ตาราง Mcfarland scale	39
ตาราง 3.2 ส่วนประกอบของน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์	40
ตาราง ภาคผนวก ข-1 ความเข้มข้น COD และประสิทธิภาพการกำจัด COD ของระบบ เอสปีอาร์ในระหว่างการเริ่มต้นเดินระบบบำบัดน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง สังเคราะห์เพื่อผลิตกรดแลคติกด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	101
ตาราง ภาคผนวก ข-2 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ของระบบเอสปีอาร์ในระหว่าง เดินระบบบำบัดน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์เพื่อผลิตกรดแลคติก ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	102
ตาราง ภาคผนวก ค-1 มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม	104
ตาราง ภาคผนวก ง-1.1 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณกรดแลคติกใน กระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสีย แป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	108
ตาราง ภาคผนวก ง-1.2 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อผลได้กรดแลคติกต่อวัตต์ดิบ แป้งตั้งต้นของแต่ละกะช้ำในกระบวนการหมักแบบกะช้ำ เพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	109



ตาราง ภาคผนวก ง-1.3	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ออัตราการผลิตกรดแลคติก ของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติก จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	110
ตาราง ภาคผนวก ง-1.4	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณแบคทีเรียในกระบวนการหมัก แบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง สังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	110
ตาราง ภาคผนวก ง-1.5	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิด แบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติก จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	112
ตาราง ภาคผนวก ง-1.6	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณชีวมวลเซลล์ในกระบวนการ หมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง สังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	113
ตาราง ภาคผนวก ง-1.7	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก และประสิทธิภาพการกำจัด COD ในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำ เพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L.</i> <i>plantarum</i> MSUL 702	115
ตาราง ภาคผนวก ง-2.1	ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณกรดแลคติกในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำ เพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L.</i> <i>plantarum</i> MSUL 702	117
ตาราง ภาคผนวก ง-2.2	ผลของ pH เริ่มต้นต่อผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้นของ แต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติก จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	119



ตาราง ภาคผนวก ง-2.3	ผลของ pH เริ่มต้นต่ออัตราการผลิตกรดแลคติกของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	119
ตาราง ภาคผนวก ง-2.4	ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณแป้งในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	120
ตาราง ภาคผนวก ง-2.5	ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	122
ตาราง ภาคผนวก ง-2.6	ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณชีวมวลเซลล์ในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plan-tarum</i> MSUL 702	124
ตาราง ภาคผนวก ง-2.7	ผลของ pH เริ่มต้นต่อความเข้มข้น COD ของน้ำหมักและประสิทธิภาพการกำจัด COD ในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	126
ตาราง ภาคผนวก ง-3.1	ผลของความเข้มข้นยูเรีย (U) เริ่มต้นต่อปริมาณกรดแลคติกในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	128
ตาราง ภาคผนวก ง-3.2	ผลของความเข้มข้นยูเรีย (U) เริ่มต้นต่อผลได้กรดแลคติกต่อวัตุถุติบแป้งตั้งต้นของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	130



ตาราง ภาคผนวก ง-3.3	ผลของความเข้มข้นยูเรีย (U) เริ่มต้นต่ออัตราการผลิตกรดแลคติกของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	130
ตาราง ภาคผนวก ง-3.4	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณแป้งในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	131
ตาราง ภาคผนวก ง-3.5	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	133
ตาราง ภาคผนวก ง-3.6	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณชีวมวลเซลล์ในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	135
ตาราง ภาคผนวก ง-3.7	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก และประสิทธิภาพการกำจัด COD ในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	137
ตาราง ภาคผนวก จ-1.1	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO ของการหมักที่แตกต่างกัน	140
ตาราง ภาคผนวก จ-1.2	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO ของการหมักที่แตกต่างกัน	141



ตาราง ภาคผนวก จ-1.3	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของแต่ละกะช้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO ของการหมักที่แตกต่างกัน	141
ตาราง ภาคผนวก จ-1.4	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO ของการที่แตกต่างกัน	142
ตาราง ภาคผนวก จ-2.1	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของแต่ละกะช้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า pH เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	143
ตาราง ภาคผนวก จ-2.2	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า pH เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	144
ตาราง ภาคผนวก จ-2.3	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของแต่ละกะช้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า Ph เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	145
ตาราง ภาคผนวก จ-2.4	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า pH เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	146



ตาราง ภาคผนวก จ-3.1	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของแต่ละกะฆ่าในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสีย แป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	147
ตาราง ภาคผนวก จ-3.2	ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะฆ่าเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมัน สำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการ ควบคุมค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	148
ตาราง ภาคผนวก จ-3.3	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของแต่ละกะฆ่าในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสีย แป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	149
ตาราง ภาคผนวก จ-3.4	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะฆ่าเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมัน สำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน	150





## สารบัญภาพประกอบ

		หน้า	
ภาพประกอบ	2.1	สูตรโครงสร้างหลักของ D-Lactic acid และ L-Lactic acid	6
ภาพประกอบ	2.2	กระบวนการผลิตกรดแลคติกทางเคมี และชีวภาพ	7
ภาพประกอบ	2.3	กระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคส	8
ภาพประกอบ	2.4	กระบวนการ EMP pathway และ PK pathway	14
ภาพประกอบ	2.5	โครงสร้างอะไมโลส	20
ภาพประกอบ	2.6	โครงสร้างอะไมโลเพกติน	21
ภาพประกอบ	2.7	แหล่งที่มา น้ำเสีย แป้งมันสำปะหลัง	24
ภาพประกอบ	2.8	หลักการทำงานของระบบเอสปีอาร์	30
ภาพประกอบ	2.9	กราฟแสดงการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ	34
ภาพประกอบ	3.1	ลักษณะถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	38
ภาพประกอบ	4.1	ผลของประสิทธิภาพการกำจัด COD และปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ ของระบบซีควนซ์แบชรีแอกเตอร์ ในระหว่างการเริ่มต้น เดินระบบบำบัดน้ำเสีย แป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์เพื่อผลิตกรดแลคติก ด้วยเชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702	44
ภาพประกอบ	4.2	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ต่อปริมาณกรดแลคติก (ก) และปริมาณแป้งคงเหลือ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติก จากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะซ้ำโดยใช้เชื้อ <i>L.</i> <i>plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (✓ คือ ช่วงเวลา ที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)	47
ภาพประกอบ	4.3	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อได้กรดแลคติก (ก) และอัตราการผลิตกรดแลคติก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติก จากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะซ้ำโดยใช้เชื้อ <i>L.</i> <i>plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ	48



ภาพประกอบ	4.4	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ก) และปริมาณชีวมวลเซลล์ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสีย โรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้ำโดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ	52
ภาพประกอบ	4.5	ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD (ก) และความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้ำโดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (✓ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)	54
ภาพประกอบ	4.6	ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณกรดแลคติก (ก) และปริมาณแป้งคงเหลือ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้ำโดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (✓ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)	57
ภาพประกอบ	4.7	ผลของ pH เริ่มต้นต่อได้กรดแลคติก (ก) และอัตราการผลิตกรดแลคติก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้ำโดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ	58
ภาพประกอบ	4.8	ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ก) และปริมาณชีวมวลเซลล์ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้ำโดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ	62



ภาพประกอบ	4.9	ผลของ pH เริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD (ก) และความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (✓ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)	64
ภาพประกอบ	4.10	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณกรดแลคติก (ก) และปริมาณแป้งคงเหลือ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (✓ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)	67
ภาพประกอบ	4.11	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อผลได้กรดแลคติก (ก) และอัตราการผลิตกรดแลคติก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ	68
ภาพประกอบ	4.12	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรีย (ก) และปริมาณชีวมวลเซลล์ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ	71
ภาพประกอบ	4.13	ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD (ก) และความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ <i>L. plantarum</i> MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (✓ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)	72
ภาพประกอบ	ภาคผนวก ก-1	กราฟมาตรฐานกรดแลคติก	96
ภาพประกอบ	ภาคผนวก ก-2	กราฟมาตรฐานแป้ง	98



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 มิถหลัง

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีความสำคัญมากต่ออุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร ยา เครื่องสำอาง เครื่องหนัง สิ่งทอ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่ออุตสาหกรรมพลาสติกชีวภาพ (Li et al., 2010) ทำให้ปริมาณความต้องการกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากผลสำรวจพบว่าทั่วโลกมีความต้องการใช้กรดแลคติกสูงถึง 130,000-150,000 ตัน/ปี (Panda and Ray, 2008) ปัจจุบันกรดแลคติกผลิตจากกระบวนการทางชีวภาพเป็นหลัก โดยอาศัยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติก (Lactic acid microorganism) ในการทำหน้าที่เปลี่ยนวัตถุดิบประเภทน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติก (Wee et al., 2006) ค่าใช้จ่ายสำหรับวัตถุดิบด้านแหล่งคาร์บอนเป็นค่าใช้จ่ายหลักของต้นทุนการผลิตกรดแลคติก การใช้น้ำตาลทราย หรือน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีราคาแพงทำให้ต้นทุนการผลิตกรดแลคติกสูง งานวิจัยในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาด้านการแสวงหาแหล่งคาร์บอนราคาถูก จึงเน้นด้านการนำวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรประเภทแป้งและเส้นใยมาใช้เพื่อลดต้นทุนการผลิต อย่างไรก็ตามการผลิตกรดแลคติกจากวัตถุดิบประเภทแป้ง และเส้นใยนั้นจำเป็นต้องนำวัตถุดิบดังกล่าวมาผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นก่อน เช่น การไฮโดรไลซิส เพื่อเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลที่พร้อมใช้สำหรับจุลินทรีย์ (Tsai and Millard, 1994; Javanainen and Linko, 1995; Akerberg et al., 1998) จากงานวิจัยของ Kwon และคณะ (2000) พบว่าการผลิตกรดแลคติกจากการใช้แป้งถั่วเหลืองที่ผ่านการไฮโดรไลซิสสามารถช่วยลดการใช้น้ำตาลกลูโคสลงได้ครึ่งหนึ่ง อย่างไรก็ตามผลการศึกษาที่ผ่านมาของ Hofvendahl และคณะ (1997), Severson และ Barrett (1995), Richter และ Trager (1994) และ Yumoto และ Ikeda (1995) พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกจากแป้ง (Amyolytic lactic acid microorganisms) นั้นสามารถผลิตกรดแลคติกจากวัตถุดิบแป้งโดยไม่ต้องมีการนำวัตถุดิบไปผ่านการไฮโดรไลซิสก่อน และผลการศึกษาของ Altaf และคณะ (2005) ยังพบว่ากระบวนการหมักกรดแลคติกจากแป้งโดยเชื้อ *Lactobacillus amylophilus* GV6 ซึ่งเป็น amyolytic lactic acid bacteria มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการใช้น้ำตาลกลูโคส

อุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมหลักของประเทศไทย การผลิตแป้งมันสำปะหลังใช้น้ำปริมาณมาก โดยทั่วไปแป้งมันสำปะหลัง 1 ตัน ก่อให้เกิดน้ำเสียประมาณ 10 - 20 m<sup>3</sup> และมีภาวะความสกปรกของสารอินทรีย์ และสารแขวนลอยต่างๆสูงมาก ซึ่งมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรต (โสภิตา บุญอนุเคราะห์ และคณะ, 2541) น้ำเสียอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังจึงมีลักษณะที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งสารอาหารคาร์บอนราคาถูกสำหรับการผลิตกรดแลคติก



เมื่อพิจารณาด้านกระบวนการผลิตกรดแลคติกที่เหมาะสมสำหรับการนำน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์พบว่า การประยุกต์กระบวนการบำบัดน้ำเสียเข้ากับกระบวนการหมัก โดยเป็นการดำเนินกระบวนการหมักภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อสามารถลดค่าใช้จ่ายได้ต่ำกว่าในกระบวนการหมักแบบปลอดเชื้อมาก และเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ของเสียดังแนวคิดในการผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลัง ซึ่งประสบผลสำเร็จเป็นรูปธรรมในปัจจุบัน (Sunarso et al., 2010; Budiyo and Kusworo, 2011) นอกจากนี้ตะกอนเชื้อแลคติกแอสิตแบคทีเรียที่เหลือจากการบำบัดยังมีองค์ประกอบของโปรตีนที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเป็นปุ๋ย หรืออาหารสัตว์ได้อีกด้วย (Hwang et al., 2008) (Seesuriyachan et al., 2009; Pervaiz and Sain, 2011) อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยด้านการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียนี้น้อยมาก และเป็นการศึกษากับน้ำเสียโรงงานนม (Seesuriyachan et al., 2009) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยกระบวนการหมักแบบกะซ้าภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 ซึ่งเป็นแลคติกแอสิตแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถผลิตกรดแลคติกจากแปงมันสำปะหลัง เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการลดต้นทุนการผลิตกรดแลคติกด้วยหลักการเทคโนโลยีสะอาดโดยการนำของเสียมาใช้ประโยชน์ และสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับของเสีย

## 1.2 ความมุ่งหมายของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ค่า pH เริ่มต้น และความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกจากการหมักน้ำเสียแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะซ้าภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของการผลิตกรดแลคติกจากการหมักน้ำเสียแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

1.2.3 เพื่อศึกษาปริมาณแลคติกแอสิตแบคทีเรียในตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากการจากการหมักน้ำเสียแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะซ้าภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ

## 1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 แลคติกแอสิตแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลัง และมีกิจกรรมในการผลิตกรดแลคติกและบำบัดน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังได้



1.3.2 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ค่า pH เริ่มต้น และความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นมีผลต่อการผลิตกรดแลคติกและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ตลอดจนมีผลต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียในตะกอนจุลินทรีย์

#### 1.4 ความสำคัญของการวิจัย

1.4.1 ทราบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

1.4.2 ทราบปริมาณออกซิเจนละลายน้ำค่า pH เริ่มต้น และความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

1.4.3 ทราบปริมาณแลคติกแอสิดแบคทีเรียในตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากการบำบัดน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

#### 1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 สิ่งที่น่าสนใจในการศึกษา ได้แก่

1.5.1.1 น้ำเสียที่ใช้ในการศึกษา คือ น้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์

1.5.1.2 เชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาได้รับความอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.5.1.3 กระบวนการหมักที่ใช้ในการศึกษา คือ กระบวนการหมักแบบกะขี้ในระดับห้องปฏิบัติการ

1.5.2 ตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย

1.5.2.1 ตัวแปรต้น ได้แก่

1) ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำของน้ำเสียในระยะทำปฏิกิริยา

2) pH เริ่มต้นของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัด

3) ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัด

1.5.3 ตัวแปรตาม ได้แก่

1.5.3.1 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย

1.5.3.2 ปริมาณกรดแลคติก

1.5.3.3 ปริมาณแลคติกแอสิดแบคทีเรีย



#### 1.5.4 ตัวแปรควบคุม ได้แก่ ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ

### 1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 กรดแลคติก (Lactic acid) หมายถึง กรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_3H_6O_3$  ได้จากแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ระหว่างการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่มีวัตถุดิบพวกแป้งหรือน้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร (Kious, 2000)

1.6.2 แลคติกแอสิดแบคทีเรีย หมายถึง แบคทีเรียประเภทแกรมบวก มีรูปร่างกลม หรือ ท่อน (ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ เจริญได้ดีในสภาวะที่ขาดอากาศ แบ่งได้เป็น 2 ประเภท ตามความสามารถในการ metabolize glucose คือ homofermentative และ heterofermentative (Sneath et al., 1986)

1.6.3 แลคติกแอสิดแบคทีเรียกลุ่ม Homofermentative หมายถึง แลคติกแอสิดแบคทีเรียที่ metabolize glucose ได้ผลผลิตเป็นกรดแลคติกเพียงชนิดเดียว (Kandler, 1983)

1.6.4 แลคติกแอสิดแบคทีเรียกลุ่ม Heterofermentative หมายถึง แลคติกแอสิดแบคทีเรียที่ metabolize glucose ได้ผลผลิตเป็นทั้งกรดแลคติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น (Kandler, 1983)

1.6.5 ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) หมายถึง หมายถึงปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำภายใต้สภาวะที่เป็นกรดร้อนจัดวิธีวิเคราะห์เป็นวิธีทางเคมี (มันสิน ตัณฑุลเวศม์, 2542)

1.6.6 บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) หมายถึง ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำภายในเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ  $20^{\circ}C$  ในน้ำเสียที่มีค่าบีโอดีสูงหมายถึงน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์เข้มข้นมาก วิธีวิเคราะห์เป็นวิธีเลียนแบบธรรมชาติ (มันสิน ตัณฑุลเวศม์, 2542)

1.6.7 กระบวนการหมักแบบกะซ้ำ (Repeated-fed batch fermentation) หมายถึง กระบวนการหมักที่เมื่อสิ้นสุดลงในแต่ละกะจะทำการถ่ายน้ำหมักออกส่วนหนึ่ง และเติมน้ำหมักอีกส่วนไว้ในถังจากนั้นเติมสารอาหารใหม่ลงไปให้ได้ปริมาตรเท่าเดิมกับตอนเริ่มต้นกระบวนการ (Kim et al., 2006)



## บทที่ 2

### ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

#### 2.1 กรดแลคติก (Lactic acid)

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญมากทางเชิงพาณิชย์ เนื่องจากถูกนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ถนอมอาหาร เครื่องสำอาง รวมทั้งผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพชนิดต่างๆ (Kious, 2000) โดยเฉพาะการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลาสติกชีวภาพ กรดแลคติกสามารถผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี และกระบวนการทางชีวภาพ นั่นคือการผลิตผ่านกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนจากวัตถุดิบพวกแป้งหรือน้ำตาล โดยใช้เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โครงสร้างโดยทั่วไปของกรดแลคติกประกอบด้วยสารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด 3 อะตอม ทำหน้าที่เป็นคาร์บอนตัวกลาง และเป็นส่วนประกอบอยู่ในหมู่เมทิลและคาร์บอกซิล (Narayanan et al., 2004) กรดแลคติกสามารถละลายน้ำได้ดีไม่ว่าในปริมาณน้ำมากหรือน้อย และระเหยได้ง่ายเนื่องจากมีส่วนประกอบของแอลกอฮอล์ เมื่อทำให้มีความบริสุทธิ์สูงสามารถเกิดเป็นผลึกแบบไม่มีสีได้ และยังมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ดีอีกด้วย โดยคุณสมบัติด้านอื่นๆ ของกรดแลคติกดังแสดงในตาราง 2.1

ตาราง 2.1 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก (Narayanan et al., 2004)

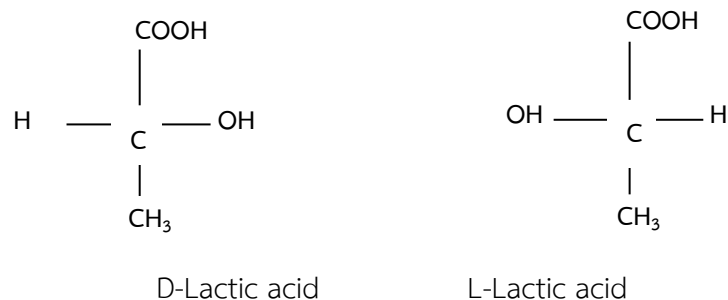
Properties	Values
Molecular weight	90.08
Melting point	16.8°C
Boiling point	82°C at 0.5 mm Hg 122°C at 14 mm Hg
Dissociation constant, $K_a$ at 25°C	$1.37 \times 10^{-4}$
Heat of combustion, $\Delta H_c$	1361 KJ/mole
Specific heat, $C_p$ at 20°C	190 J/mole/°C





### 2.1.1 ชนิดของกรดแลคติก

กรดแลคติกมีสูตรทางเคมีคือ  $C_3H_6O_3$  กรดแลคติกแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ D(-) Lactic acid, L(+) Lactic acid และ DL Lactic acid ขึ้นอยู่กับสายพันธ์จูลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการผลิต (Rojan et al., 2007) โดยกรดแลคติกดังกล่าวจะมีความเป็นไอโซเมอร์ต่อกัน นั่นคือมีสูตรทางเคมีเหมือนกันแต่แตกต่างกันทางด้านรูปแบบการจับตัวของโครงสร้าง (ภาพประกอบ 2.1) ซึ่งจากการจับตัวของโครงสร้างที่ต่างกันนี้ส่งผลให้คุณสมบัติของกรดแลคติกแต่ละรูปแบบแตกต่างกันตามไปด้วย โดยทั่วไปกรดแลคติกที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเป็นกรดแลคติกรูปแบบ L(+) เนื่องจากในร่างกายของมนุษย์มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยกรดแลคติกได้เฉพาะในรูปแบบ L(+) (Vijayakumar et al., 2008) แต่ไม่สามารถย่อยรูปแบบ D(-) และ DL ได้ ซึ่งการบริโภคกรดแลคติกที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ในปริมาณมาก จะส่งผลให้เลือดมีการสะสมกรดเพิ่มขึ้น และเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้



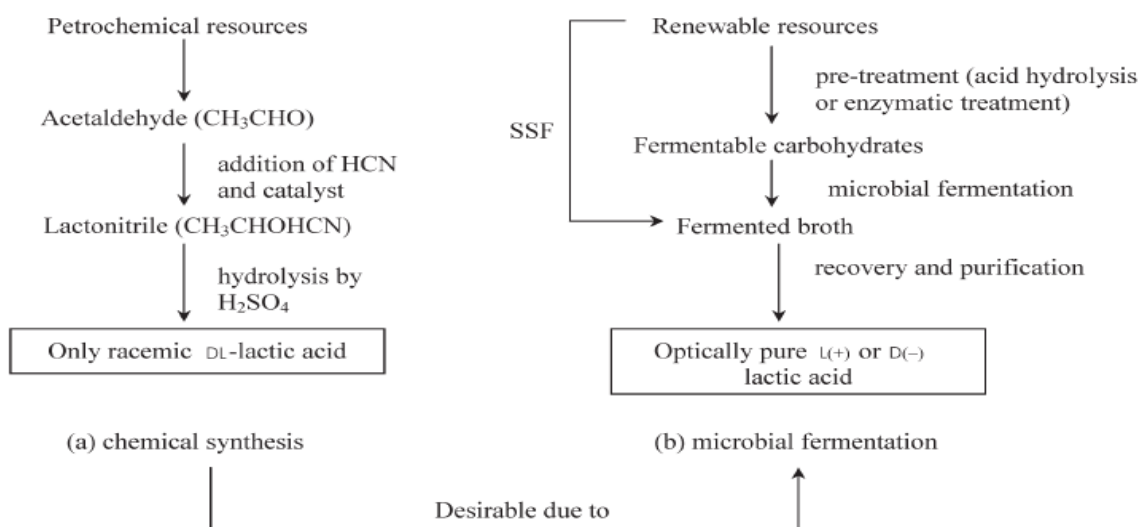
ที่มา : Vijayakumar และคณะ (2008)

ภาพประกอบ 2.1 สูตรโครงสร้างหลักของ D-Lactic acid และ L-Lactic acid

### 2.1.2 กระบวนการผลิตกรดแลคติก (Lactic acid production)

กรดแลคติกสามารถผลิตได้จากกระบวนการทางเคมี และกระบวนการทางชีวภาพ (ภาพประกอบ 2.2) โดยในอดีตกรดแลคติกส่วนมากผลิตจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี แต่หลังจากมีการคิดค้นนำเอาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกมาใช้ประโยชน์ กระบวนการผลิตกรดแลคติกทางชีวภาพจึงเป็นที่นิยมเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีต้นทุนการผลิตต่ำและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อย ปัจจุบันพบว่ากรดแลคติก 90% ผลิตได้จากกระบวนการหมักทางชีวภาพ (Naveena, 2004)





ภาพประกอบ 2.2 กระบวนการผลิตกรดแลคติกทางเคมี และชีวภาพ

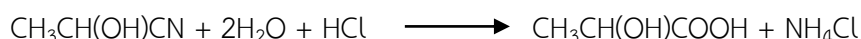
### 1) กระบวนการผลิตทางเคมี (ชลลดา ศิริเสตสุวรรณ, 2551)

กระบวนการผลิตทางเคมีเป็นการผลิตกรดแลคติกโดยการสังเคราะห์สารขึ้นผ่านปฏิกิริยาเคมี ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์กรดแลคติกที่อยู่ในรูปแบบผสม ซึ่งขั้นตอนการสังเคราะห์กรดแลคติกทางเคมีนี้จะมีความแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับกระบวนการของบริษัทผู้ผลิตแต่วิธีการสังเคราะห์หลักประกอบด้วยสองขั้นตอน ดังต่อไปนี้ (Vickroy, 1985)

ขั้นที่ 1 นำ HCN มาทำปฏิกิริยากับอะซีทิลดีไฮด์ภายใต้สภาวะที่มีความร้อนสูงได้เป็น lactonitrile ดังสมการ



ขั้นที่ 2 นำ lactonitrile มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับกรดไฮโดรคลอริกได้เป็นกรดแลคติก และเกลือแอมโมเนียม ดังสมการ

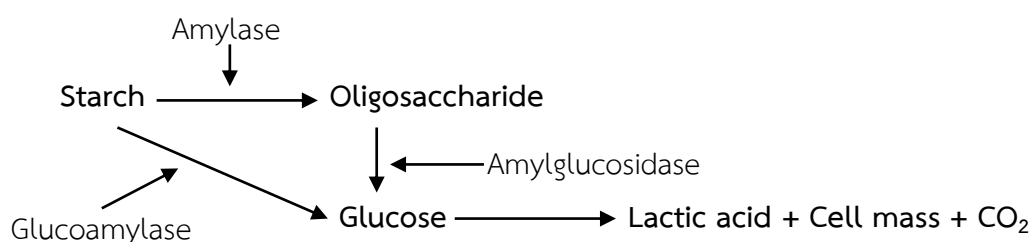


### 2) กระบวนการผลิตทางชีวภาพ

กระบวนการผลิตกรดแลคติกทางชีวภาพอาศัยกระบวนการหมักที่ใช้แหล่งสารอาหารชีวภาพ เช่น น้ำตาล หรือ แป้งที่มาจากวัตถุดิบธรรมชาติราคาถูกเป็นวัตถุดิบตั้งต้น โดยใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกเป็นตัวช่วย อย่างไรก็ตามปัจจัยหลักของการเลือกวัตถุดิบตั้งต้นมา



ใช้ในกระบวนการหมักต้องคำนึงถึงสารอาหารในวัตถุดิบนั้นด้วย โดยเฉพาะสารอาหารที่เป็นแหล่งของคาร์บอน และไนโตรเจน กระบวนการผลิตกรดแลคติกทางชีวภาพจากวัตถุดิบแป้ง โดยใช้เชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียที่ไม่มีความสามารถในการย่อยแป้งนั้น จำเป็นต้องนำวัตถุดิบแป้งไปผ่านกระบวนการปรับสภาพที่อุณหภูมิสูงก่อน ตามด้วยการใช้เอนไซม์เข้าย่อยเพื่อเปลี่ยนแปลงให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นจึงนำน้ำตาลกลูโคสที่ได้ไปใช้ในกระบวนการหมักกรดแลคติก (Lynd et al., 1991, Anuradha et al., 1999) (ภาพประกอบ 2.3) โดยกระบวนการดังกล่าวจะเริ่มจากการไฮโดรไลซิสแป้งไปเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ หรือกลูโคส โดยใช้เอนไซม์อะไมเลส หรือกลูโคอะไมเลส ซึ่งในส่วนที่เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ จะต้องทำการไฮโดรไลซิสต่อเพื่อให้เปลี่ยนเป็นกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคซิเดส แล้วจึงสามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักกรดแลคติกได้ (Huang et al., 2005) การใช้วิธีการย่อยด้วยความร้อน กรด หรือเอนไซม์ย่อยแป้ง เพื่อให้เชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียนำน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งไปใช้ในการผลิตกรดแลคติก ทั้งนี้การแปรรูปแป้งให้เป็นน้ำตาลมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ดังนั้นหากใช้แลคติกแอซิติกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยแป้งได้ในการผลิตกรดแลคติก ก็จะสามารถลดต้นทุนการผลิตได้



ที่มา: Huang และคณะ (2005)

ภาพประกอบ 2.3 กระบวนการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลกลูโคส

### 2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมักกรดแลคติก

การผลิตกรดแลคติกโดยใช้แลคติกแอซิติกแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการเจริญของแลคติกแอซิติกแบคทีเรีย ดังนี้

#### 1) ผลของแหล่งอาหารคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนถือเป็นปัจจัยหลักที่มีความสำคัญ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักจะเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนเป็นพลังงานสำหรับการเจริญและการดำรงชีวิต ดังนั้นชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนจึงมีความสำคัญมากต่อกระบวนการทางชีวภาพ แหล่งคาร์บอนที่นิยมนำมาใช้ คือ คาร์โบไฮเดรตประเภทน้ำตาลชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถนำของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกรดแลคติกได้อีกด้วย จากการศึกษาเกี่ยวกับการใช้น้ำแช่ข้าวโพดรวมกับกากน้ำตาล Tween 80 และ  $MnSO_4$  ใน



กระบวนการผลิตกรดแลคติก โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1466 แทนการใช้สารสกัดจากยีสต์ พบว่าผลผลิตกรดแลคติกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 113.05 g/l เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกากน้ำตาล น้ำแช่ข้าวโพด Tween 80 และ  $MnSO_4$  ที่ 118.05 g/l 37.27 ml/l 42.54 g/l 1.52 ml/l และ 0.30 g/l ตามลำดับ และยังพบว่าอาหารที่มีการใช้น้ำแช่ข้าวโพดแทนสารสกัดจากยีสต์ให้ผลผลิตกรดแลคติกต่อวัตถุดิบตั้งต้น 96% และอัตราการเกิดผลผลิต 4.58 g/l/h (Lei et al., 2008)

## 2) ผลของแหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจนถือได้ว่าเป็นอีกหนึ่งแหล่งอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากไนโตรเจนเป็นอะตอมที่มีทั้งในโปรตีนและกรดนิวคลีอิก ที่ประกอบเป็นโครงสร้างของเซลล์ หรือเอนไซม์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับขบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ และเป็นองค์ประกอบของดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนภายในเซลล์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรืออาหารที่ใช้ในกระบวนการผลิตกรดแลคติก สามารถใช้สารอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนจากวัตถุดิบหลายชนิด อาทิเช่น สารสกัดจากยีสต์, meat extract, malt extract, เปปโตน, ยูเรีย หรือน้ำแช่ข้าวโพด เป็นต้น จากการศึกษาของ van Niel และคณะ (1999) เกี่ยวกับความต้องการธาตุอาหารในการเจริญของ *Lactococci* พบว่า การใช้สารสกัดจากยีสต์ และ meat extract ให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงกว่าการใช้ malt extract เป็นแหล่งไนโตรเจน ในขณะที่ผลการศึกษาของ Milko และคณะ (1966) พบว่าการใช้สารสกัดจากยีสต์ที่ความเข้มข้นสูงเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว ให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงกว่าการใช้สารสกัดจากยีสต์ และเปปโตนที่ความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตามสารอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนไม่จำเป็นต้องได้จากการเติมสารอาหารเสริมเหล่านี้เสมอไป แต่ยังสามารถได้จากการใช้เอนไซม์กลูโคสไมเลสย่อยแป้งที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตกรดแลคติก เพื่อให้ปลดปล่อยสารอาหารในรูปแบบของกรดอะมิโนออกมาสำหรับเป็นแหล่งไนโตรเจนได้อีกด้วย (Hofvendahl et al., 1999)

## 3) ผลของค่า pH

โดยทั่วไปจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถเจริญในสภาวะค่า pH ที่แตกต่างกัน ดังนั้นค่า pH ที่ไม่เหมาะสมจึงอาจส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญ หรือการนำไปสู่การตายของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ในกระบวนการหมักกรดแลคติกโดยใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียพบว่า ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5 - 7 (Hofvendahl et al., 2000) การศึกษาของ Panda et al. (2008) พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* MTCC 1407 คือที่ pH 6.5 โดยให้ผลผลิตกรดแลคติก 56.4 g/l ในขณะที่การทดลองของ Fossi et al. (2011) ใช้ค่า pH อยู่ระหว่าง 4 - 6.5 ทำให้ได้ผลผลิตกรดแลคติก 53.2 g/l แสดงให้เห็นว่าเมื่อค่า pH ลดลงต่ำกว่า 6.5 ส่งผลให้ผลผลิตกรดแลคติกลดลงตามไปด้วย

## 4) ผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการหมัก

อุณหภูมิ และระยะเวลาถือได้ว่าเป็นอีกหนึ่งปัจจัยหลักของกระบวนการ



การหมักเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ใช้ในกระบวนการหมักมีความสามารถทน หรือต้องการ อุณหภูมิ และใช้ช่วงระยะเวลาการเจริญ การให้ผลผลิตสูงสุด จนกระทั่งเข้าสู่ช่วงของการตายที่แตกต่าง กัน โดยทั่วไปอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักกรดแลคติกโดยใช้เชื้อแลคติก แอสิดแบคทีเรียแล้วให้ผลผลิตสูงส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 30°C - 40°C และระยะเวลาที่ใช้ในการหมักอยู่ใน ช่วง 90 - 120 ชั่วโมง จากการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากกากมันเส้นโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* MTCC 1407 พบว่าที่อุณหภูมิ 35°C ระยะเวลาการหมัก 120 ชั่วโมง ให้ผลผลิตกรด แลคติกสูงสุด 60 g/l (Ray et al., 2009)

#### 5) ผลของสารอาหารเสริมต่างๆ

จุลินทรีย์บางชนิดไม่สามารถสร้างสารอาหารเสริม เช่น พกวิตามินต่างๆ ขึ้นเองได้ หรือไม่สามารถเจริญได้ในสารอาหารเพียงไม่กี่ชนิด แลคติกแอสิดแบคทีเรียเป็นเชื้อจุลิน ทรีย์ที่มีความต้องการสารอาหารในการเจริญที่หลากหลาย ส่งผลให้การมีเพียงแหล่งคาร์บอนเป็นองค์ ประกอบหลักในกระบวนการหมักนั้นไม่เพียงพอต่อการเจริญ จึงจำเป็นต้องเติมสารอาหารเสริมต่างๆ เช่น สารสกัดจากยีสต์,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  เป็นต้น เพื่อช่วยให้มีสารอาหารครบถ้วนต่อ การเจริญ แต่ทั้งนี้การผลิตกรดแลคติกจะเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อได้รับสารอาหารเสริม เหล่านี้ในปริมาณที่เหมาะสมด้วย จากการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 453 พบว่าการเติม  $\text{CaCO}_3$  50 g/l ให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงสุด 31.15 g/l และการเติมสารสกัดจากยีสต์ 20 g/l ร่วมกับ  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.05 g/l ให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงสุด 42.39 g/l (Adthalungrong et al., 2009)

#### 6) ผลของออกซิเจน

เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการ หรือความทนทานออกซิเจนที่แตกต่าง กัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการเมแทบอลิซึมที่แตกต่างกันของเชื้อจุลินทรีย์ โดยแลคติกแอสิดแบคทีเรีย เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะขาดอากาศ หรือมีอากาศเพียงเล็กน้อย (Kandler and Weiss, 1986) ดังนั้นการควบคุมปริมาณออกซิเจนให้เหมาะสมต่อการเจริญของแลคติกแอสิดแบคทีเรียจึงมี ความสำคัญ เนื่องจากการเจริญของเชื้อจะส่งผลต่อการผลิตกรดแลคติก และเมื่อนำเชื้อดังกล่าวเข้ามา ใช้ในระบบบำบัดเอสปีอาร์ จึงจำเป็นต้องปรับระบบบำบัดเอสปีอาร์ให้เป็นแบบขาดอากาศ ซึ่งมาตรฐาน การออกแบระบบเอสปีอาร์ในช่วงขาดอากาศมีค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 0 - 3 mg/l (องค์การจัดการน้ำเสีย, 2543)

2.1.4 การเก็บเกี่ยวกรดแลคติกที่ผลิตได้จากกระบวนการหมัก (Lactic acid recovery process) (Vijayakumar et al., 2008) (ภัทรพล นามทอง และคณะ, 2554)

ซึ่งรูปแบบของการเก็บเกี่ยวโดยทั่วไปประกอบด้วย 2 รูปแบบ ได้แก่ การเก็บเกี่ยวในรูปแบบ ผลิตภัณฑ์ของกรดแลคติก และในรูปแบบของเกลือแคลเซียมแลคเตท อุปกรณ์ที่นำมาใช้ในการเก็บเกี่ยวต้องเป็น



วัสดุที่ทำจากเงิน หรือโลหะอย่างดี เนื่องจากกรดแลคติกมีฤทธิ์ในการกัดกร่อน การเก็บเกี่ยวกรดแลคติกในรูปของเกลือแคลเซียมแลคเตทเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม โดยมีขั้นตอนการดำเนินการ 2 ขั้นตอนหลักดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 การทำ pretreatment เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียทำการผลิตกรดแล้วขับออกนอกเซลล์ กรดแลคติกที่ได้จึงเป็นผลิตภัณฑ์ภายนอกเซลล์ผสมรวมอยู่กับน้ำหมัก ดังนั้นการเก็บเกี่ยวกรดแลคติกจึงจำเป็นต้องเก็บจากน้ำหมัก โดยขั้นตอนแรกเป็นขั้นตอนของการทำ pretreatment ก่อนที่เข้าสู่กระบวนการเก็บเกี่ยวด้วยการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตในน้ำหมัก หลังจากนั้นทำการปรับเพิ่มค่า pH ของน้ำหมักให้สูงขึ้นเป็น pH 10 - 11 เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ตกตะกอนโปรตีนต่างๆ และกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตส่วนเกิน

ขั้นตอนที่ 2 การเก็บเกี่ยวกรดแลคติกจากน้ำหมัก ที่นิยมใช้ประกอบด้วย 3 วิธีดังต่อไปนี้

1) วิธีการกรอง (Filtration) เป็นวิธีที่นิยมใช้เก็บเกี่ยวกรดแลคติกที่ผลิตได้จากกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคส โดยการนำเอาน้ำหมักที่ผ่านการทำ pretreatment จากขั้นตอนแรกมาทำการกรอง และฟอกสี โดยใช้การกรองผ่าน column ของผงถ่านกัมมันต์ทำให้ได้กรดแลคติกที่อยู่ในรูปของแคลเซียมแลคเตท นำแคลเซียมแลคเตทที่ผ่านการฟอกสีแล้วไปเพิ่มความเข้มข้นด้วยการระเหยที่อุณหภูมิ  $70^{\circ}\text{C}$  ภายใต้ความดันบรรยากาศที่ 0.57 atm แล้วทำละลายแคลเซียมแลคเตทโดยใช้ 60%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  แยกเอาตะกอนของแคลเซียมแลคเตทออกด้วยการกรองส่วนของเหลวออกจากตะกอน นำของเหลวที่มีกรดแลคติกผสมอยู่ไปทำการฟอกสี และแยกเอาโลหะหนักออกเพื่อให้กรดแลคติกมีความบริสุทธิ์ จากนั้นระเหยเอาน้ำออกเพื่อเพิ่มความเข้มข้นให้กับกรดแลคติก

2) การตกผลึก (Crystallization) หลังจากทำการ pretreatment น้ำหมัก และผ่านการฟอกสีโดยใช้การผ่าน column ของผงถ่านกัมมันต์รวมทั้งผ่านการกรองและการระเหยแล้วนำมาทำให้เย็นลงเพื่อทำการตกผลึก จากนั้นล้างผลึกเพื่อให้มีความสะอาดและบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น

3) การสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ (Liquid - liquid extraction) โดยการใช้อินทรีย์ เป็นตัวทำละลายกรดแลคติกจากน้ำหมัก ทำการฟอกสีหลังจากการสกัด แล้วแยกเอากรดแลคติกออกจากตัวทำละลายด้วยการกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์ให้สูงขึ้น

#### 2.1.5 การนำกรดแลคติกไปใช้ประโยชน์

ในอดีตการผลิตกรดแลคติกส่วนมากผลิตขึ้นเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อใช้ปรับสภาพความเป็นกรดและใช้ปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหารแปรรูป ตลอดจนใช้เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร ต่อมาพบว่ากรดแลคติกมีคุณสมบัติที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ นอกเหนือจากด้านอุตสาหกรรมอาหารเพียงอย่างเดียว ดังนั้นในปัจจุบันผลิตภัณฑ์กรดแลคติกจึงถูกนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ที่หลากหลายมากยิ่งขึ้น อาทิเช่น

1) ด้านอาหารและเครื่องดื่ม



ส่วนมากมักจะใช้กรดแลคติกเป็นส่วนประกอบในอาหารโดยตรง (Food ingredient) โดยกรดแลคติกจะช่วยเพิ่มรสชาติ และช่วยป้องกันการเสื่อมเสียในอาหารหมักดอง และนิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมการผลิตขนมปังเพื่อให้แป้งขนมปังทนต่อการขนส่งผลให้สามารถเก็บส่วนผสมอื่นได้หลายชนิด ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มนิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์จำพวกนมเพื่อทำให้เกิดรสเปรี้ยวตามต้องการ เพิ่มคุณสมบัติให้กับผลิตภัณฑ์ และยังใช้เป็นตัวปรับค่า pH ของน้ำที่ใช้ในการผลิตเบียร์ นอกจากนี้กรดแลคติกยังเป็นส่วนประกอบของเนยแข็งชนิดต่างๆ หรือผลิตภัณฑ์จำพวกนมอีกด้วย

## 2) ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตโพลีแลคเตท

โดยการนำกรดแลคติกไปใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตโพลีแลคเตท ซึ่งเป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เพื่อใช้แทนพลาสติกสังเคราะห์ที่ได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี พลาสติกโพลีแลคเตทเป็นพลาสติกชีวภาพที่มีลักษณะเป็นฟิล์ม โดยผลิตจากการนำกรดแลคติกไปผ่านกระบวนการโพลีเมอไรเซชัน (Polymerization) ให้เป็นเม็ดพลาสติก จากนั้นนำเม็ดพลาสติกดังกล่าว ไปทำการขึ้นรูปเป็นบรรจุภัณฑ์ต่างๆ ที่สามารถใช้แล้วทิ้งได้โดยไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม อาทิเช่น ภาชนะบรรจุอาหาร ขวดน้ำ ถังพลาสติก กล่อง ฟิล์มสำหรับหีบห่อ เม็ดโฟมกันกระแทก ตัวเคลือบภาชนะกระดาษ เส้นใยและแผ่นผ้าแบบ non-woven ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อนามัย ผ้าอ้อมสำเร็จรูป เสื้อผ้าและเครื่องนุ่งห่ม และเส้นใยสำหรับบรรจุในเครื่องนอน เป็นต้น

## 3) ด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

เนื่องจากคุณสมบัติในทางเคมีของกรดแลคติกที่เป็น  $\alpha$ -hydroxy acid หรือ AHA ที่มีผลกระตุ้นต่อการผลัดเซลล์ผิวให้เป็นไปอย่างธรรมชาติ (Tung et al., 2000) ดังนั้นกรดแลคติกจึงถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอาง

## 4) ด้านการแพทย์

เนื่องจากโพลีแลคเตทเป็นโพลีเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จึงสามารถเข้ากับเนื้อเยื่อ (Biocompatible) และสามารถถูกดูดซึม (Bioresorbable) ได้โดยระบบชีวภาพ (Biological system) ในร่างกาย ทำให้โพลีแลคเตทเป็นวัสดุที่มีศักยภาพสูงสำหรับงานทางการแพทย์ อาทิเช่น ไหมเย็บแผล (Sutures) ตัวเย็บแผล (Staples) วัสดุปิดแผล (Wound dressing) อุปกรณ์ฝังในร่างกาย (Surgical implants) อุปกรณ์สำหรับยึดกระดูก (Orthopedic fixation devices) วัสดุสำหรับนำพาหรือปลดปล่อยตัวยาเข้าสู่ร่างกายซึ่งสามารถควบคุมอัตรา และระยะเวลาในการปลดปล่อยยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ





## 2.2 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียประเภทแกรมบวก มีรูปร่างกลม (Cocci) หรือท่อน (Rods) ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ไม่ได้ เป็นพวกเจริญได้ดีในสภาวะขาดอากาศ หรือมีอากาศเพียงเล็กน้อย ไม่มีโพไรริน ไม่มีไซโตโครม ผลิตภัณฑ์แลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการใช้แหล่งคาร์บอนประเภทแป้ง หรือน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารในกระบวนการหมัก (Kandler and Weiss, 1986)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียต้องการ  $\text{CO}_2$  10% และ  $\text{N}_2$  90% ในการเจริญ และได้รับพลังงานจากกระบวนการเมตาบอลิซึมน้ำตาล และสารประกอบต่างๆ ที่ใช้ในกระบวนการหมัก จึงมักพบแลคติกแอซิดแบคทีเรียอาศัยอยู่ในที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบอยู่เสมอ

การเพาะเลี้ยงแลคติกแอซิดแบคทีเรียจำเป็นต้องมีสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน วิตามิน กรดไขมัน และสารอาหารเสริมอื่นๆ ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง แลคติกแอซิดแบคทีเรียส่วนมากเจริญในสภาวะที่เป็นกรด ระดับอุณหภูมิในการเจริญขึ้นอยู่กับสายพันธุ์บางสายพันธุ์ชอบอยู่ในที่อุณหภูมิต่ำประมาณ  $20^\circ\text{C}$  แต่ถ้าเป็นพวกที่อาศัยอยู่กับพืชหรือพวกที่แยกได้จากอาหารหมักต้องจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ  $30^\circ\text{C}$  และถ้าเป็นพวกที่อาศัยอยู่กับสัตว์เลือดอุ่นจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  โดยทั่วไปแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะมีขนาดของโคโลนีค่อนข้างเล็ก แม้จะเพาะเลี้ยงไว้นาน 2-4 วันก็ตาม

### 2.2.1 การแบ่งกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

สามารถแบ่งตามการใช้อาหารและการสร้างอาหารได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ (Kandler, 1983) คือ

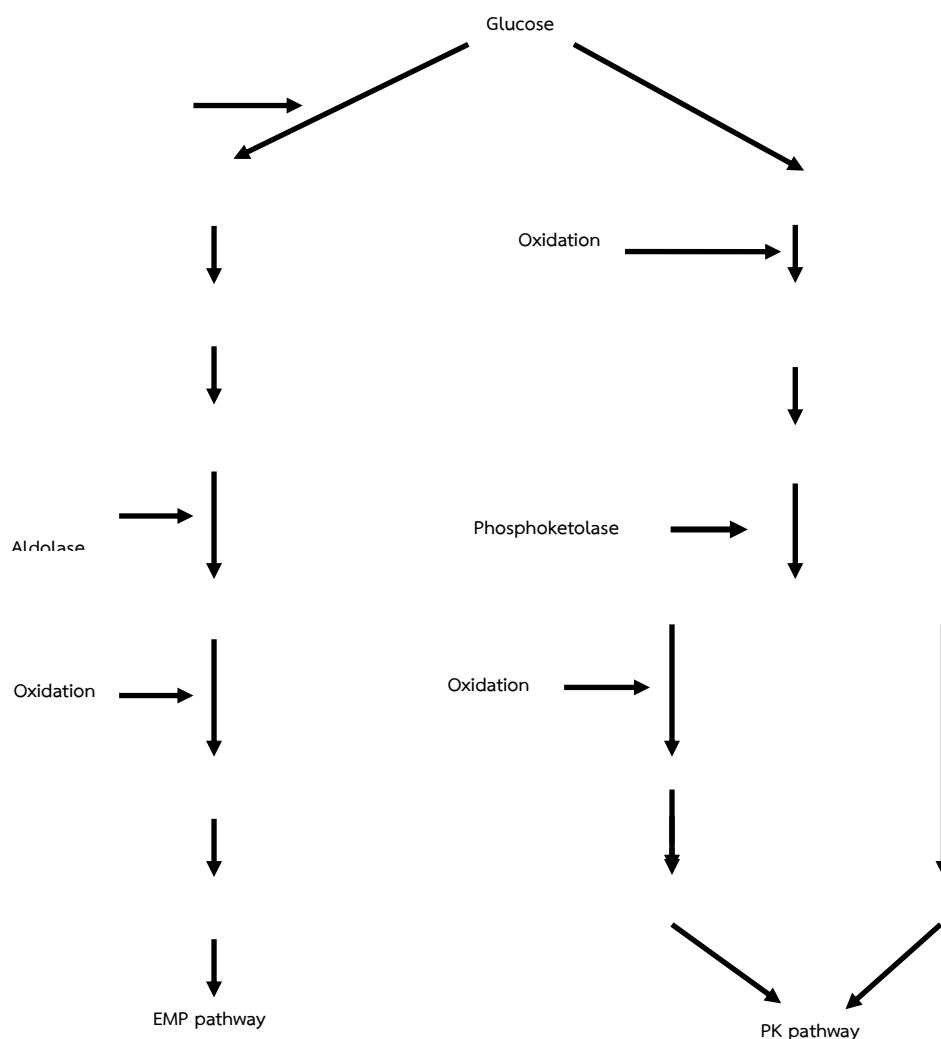
1) กลุ่มที่มีการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ เป็นการหมักกลูโคสผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส หรือ Emden-Meyerhof-Parnas pathway (EMP pathway) (ภาพประกอบ 2.4) แล้วได้กรดแลคติกอย่างเดียวเป็นผลผลิตสำคัญ เริ่มจากกลูโคสถูกเติมหมู่ฟอสฟอรัสโดยเอนไซม์เฮกโซไคเนส เปลี่ยนเป็น glucose-6-phosphate จากนั้นเปลี่ยนเป็น fructose-6-phosphate และ fructose-1,6-phosphate ตามลำดับ ในขั้นตอนต่อไปเอนไซม์อัลโดเลสจะเข้าทำปฏิกิริยาเพื่อแตกตัว fructose-1,6-phosphate ออกเป็น glyceraldehy-3-phosphate 2 โมเลกุล จากนั้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวท โดยเกิด ATP ขึ้น 2 โมเลกุล จากการหมักกลูโคส 1 โมเลกุล (เนื่องจากการเติมฟอสฟอรัสให้กับวัตถุดิบตั้งต้น 2 แห่ง) ในขั้นตอนสุดท้ายเป็นการรีดิวซ์ไพรูเวทเป็นแลคเตท ในขั้นตอนนี้ต้องใช้ NADH ทำให้ได้  $\text{NAD}^+$  กลับคืนมาจากที่ใช้ไปในการออกซิเดชัน glyceraldehy-3-phosphate ตัวอย่างแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ และเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ แสดงดังตาราง 2.2

2) กลุ่มการหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ เป็นการหมักที่ได้ผลผลิตเป็นกรดแลคติกเอทานอล หรือ อะซิเตท และคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียขาดเอนไซม์อัล





โตเลสจึงไม่สามารถย่อย fructose-1, 6-phosphate ได้ จึงจำเป็นต้องมีการออกซิเดชันเปลี่ยนรูปจาก glucose-6-phosphate ไปเป็น 6-phospho-gluconate และเปลี่ยนเป็น pentose-phosphate กับ  $\text{CO}_2$  ในขั้นตอนต่อมาเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลสจะเข้าทำปฏิกิริยาเพื่อแตกตัว pentose-phosphate กับ  $\text{CO}_2$  ไปเป็น glyceraldehy-3-phosphate 1 โมเลกุล และ acetyl phosphate ตามลำดับ จากนั้นเปลี่ยน glyceraldehy-3-phosphate ไปเป็นไพรูเวทและเปลี่ยนเป็นแลคเตท ในขณะที่ acetyl phosphate ก็จะถูกเปลี่ยนไปเป็น acetate ในขั้นตอนสุดท้าย เรียกกระบวนการไกลโคไลซิสในการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟนี้ว่า pentose-phosphoketolase pathway (PK pathway) (ภาพประกอบ 2.4)



ภาพประกอบ 2.4 กระบวนการ EMP pathway และ PK pathway



ตาราง 2.2 ตัวอย่างแลคติกแอซิดแบคทีเรียประเภท Homofermentative และ Heterofermentative  
(Vijayakumar et al., 2008)

Genera and species	Homofermentative	Heterofermentative	Configuration of lactic acid
<b>Lactobacillus</b>	+	-	D(-)
L. delbrueckii	+	-	D(-)
L. lactis	+	-	D(-)
L. bulgaricus	+	-	L(+)
L. casei	+	-	DL
L. plantarum	+	-	DL
L. curvatus	+	-	DL
L. brevis	-	+	DL
L. fermentum	-	+	DL
<b>Sporolactobacillus</b>			
S. inulinus	+	-	D(-)
<b>Streptococcus</b>			
S. faecalis	+	-	L(+)
S. cremoris	+	-	L(+)
S. lactis	+	-	L(+)
<b>Leuconostoc</b>			
L. mesenteroides	-	+	D(-)
L. dextranicum	-	+	D(-)
<b>Pediococcus</b>			
P. damnosus	+	-	DL
<b>Bifidobacterium</b>			
B. bifidum	-	+	L(+)



## 2.2.2 การจัดจำแนกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (สมคิด ตีจรี และอรุณี คงดี, 2556)

ปัจจุบันแลคติกแอซิดแบคทีเรียถูกจัดจำแนกเป็น 12 สกุล (Stiles and Holzapfel, 1997) ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา กระบวนการหมักน้ำตาล ความสามารถในการเจริญที่สภาวะต่างๆ ชนิดไอโซเมอร์ของกรดแลคติก รวมทั้งข้อมูลด้านพันธุกรรม ดังต่อไปนี้

1) *Aerococcus* เซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลมติดกัน 4 เซลล์ ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ดีในอุณหภูมิประมาณ 30°C แต่ไม่สามารถเจริญได้เมื่ออุณหภูมิสูงถึง 45°C มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* ประกอบด้วย 2 ชนิด คือ *A. viridans* และ *A. viridians*

2) *Carnobacterium* เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนตรงขนาดสั้นถึงปานกลางหรือท่อนเรียวยาวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 - 0.7 ไมครอน และยาว 1.1 - 3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยวหรือคู่ มักไม่พบการจัดเรียงตัวเป็นสายโซ่ ผลิตรกรดแลคติกชนิด L(+) คาร์บอนไดออกไซด์ อะซิเทต และเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส มีทั้งสั้น 6 ชนิด คือ *C. divergens*, *C. piscicola*, *C. gallinarum*, *C. mobile*, *C. funditum* และ *C. alterfunditum* มีจีโนมของเชื้อในกลุ่มที่มี G+C เป็นองค์ประกอบประมาณ 31.6 - 37.2% จากงานวิจัยของ Blom et al. (2006) ได้มีการนำเชื้อ *Carnobacterium* 377 มาใช้ในการผลิตแบคทีเรียโอซิน และนอกจากนี้ในงานวิจัยของ Gursky และคณะ (2006) ก็ได้้นำเชื้อ *c. maltaromatium* UAL26 มาใช้เป็นตัวช่วยในการผลิต *piscicola* 126 enzyme อีกด้วย

3) *Enterococcus* เซลล์มีรูปร่างวงรี จัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยว หรือสายโซ่สั้นๆ ผลิตรกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 10°C และ 45°C บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ และบางสายพันธุ์ทำให้เกิดโรค ปัจจุบันประกอบด้วย 5 ชนิด ได้แก่ *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. gallinarum* และ *E. cecorum* เชื้อในกลุ่มนี้มี G+C เป็นองค์ประกอบประมาณ 37 - 40% จากการค้นคว้างานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าได้มีการนำเชื้อ *E. faecalis* ใช้ในการผลิตสารต้านเชื้อแบคทีเรียในรากฟัน (Didilescu et al., 2013)

4) *Lactobacillus* เซลล์รูปร่างแท่งต่อกันเป็นสาย ไม่สร้างสปอร์ เป็นแลคติกแอซิดแบคทีเรียกลุ่มที่ใหญ่ที่สุด มีความหลากหลายของลักษณะทางพีโนไทป์ สมบัติทางชีวเคมี และสรีระวิทยา เนื่องจากความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ G+C ภายในสกุลสูง คือระหว่าง 32 - 53% พบในแหล่งต่างๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์ สัตว์ พืช และน้ำทิ้ง เป็นต้น บางชนิดเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในมนุษย์ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30°C- 37°C ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ ผลผลิตมากกว่า 85% ของ *Lactobacillus* สายพันธุ์ที่มีลักษณะเป็นโฮโมเฟอร์เมนเททิฟเป็นกรดแลคติกที่ผลิตได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคส



5) *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปร่างรีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 - 1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตรกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักกลูโคส นิยมใช้เป็นหัวเชื้อในผลิตภัณฑ์นม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10°C แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45°C พบในแหล่งต่างๆ เช่น ผักกาด ถั่ว หล้า มันฝรั่ง น้านมดิบ ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. plantarum*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *hordniae*, *L. raffinolactis* และ *L. piscium* เชื้อในกลุ่มนี้มี G+C เป็นองค์ประกอบประมาณ 34 - 43% จากงานวิจัยของ Yu และคณะ (2002) และงานวิจัยของ Wenhua et al. (2004) ได้นำเชื้อ *L. lactis* มาใช้เป็นตัวช่วยในการผลิตโนซิน และนอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่นำเชื้อตัวเดียวกันนี้มาใช้ในการผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากของเสียโรงงานอุตสาหกรรมแป้งด้วย (Bhanwar et al., 2013)

6) *Leuconostoc* เซลล์มีลักษณะสัณฐานวิทยาขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารที่มีกลูโคสเซลล์มีลักษณะยึดออกคล้ายกลุ่ม *Lactobacilli* แต่ในน้านมเซลล์จะมีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นแบบเชลล์เดี่ยวอยู่เป็นคู่ หรือสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตรกรดแลคติกชนิด D(-) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักกลูโคส จึงช่วยเพิ่มกลิ่นรสในอาหารหมักดอง การเจริญต้องการสารอาหารสูง ปัจจุบันประกอบด้วย 8 ชนิด ได้แก่ *Leu. mesenteroides*, *Leu. lactic*, *Leu. gelidum*, *Leu. carnosum*, *Leu. pseudomesenteroides*, *Leu. citreum*, *Leu. argentinum* และ *Leu. fallz* มีจีโนมของเชื้อในกลุ่มที่มี G+C เป็นองค์ประกอบประมาณ 37 - 40% จากงานวิจัยของ Coelho และคณะ (2011) ได้นำเชื้อ *Leu. Mesenteroides* มาเป็นตัวช่วยในการผลิตกรดแลคติกชนิด D(-)

7) *Oenococcus* สกุลนี้มีเพียงชนิดเดียวคือ *Oenococcus oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuconostoc oneos* เชื้อสกุลนี้เมื่อตรวจสอบข้อมูลทางพันธุกรรมจากดีเอ็นเอ ดีเอ็นเอไฮบริโดเซชัน และลำดับเบสของ 16S rRNA พบว่ามีลักษณะต่างจากชนิดอื่นในสกุล *Leuconostoc* อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการทนกรดและเอทานอลปริมาณสูง จากงานวิจัยของ Fernandez et al. (2011) ได้นำเชื้อ *Oenococcus oeni* มาเป็นตัวช่วยในการผลิตสารแอนติออกซิแดนซ์

8) *Pediococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36 - 1.43 ไมครอน แบ่งตัวลักษณะ 2 ทิศทางบนระนาบเดียวกันโดยแบ่งตัวครั้งที่สองในทิศด้านขวามือของการแบ่งตัวครั้งแรกทำให้เกิดลักษณะเฉพาะเป็นเชลล์สี่เหลี่ยมติดกัน ในสภาวะไร้อากาศผลิตรกรดแลคติกชนิด DL และ L(+) จากการหมักกลูโคสบางชนิดทำให้เปียร์และไวน์เสีย ปัจจุบันประกอบด้วย 6 ชนิด ได้แก่ *P. acidlactici*, *P. damonosus*, *P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. parvulus*, *P. pentosaceus* มีจีโนมของเชื้อในกลุ่มที่มี G+C เป็นองค์ประกอบประมาณ 34-44% จากงานวิจัยของ Yu และคณะ (2013) ได้นำเชื้อ *P. pentosaceus* มาใช้เป็นตัวช่วยในการผลิต 3-Phenyl-lactic acid (PLA)



9) Streptococcus สกุลนี้มีรูปร่างกลมหรือรูปร่างรี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 - 1.2 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นสายโซ่หรือคู่ผลิตภัณฑ์แลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญมีหลายชนิดที่เป็นปรสิตในคนและบางชนิดสามารถทำให้เกิดโรคได้ เจริญที่อุณหภูมิ 20°C - 41°C จากการค้นคว้าพบว่าได้มีการนำเชื้อ *S. zooepidemicus* ATCC 39920 (Chen et al., 2009) และเชื้อ *S. zooepidemicus* sp. K20188 (Lee et al., 2009) มาใช้เป็นตัวช่วยในการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก

10) Tetragenococcus มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือนสกุล *Pediococcus* เนื่องจากเดิมคือ *Pediococcus halophilus* ซึ่งจัดจำแนกใหม่จากการเจริญในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18% และมีลำดับเบสบน 16S rRNA ใกล้เคียงกับสกุล *Enterococcus* และ *Carnobacterium* มากกว่าสกุลเดิม เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ในสกุลนี้เป็นเชื้อที่สามารถเจริญในสภาวะที่มีความเค็มสูงได้จากงานวิจัยของ Uchida และคณะ (2005) ได้นำเชื้อ *Tetragenococcus halophilus* มาใช้ในการผลิตหัวเชื้อโคจิในการหมักน้ำปลา

11) *Vagococcus* เซลล์รูปร่างกลม รูปไข่หรือกึ่งแท่งกึ่งกลม เซลล์อยู่เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายเป็นแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้แต่ไม่ใช่ทุกสายพันธุ์ ประกอบด้วย 2 ชนิด คือ *V. flauvalis* ซึ่งเดิมอยู่ใน *Streptococci* และ *V. salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาเซลมอนที่เป็นโรคจากการค้นคว้าพบ่างานวิจัยของ Joshi and Kanekar (2011) ได้นำเชื้อ *Vagococcus carniphilus* MCMB-1018 ที่คัดแยกได้จากทะเลสาบแอลคาไลน์ลุ่มน้ำในประอินเดีย มาเป็นตัวช่วยในกระบวนการผลิตแอกโซโพลีแซคคารไรด์

12) *Weissella* รูปร่างเซลล์เป็นแท่งและกลมซึ่งมีลักษณะคล้าย *Leuconostoc* ซึ่งเดิมอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* ประกอบด้วย 7 ชนิด ได้แก่ *W. paramesenteroides* (*Leuconostoc paramesenteroides*), *W. confuses* (*Lb. confuses*), *W. Halotolerans* (*Lb. halotolerans*), *W. kandleri* (*Lb. kandleri*), *W. minor* (*Lb. minor*), *W. viridescens* (*Lb. viridescens*) และชนิดใหม่ที่แยกได้จากไส้กรอกหมัก คือ *W. hellenica* จากการค้นคว้าพบว่าได้มีการนำเชื้อในสายพันธุ์ *Weissella* มาใช้ในการผลิตเอนไซม์ เช่น *weissellin* (Papagianni, 2012) และ *dextranucrase* (Amari et al., 2013) เป็นต้น

### 2.2.3 แลคติกแอซิดแบคทีเรียย่อยแบ่ง

แลคติกแอซิดแบคทีเรียโดยทั่วไปจะผลิตกรดแลคติกผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส 2 ประเภท คือ Emden-Meyerhof-Parnas pathway (EMP pathway) และ Pentose-phospho ketolase pathway (PK pathway) โดยมีวัตถุประสงค์ตั้งต้นในกระบวนการผลิตที่อยู่ในรูปแบบของน้ำตาล (Parmjit et al., 2007) นอกจากน้ำตาลจะเป็นวัตถุประสงค์ตั้งต้นที่นิยมนำมาใช้ในกระบวนการผลิตกรด



แลคติกแล้ว ยังมีวัตถุดิบประเภทแป้งที่ได้จากพืช หรือจากของเสียที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการผลิตกรดแลคติกได้เช่นกัน แป้งที่นิยมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในกระบวนการผลิตกรดแลคติก ได้แก่ แป้งสาลี แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าว แป้งข้าวฟ่าง และแป้งข้าวบาเลย์ โดยอาศัยเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นตัวช่วยในกระบวนการผลิต ซึ่งแลคติกแอสิดแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวจะมีความสามารถในการย่อยแป้งผ่านกระบวนการไกลโคไลซิสไปเป็นน้ำตาล แล้วนำน้ำตาลที่ได้ไปผลิตเป็นกรดแลคติก โดยพบว่าการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในกระบวนการหมักให้กรดแลคติกประมาณ 60 - 80% ของกรดรวมทั้งหมด (Demiate et al., 1999) จากการใช้แลคติกแอสิดแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยแป้งในกระบวนการหมักนี้ ส่งผลให้กระบวนการหมักสั้นสุดในขั้นตอนเดียว จึงช่วยให้ประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย ตัวอย่างของแลคติกแอสิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการย่อยแป้งแสดงดังตาราง 2.3

ตาราง 2.3 ตัวอย่างแลคติกแอสิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถย่อยแป้ง

Organism	Substrate	Lactic acid (g/l)	$Y_{LA}$ (g/g)
<i>L. amylovorus</i> ATCC 33622	H barley flour	93	0.52
<i>L. casei</i> NRRL B-441	H barley flour	120	0.67
<i>L. delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> ATCC 11842	sorghum	-	-
<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	sorghum	-	-
<i>L. lactis</i> sp. <i>lactis</i> ATCC 19435	H wheat flour	96	0.76
<i>L. lactis</i> sp. <i>lactis</i> AS211	H wheat flour	95	0.77
<i>L. delbrueckii</i> sp. <i>delbrueckii</i> ATCC 9649	H wheat flour	106	0.82
<i>L. delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> ATCC 11842	H wheat flour	18	0.11
<i>L. amylophilus</i> ATCC 49845	H corn starch	33	0.73
<i>L. amylovorus</i> ATCC 33620	cassava starch	4.8	0.48
	corn starch	10	1.0
	potato starch	4.2	0.42
	rice starch	7.9	0.79
	wheat starch	7.8	0.78
<i>L. casei</i> NRRL B-441 + <i>L. amylovorus</i> NRRL B-4542	barley flour	36	0.20

$Y_{LA}$  = yield of g lactic acid per g substrate, H = hydrolysed



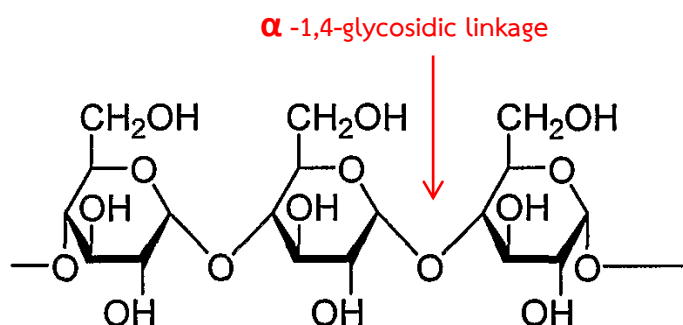
## 2.3 แป้งมันสำปะหลัง

แป้งมันสำปะหลังเป็นแป้งที่ได้จากหัวมันสำปะหลัง นิยมนำมาใช้บริโภคในครัวเรือน รวมทั้งใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม อุตสาหกรรมสารให้ความหวาน คือ กลูโคส ไฮฟรุกโตส ซอพิทอล อุตสาหกรรมผงชูรส อุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์ ใช้เคลือบเส้นใยผ้าในอุตสาหกรรมสิ่งทอ นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ อีกหลากหลายที่ผลิตได้จากแป้งมันสำปะหลัง เช่น โพลีเมอร์ดูดซึมน้ำ พลาสติกชีวภาพ และเอทานอล (หน่วยปฏิบัติการแปรรูปมันสำปะหลัง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2542)

### 2.3.1 โครงสร้างทางเคมีของแป้ง (ชวนชม อ่วมเนตร, 2552)

แป้งเป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่มีสูตรทั่วไปคือ  $(C_6H_{10}O_5)_n$  มีพื้นฐานเป็น anhydroglucose unit เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -glycosidic linkage ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของหน่วยกลูโคสกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของหน่วยกลูโคสที่อยู่ถัดไป ด้านปลายของโมเลกุลแป้งจะมี anomeric carbon (C1) ซึ่งว่างอยู่ไม่ได้จับกับโมเลกุลอื่นๆ ดังนั้นแต่ละโมเลกุลของแป้งจะมีด้านปลาย ที่มีคุณสมบัติรีดิวซ์ (Reducing end) นั่นคือแป้งหนึ่งโมเลกุลจะมีตำแหน่ง reducing end 1 ตำแหน่ง โมเลกุลแป้งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดหลักๆ ตามขนาดโมเลกุลและลักษณะการจัดเรียงตัว คือ

1) อะไมโลส เป็นโพลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 1,000 - 6,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4-glycosidic linkage (Hizukuri, 1985) ดังภาพ 2.5 โดยทั่วไปแป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวฟ่าง มีปริมาณอะไมโลสสูง ประมาณ 22 - 30% ส่วนแป้งจากรากและหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาชูจะมีปริมาณอะไมโลสต่ำกว่าคืออยู่ในช่วง 18 - 24% (Kasemsuwan et al., 1999)

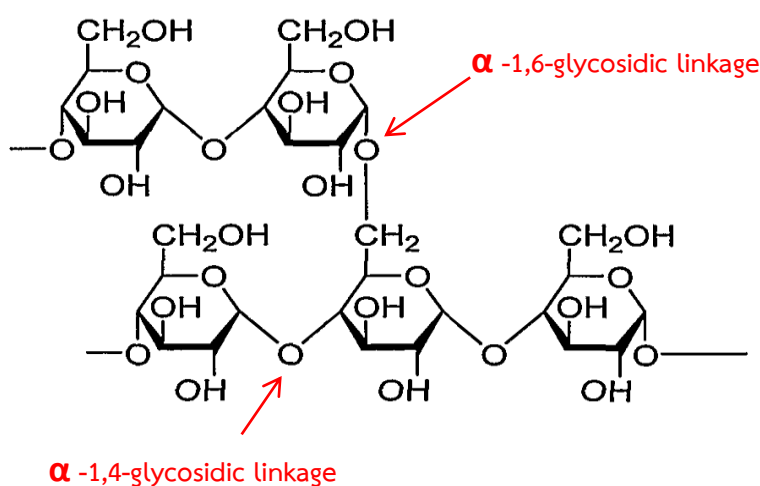


ที่มา: Hizukuri (1985)

ภาพประกอบ 2.5 โครงสร้างอะไมโลส



2) อะไมโลเพกตินเป็นโครงสร้างแตกแขนง ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4-glycosidic linkage จุดที่มีการแตกแขนงยึดกันด้วยพันธะ 1-6- $\alpha$ -glycosidic linkage (Okafor, 2007) ดังภาพ 2.6 อะไมโลเพกตินเป็นองค์ประกอบหลักของแป้งมีอยู่ร้อยละ 73 - 86 ขององค์ประกอบแป้งทั้งหมด รองลงมาคืออะไมโลสมีอยู่ร้อยละ 17 - 20 (Okafor, 2007)



ที่มา: Nowjee (2004)

ภาพประกอบ 2.6 โครงสร้างอะไมโลเพกติน

ดังนั้นแป้งมันสำปะหลังจึงมีความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งสารอาหารสำหรับการผลิตกรดแลคติกในกระบวนการทางชีวภาพเนื่องจากเมื่อผ่านกระบวนการย่อยแล้วจะประกอบด้วยความเข้มข้นของกลูโคสสูง (Adthlungrong and Temviriyankul, 2010)

### 2.3.2 การไฮโดรไลซิสแป้ง

การไฮโดรไลซิสแป้ง ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ

1) การเกิดเจลาติไนซ์ (Gelatinization) เป็นการทำลายโครงสร้างภายในผลึกของเม็ดแป้งโดยการให้ความร้อนในสถานะที่มีน้ำอย่างเพียงพอ โดยโมเลกุลของน้ำจะแพร่เข้าไปทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโมเลกุลแป้งอ่อนแอลง (Kaletunc and Breslauer, 2003) น้ำจึงสามารถเข้าไปในส่วนของโครงสร้างผลึกส่งผลให้เม็ดแป้งดูดน้ำและเกิดการพองตัวขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งสลายไป พร้อมกับการปล่อยสายโมเลกุลของอะไมโลสออกมา (Whistler and Bemiller, 1997) โดยอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนซ์ของแป้งอยู่ในช่วง 58 - 74 องศาเซลเซียส (Matz, 1991)

2) การเกิดลิเควแฟชัน (Liquefaction) เป็นขั้นตอนการลดความหนืดของแป้งภายหลังการเกิดเจลาติไนซ์ หรือย่อยแป้งเพื่อทำให้แป้งมีโมเลกุลเล็ก หรือทำให้เหลวโดยการย่อย





โมเลกุลของแป้งแบบสุ่มของลูกโซ่กลูโคสทำให้แยกเป็นสายสั้นๆ มีขนาดโมเลกุลเล็กลงและมีความหนืดลดลง โดยใช้เอนไซม์ แอลฟาอะมัยเลสแทนกรด ย่อยที่อุณหภูมิ 90 - 130 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า ระยะเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง (สมคิด ดิจริง และอรุณี คงดี, 2556)

3) การเกิดแซ็กคาริฟิเคชัน (Saccharification) เป็นขั้นตอนการย่อยแป้งให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาล เพื่อย่อยแป้งสุกให้เป็นน้ำตาลก่อนเข้าสู่กระบวนการการหมักโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะมัยเลส หรือ เบต้าอะมัยเลส ผลผลิตที่ได้ในขั้นตอนนี้คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำตาลโมเลกุลคู่ หรือน้ำตาลที่มีโมเลกุลสูงกว่า เช่น กลูโคส มอลโตส หรือมอลโตไตรออส (สมคิด และ อรุณี, 2556)

## 2.4 น้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

### 2.4.1 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2540)

หลักการสำคัญในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง คือการสกัดแป้งออกจากเซลล์ของรากมันสำปะหลัง โดยใช้น้ำเป็นตัวสกัด เนื่องจากโปรตีน เกลือแร่ สิ่งแปลกปลอมอื่นๆ สามารถละลายน้ำได้ดี และใช้เครื่องกล เช่น การปั่นเหวี่ยงในอัตรารอบสูง การสกัดแป้งให้มีความบริสุทธิ์สูงๆ จะทำให้ได้แป้งที่มีคุณภาพคงที่ โดยขั้นตอนการผลิตแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วย ขั้นตอนหลัก ดังต่อไปนี้

#### 1) การรับ และตรวจสอบคุณภาพหัวมันสำปะหลัง

หลังจากรากมันสำปะหลังถูกส่งมายังโรงงาน และผ่านการชั่งน้ำหนัก รวมทั้งการทดสอบปริมาณแป้งเพื่อตีราคาแล้ว รากมันจะถูกนำมาเทรวมกันไว้บนลานวัตถุดิบ เพื่อถูกส่งเข้าสู่กระบวนการผลิตภายใน 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันไม่ให้ปริมาณแป้งในหัวมันลดลง

#### 2) การเตรียมรากมันสำปะหลัง

รากมันที่ผ่านการตรวจสอบแล้วจะถูกส่งเข้าสู่ตะแกรงร่อนดินและทราย เพื่อกำจัดดินและทรายที่ติดมากับรากมัน และทำให้ผิวนอกของรากมันหลุดออก จากนั้นส่งต่อไปยังเครื่องปอกเปลือก และเครื่องล้างมันสำปะหลัง ซึ่งใช้วิธีฉีดน้ำพ่นเป็นฝอยเพื่อทำความสะอาดรากมันที่ปอกเปลือกแล้ว

#### 3) การบดรากมันสำปะหลัง

รากมันที่สะอาดแล้วจะถูกส่งไปยังเครื่องสับหัวมัน เครื่องสับรากมันจะสับรากมันให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 - 2 นิ้ว ชิ้นมันที่สับแล้วจะตกเข้าสู่เครื่องขูดรากมันซึ่งอยู่ด้านล่าง ทำให้ได้มันสำปะหลังชิ้นละเอียดยิ่งขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแป้ง จากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการแยก fruit water ด้วยเครื่องดีแคนเตอร์ เพื่อเพิ่มคุณภาพแป้งให้สูงขึ้น

#### 4) การสกัดแป้ง

หลังจากกระบวนการแยก fruit water รากมันจะถูกเติมน้ำและถูกนำเข้าสู่เครื่องสกัดแป้ง เพื่อแยกเซลลูโลสออกจากแป้ง โดยทั่วไปจะเป็นการสกัดแบบหลายครั้ง โรงงานส่วนใหญ่จะใช้



ชุดสกัด 3 ชุด แต่ในโรงงานขนาดใหญ่จะใช้ถึง 4 ชุด ต่อเนื่องกัน โดยชุดแรกเป็นการสกัดหยาบโดยใช้ตะแกรง และชุดสุดท้ายเป็นการสกัดละเอียดโดยใช้ผ้ากรอง กากมันสำปะหลังจากขั้นตอนี้จะมีปริมาณแป้งน้อยมาก จึงถูกแยกออกจากรังน้ำแป้งเพื่อนำเข้าสู่เครื่องอัดกาก ในขณะที่น้ำแป้งจากกระบวนการสกัดแป้งจะมีความเข้มข้นประมาณ 3 โบเม (54 kg แป้งแห้ง/น้ำ 1 m<sup>3</sup>)

#### 5) การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแป้ง

น้ำแป้งที่ถูกแยกออกจากกากมันสำปะหลังจากจะถูกส่งต่อไปยังเครื่องแยก ซึ่งอาจเป็นเครื่องแบบปั่นเหวี่ยง หรือไฮโดรไซโคลอน แต่โดยทั่วไปนิยมใช้การปั่นเหวี่ยง และเพื่อให้ได้แป้งที่คุณภาพดีจึงมักใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงจำนวน 2 ชุด เพื่อแยกกากมันออกให้มันและทำให้น้ำแป้งเข้มข้น ภายหลังการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแป้ง จะได้น้ำแป้งที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 20 ถึง 22 โบเม

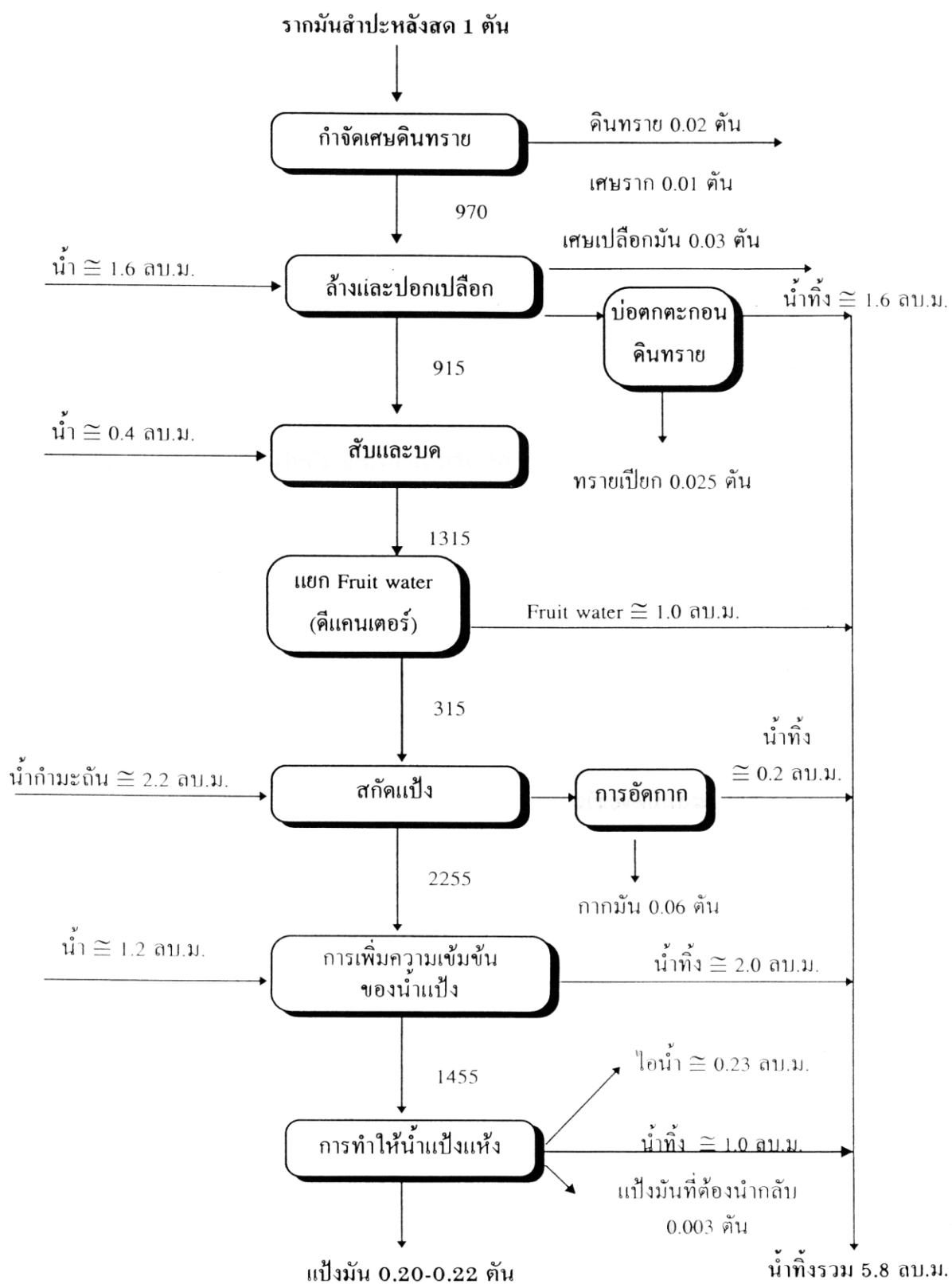
#### 6) การทำให้แป้งแห้ง และการบรรจุผลิตภัณฑ์

แป้งที่ถูกแยกเอาน้ำออกจะถูกพ่นเข้าสู่ท่อไอร้อนซึ่งมีลมร้อนประมาณ 200°C จากเตาเผา เป่าเข้ามาด้วยความดันสูง ความแรงของลมจะพัดเอาแป้งขึ้นไปตามปล่องสูงที่สร้างไว้ แล้วตกมาสู่ไซโคลอน แป้งมันที่ได้จากไซโคลอนจะเป็นแป้งมันที่แห้งและละเอียด แต่ยังร้อนอยู่ ซึ่งต้องทำให้เย็นทันทีโดยใช้ไซโคลอนเย็น หลังจากนั้นแป้งมันจะมีความชื้นอยู่ประมาณ 12-13% ก่อนจะถูกปล่อยลงสู่เครื่องร่อนแป้ง และทำการบรรจุต่อไป

#### 2.4.2 แหล่งที่มาของน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง

กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังเป็นกระบวนการที่ใช้น้ำเป็นองค์ประกอบในการผลิตเกือบทุกขั้นตอน และน้ำที่นำมาใช้เกือบทั้งหมดจะกลายเป็นน้ำเสียที่ต้องบำบัดทิ้ง (โสภิตา บุญอนุเคราะห์ และคณะ, 2541) โดยทั่วไปแป้งมันสำปะหลัง 1 ตัน ก่อให้เกิดน้ำเสียประมาณ 10 - 20 m<sup>3</sup> แหล่งที่มาของน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังแสดงดังภาพ 2.7





ภาพประกอบ 2.7 แหล่งที่มา น้ำเสีย แป้งมันสำปะหลัง



### 2.4.3 ลักษณะของน้ำเสียโรงงานแปรงมันสำปะหลัง

โรงงานผลิตแปรงมันสำปะหลังเป็นโรงงานที่มีการระบายน้ำเสียทิ้งเป็นจำนวนมาก และน้ำเสียที่ระบายทิ้งค่อนข้างมีภาระความสกปรกของสารอินทรีย์ (COD) สูงเนื่องจากมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และสารแขวนลอยต่างๆ ดังแสดงในตาราง 2.4

ตาราง 2.4 ค่าเฉลี่ยลักษณะของน้ำเสียที่ออกจากโรงงานผลิตแปรงมันสำปะหลัง

พารามิเตอร์	โรงงาน ขนาดเล็ก	โรงงาน ขนาดกลาง	โรงงาน ขนาดใหญ่
pH	4.75	4.69	6.33
COD (mg/l)	13,000	15,000	19,300
BOD (mg/l)	6,465	10,555	12,645
TKN (mg/l)	228	248	512
TS (mg/l)	13,030	12,550	19,845
SS (mg/l)	7,445	5,790	6,990
TDS (mg/l)	5,580	6,820	12,850

### 2.4.4 ระบบบำบัดน้ำเสียที่นิยมใช้กับโรงงานแปรงมันสำปะหลัง (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2540)

เนื่องจากกระบวนการผลิตแปรงมันสำปะหลังโดยส่วนใหญ่จะมีการใช้น้ำปริมาณมาก จึงเกิดน้ำเสียจำนวนมากเช่นกัน ดังนั้นน้ำเสียที่เกิดขึ้นจึงเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญของการผลิตแปรงมันสำปะหลัง ซึ่งการผลิตแปรงมันสำปะหลังจะเกิดน้ำเสียจากขั้นตอนการผลิตต่างๆ ได้แก่ น้ำเสียจากการล้างหัว fruit water จากเครื่องตีแคนเตอร์ น้ำเสียจากการอัดกาก และน้ำเสียจากการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแป้ง และการสลัดแห้ง ซึ่งน้ำเสียแต่ละขั้นตอนมีลักษณะต่างๆ กัน จากการทำน้ำเสียเป็นประเด็นปัญหาหลักของกระบวนการผลิตแปรงมันสำปะหลัง โรงงานส่วนใหญ่จึงมีการแยกน้ำเสียจากแต่ละขั้นตอนการผลิต และนำกลับไปใช้ในกระบวนการผลิตอีกครั้ง ซึ่งสามารถลดปริมาณน้ำทิ้งลงได้ส่วนหนึ่ง นอกจากนี้ยังแยกวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลวบางส่วนออกจากน้ำเสียรวม โดยเฉพาะ fruit water ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยในพื้นที่เกษตรได้ การจัดการน้ำเสียของโรงงานผลิตแปรงมันสำปะหลังส่วนใหญ่จะใช้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบ่อเปิดธรรมชาติ โดยมีการขุดบ่อเปิดหลายๆ บ่อ ปัจจุบันระบบบำบัดน้ำเสียที่โรงงานแปรงมันสำปะหลังนิยมใช้ประกอบด้วย บ่อบำบัดแบบหมัก บ่อบำบัดแบบกึ่งหมัก และบ่อบำบัดแบบผึ่ง ตามลำดับ ดังนี้ (วันทนา เกียรติสมาน, 2543)



### 1) บ่อบำบัดแบบหมัก (Anaerobic pond)

บ่อแอนแอโรบิก เป็นระบบที่ใช้กำจัดสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูง โดยไม่ต้องการออกซิเจน บ่อนี้จะถูกออกแบบให้มีอัตรารับสารอินทรีย์สูงมากจนสาหร่าย และการเติมออกซิเจนที่ผิวหน้าไม่สามารถผลิต และป้อนออกซิเจนได้ทัน ทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจนละลายน้ำภายในบ่อ จึงเหมาะกับน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์ และปริมาณของแข็งสูงเนื่องจากของแข็งจะตกลงสู่ก้นบ่อ และถูกย่อยสลายแบบแอนแอโรบิก น้ำเสียส่วนที่ผ่านการบำบัดจากบ่อนี้จะระบายต่อไปยังบ่อแฟคัลเททีฟ (Facultative pond) เพื่อบำบัดต่อไป

### 2) บ่อบำบัดแบบกึ่งหมัก (Facultative ponds)

บ่อแฟคัลเททีฟ เป็นบ่อที่นิยมใช้กันมากที่สุด ภายในบ่อมีลักษณะการทำงานแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนบนของบ่อเป็นแบบแอโรบิกได้รับออกซิเจนจากการถ่ายเทอากาศที่บริเวณผิวน้ำ และจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย และส่วนล่างของบ่ออยู่ในสภาพแอนแอโรบิก บ่อแฟคัลเททีฟนี้โดยปกติแล้วจะรับน้ำเสียจากที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นมาก่อน กระบวนการบำบัดที่เกิดขึ้นในบ่อแฟคัลเททีฟ เรียกว่า การทำความสะอาดตัวเอง (Self-purification) สารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ประเภทที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic bacteria) เพื่อเป็นอาหาร และสำหรับการสร้างเซลล์ใหม่ และเป็นพลังงาน โดยใช้ออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายที่อยู่ในบ่อส่วนบน สำหรับบ่อส่วนล่างจนถึงก้นบ่อซึ่งแสงแดดส่องไม่ถึง จะมีปริมาณออกซิเจนต่ำจนเกิดสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic Condition) และมีจุลินทรีย์ประเภทไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria) ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ และแปรสภาพเป็นก๊าซเช่นเดียวกับบ่อแอนแอโรบิก แต่ก๊าซที่ลอยขึ้นมาจะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนที่อยู่ช่วงบนของบ่อทำให้ไม่เกิดกลิ่นเหม็น

### 3) บ่อบำบัดแบบผึ่ง (Oxidation pond)

เป็นบ่อดินที่มีการออกแบบให้จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ในน้ำเสียด้วยการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนเป็นหลัก โดยมีแสงแดดและสาหร่ายเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเพิ่มปริมาณของออกซิเจนในบ่อเพื่อให้จุลินทรีย์สามารถทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ ดังนั้นความลึกของบ่อจึงอยู่ในระดับที่แสงแดดสามารถส่องได้อย่างทั่วถึง โดยทั่วไปมีความลึกไม่เกิน 1.5 เมตร ส่วนปัจจัยอื่นๆ ที่สำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพของระบบนี้ ได้แก่ ปริมาณสาหร่ายความเข้มข้นของน้ำเสีย และระยะเวลาในการเก็บกักน้ำเสียเพื่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ เป็นต้น โดยทั่วไปบ่อผึ่งจะสามารถลดค่า BOD ลงได้ร้อยละ 60-80 การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการใช้บ่อผึ่งนี้จะต้องใช้พื้นที่ในการก่อสร้างมากจึงเหมาะสำหรับชุมชนที่มีราคาที่ดินต่ำดูแลและควบคุมได้ง่าย รวมทั้งน้ำเสียจะต้องมีความสกปรกไม่มากจนเกินไป ปัญหาที่พบได้โดยทั่วไปของบ่อผึ่งได้แก่ ปัญหาเรื่องกลิ่นซึ่งอาจจะเกิดจากความสกปรกของน้ำเสียสูงเกินกว่าที่ระบบสามารถรองรับได้ ทำให้เกิดภาวะมีออกซิเจนละลายน้ำไม่เพียงพอ นอกจากนี้ยังมีสาเหตุมาจากการขาดแคลนปริมาณสาหร่าย หรือ



พีชน้ำที่เป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนจากขบวนการสังเคราะห์แสงรวมทั้งขบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน บริเวณส่วนล่างของบ่อจะทำให้เกิดก๊าซที่มีกลิ่นเหม็น อาทิ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และก๊าซมีเทนเป็นต้น การเพิ่มประสิทธิภาพของบ่อฝังให้เหมาะสมกับความสกปรกของน้ำเสียจึงเป็นมาตรการที่สำคัญต่อการแก้ไขปัญหานี้ ซึ่งอาจจะทำได้โดยการใช้เครื่องจักรกลเข้ามาช่วย เช่น การติดตั้งเครื่องเติมอากาศรวมทั้งการก่อสร้างบ่อให้เพียงพอส่วนทำเลที่ตั้งของระบบนี้จะต้องอยู่ห่างไกลจากชุมชน และควรปลูกต้นไม้เป็นรั้วธรรมชาติ เพื่อลดการฟุ้งกระจายของกลิ่นสู่ภายนอก

2.4.5 ลักษณะน้ำเสียโรงงานแปรงมันสำปะหลังที่ออกจากระบบไร้อากาศ (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2540)

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศถือได้ว่าเป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่นิยมนำมาใช้ใอุตสาหกรรมการผลิตแปรงมันสำปะหลังมากที่สุด เนื่องจากลักษณะของน้ำเสียที่ออกจากโรงงานแปรงมันสำปะหลังนั้น เป็นน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ค่อนข้างสูง และมีปริมาณน้ำเสียที่ต้องบำบัดทิ้งจำนวนมาก ดังนั้นระบบบำบัดน้ำเสียที่นำมาใช้ จึงจำเป็นต้องสามารถรองรับภาระสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูง และรองรับน้ำเสียในปริมาณมากได้ ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศนั้นนอกจากจะมีความสามารถในการรับ และบำบัดสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงแล้วยังเป็นระบบบำบัดที่ใช้พื้นที่ในการติดตั้งระบบน้อย รวมทั้งมีต้นทุนในการควบคุมระบบต่ำอีกด้วย โดยน้ำเสียโรงงานแปรงมันสำปะหลังที่ผ่านระบบบำบัดไร้อากาศแบบ Upflow anaerobic filter reactor (UAF) มีลักษณะดังแสดงในตาราง 2.5 แต่อย่างไรก็ตามน้ำเสียที่ผ่านออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ ยังคงเป็นน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานของการปล่อยน้ำทิ้งอยู่ จึงจำเป็นต้องทำการบำบัดในขั้นตอนต่อไปก่อน อาจเป็นการบำบัดต่อด้วยระบบเติมอากาศเพื่อให้ได้ตามมาตรฐานก่อนการปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำ



ตาราง 2.5 ลักษณะน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านระบบบำบัดไร้อากาศแบบ  
Upflow anaerobic filter reactor (UAF)

Composition	Influent UAF (mg/l)	Effluent UAF (mg/l)
pH	6.48-6.80	6.48 – 7.60
COD <sub>total</sub>	6,746-16,457	5,585 – 14,476
COD <sub>soluble</sub>	5,384-15,177	5,070 – 13,749
SS	900-1,183	180 -352
VSS	835-1,030	139 – 330
N-NH <sub>3</sub>	-	186 – 231
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	0.0 – 0.2
P-PO <sub>4</sub> total	-	29 – 70
N-Org	-	10 - 102

## 2.5 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ (Sequencing batch reactor)

ระบบเอสปีอาร์ เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบเลี้ยงตะกอนเร่ง (Activated sludge system) ชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบเติมอากาศ ที่มีจุลินทรีย์อยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียหรือถังปฏิกริยาอยู่ในลักษณะจุลินทรีย์แขวนลอย การทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียจะสลับเป็นกะ (Batch type system) ระบบเอสปีอาร์ประกอบด้วย ถังปฏิกริยาทำหน้าที่เป็นทั้งถังเติมอากาศ และถังตกตะกอน การทำงานจะมีการให้ออกซิเจนแก่น้ำเสีย และกวนเพื่อให้สัมผัสกับตะกอนจุลินทรีย์ภายในถังเติมอากาศ จากนั้นระบบจะเข้าสู่ช่วงตกตะกอนเพื่อแยกน้ำใสส่วนบนออกจากระบบ มีการสูบน้ำใสส่วนบนออกไปด้วย ซึ่งภาพรวมของการทำงานของระบบเป็นดังนี้ รับน้ำเสีย (Fill) เติมอากาศ (Aeration) ตกตะกอน (Sedimentation) และระบายน้ำใสออก (Draw) กล่าวคือน้ำเสียจะถูกปล่อยเข้าสู่ถังปฏิกริยาจนเต็ม ปิดทางน้ำเข้า เป่าอากาศลงไปใต้น้ำเสีย (กวน) ทิ้งใต้น้ำเสียตกตะกอน ตะกอนจุลินทรีย์จะจมลงสู่ก้นถัง จากนั้นปล่อยน้ำใสที่อยู่ส่วนบนออก แล้วเริ่มต้นปล่อยน้ำเสียเข้าสู่ถังใหม่ ตามด้วยเริ่มเดินระบบตามขั้นตอนเดิม การใช้ถังปฏิกริยาใบเดียวที่เป็นทั้งถังเติมอากาศ และถังตกตะกอนทำให้ลดความยุ่งยากในการควบคุมระบบประหยัดพื้นที่ และสามารถจ่ายน้ำเสียเข้าสู่ปฏิกริยาได้อย่างต่อเนื่องในการใช้งานในปัจจุบันระบบเอสปีอาร์มีการดัดแปลงในรูปแบบการทำงานที่ตอบสนองต่อการบำบัดน้ำเสียแหล่งต่างๆ ได้ดียิ่งขึ้น โดยการปรับสภาวะการให้อากาศในช่วงทำปฏิกริยาเป็นแบบไร้อากาศ (Anaerobic) แบบขาดอากาศ (Anoxic) และแบบมีอากาศ (Aerobic) หรือ



มีการเรียงลำดับของสภาวะการให้อากาศในรูปแบบต่างๆ เช่น three-step SBR : anaerobic (An)/anoxic (Ax)/oxic (Ox), four-step SBR : An/Ox/Ax/Ox และ five-step SBR : An/Ax/Ox/Ax/Ox (Uygur and Kargi, 2004)

2.5.1 หลักการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ (ขั้วเนตร สมบัติสมภพ, 2551) ขั้นตอนการทำงานของระบบเอสปีอาร์แบ่งออกเป็น 5 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้ (ภาพประกอบ 2.8)

#### 1) ช่วงเติมน้ำเสีย (Fill)

คือการเติมน้ำเสียเข้าสู่ถังปฏิกิริยาที่มีตะกอนจุลินทรีย์อยู่ในถัง ปริมาตรของน้ำเสียเริ่มต้นในถังปฏิกิริยาจะมีปริมาณร้อยละ 25 ของปริมาตรถัง และมีการเติมน้ำเสียจนถึงระดับสูงสุดที่ได้กำหนดไว้ เวลาที่ใช้ในการเติมน้ำเสียนี้ขึ้นอยู่กับปริมาตรของถังปฏิกิริยาและอัตราการไหลเข้าของน้ำเสีย

#### 2) ช่วงเกิดปฏิกิริยา (Reaction)

คือช่วงเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ในช่วงนี้มีการเติมอากาศให้แก่ระบบเพื่อกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียจะเกิดปฏิกิริยา carbon oxidation และ nitrification พร้อมกัน คือ aerobic Bacteria จะย่อยสลายสารอินทรีย์ส่วน nitrifying bacteria จะทำการเปลี่ยนแอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) เป็นไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ )

#### 3) ช่วงตกตะกอน (Settle)

คือช่วงเวลาที่มีการตกตะกอนในถังปฏิกิริยา ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ใช้แยกตะกอนจุลินทรีย์ออกจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว หลังจากเติมอากาศครบกำหนดทำการจะปิดเครื่องเติมอากาศเพื่อให้เกิดการตกตะกอน ซึ่งกินเวลา 0.5 - 1 ชั่วโมง ระยะเวลาของการตกตะกอนไม่ควรยาวนานเกินไปเพราะจะทำให้ตะกอนลอยตัวขึ้นมา

#### 4) ช่วงระบายน้ำออก (Draw)

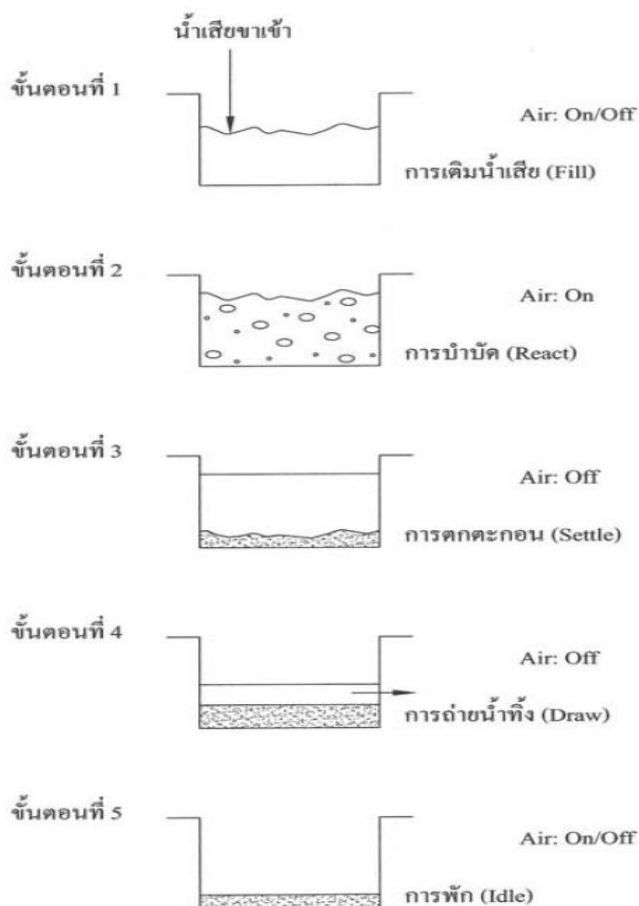
คือช่วงที่มีการระบายน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วออกจากถังปฏิกิริยาประมาณร้อยละ 5 - 30 ของเวลา 1 วัฏจักร หลังจากปิดเครื่องเติมอากาศ 0.5 - 1 ชั่วโมง ทำการดูน้ำออกจนถึงระดับน้ำต่ำสุด การดูน้ำใสออกใช้หลักการกาลักน้ำซึ่งจะสามารถลดระดับน้ำใสลงอย่างรวดเร็ว ไม่ควรปล่อยให้ระยะเวลาระบายน้ำที่นานเกินไปเพื่อเสี่ยงการหลุดรอดของตะกอนออกจากระบบ

#### 5) ช่วงพัก (Idle)

คือช่วงเวลาหลังจากระบายน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วออกจากถังปฏิกิริยาและก่อนที่จะเติมน้ำเสียเข้าถังใหม่อีกครั้ง ช่วงพักจะมีการเติมอากาศหรือไม่ก็ได้ จะมีช่วงนี้หรือไม่ก็ได้ขึ้นอยู่กับความต้องการของระบบส่วนมากช่วงนี้จะมีไว้ในกรณีระบบมีปัญหาต้องการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ







ภาพประกอบ 2.8 หลักการทำงานของระบบเอสปีอาร์

2.5.2 ค่ากำหนดการออกแบบระบบเอสปีอาร์ (กรมควบคุมมลพิษ และสมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, ม.ป.ป.)

ในการออกแบบระบบเอสปีอาร์มีพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ควรนำมาพิจารณาร่วมด้วย ดังนี้

1. อัตราส่วนของอาหารต่อจุลินทรีย์ 0.05 - 0.30 กก. BOD<sub>5</sub>/กก.MVLSS - d
2. อายุสลัดจ์ 8 - 20 วัน
3. อัตราภาระอินทรีย์ 0.1 - 0.3 kg.BOD<sub>5</sub>/m<sup>3</sup> - d
4. ของแข็งแขวนลอยในน้ำตะกอน 1,500 - 5,000 mg/l
5. ความจุต่ออัตราไหลของน้ำเข้า 12 - 50 (ชั่วโมง)
6. ประสิทธิภาพการกำจัดบีโอดี 85 - 95%

สัดส่วนช่วงระยะเวลาในการควบคุม (%)

7. ช่วงเติมน้ำเสีย (Fill) 5 - 25 นาที



8. ช่วงปฏิกิริยา (React) 35 - 50 นาที
9. ช่วงตกตะกอน (Settle) 10 - 20 นาที
10. ช่วงพักหรือทิ้งสลัดจ์ส่วนเกิน (Idle) 0 - 5 นาที

### 2.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของระบบเอสปีอาร์ (ขวัญเนตร สมบัติสมภพ, 2551)

1) ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย (Organic loading) สารอินทรีย์ในน้ำเสียเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในระบบเอสปีอาร์ ดังนั้นหากความเข้มข้นของสารอินทรีย์เปลี่ยนแปลงมากจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบ อาจทำให้อัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio) มีค่าสูงทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วจนมีลักษณะเจริญกระจายอยู่ทั่วไป (Dispersed growth) แทนที่จะรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนที่ดี (Floc) เป็นผลทำให้ไม่เกิดการตกตะกอนที่ดี น้ำทิ้งขุ่น และมีค่าสารอินทรีย์หรือ บีโอดีเหลืออยู่สูง

2) ธาตุอาหาร (Nutrient) จุลินทรีย์ต้องการธาตุอาหารซึ่งได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส นอกเหนือจากสารอินทรีย์คาร์บอน ธาตุอาหารเหล่านี้พบอยู่ในน้ำเสียชุมชนแต่อาจไม่เพียงพอสำหรับในน้ำเสียอุตสาหกรรม ธาตุอาหารอาจคิดได้เป็น BOD : N : P เท่ากับ 100 : 5 : 1 ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์ในระบบ การขาดธาตุอาหารทำให้จุลินทรีย์ที่สร้าง Floc เจริญได้ไม่ดี จุลินทรีย์ที่เป็นเส้นใย (Filamentous) เจริญได้ดีกว่า ซึ่งอาจทำให้ตะกอนตกตะกอนได้ยาก และเกิดเป็นชั้นตะกอนอัดขึ้น ส่งผลให้น้ำทิ้งมีตะกอนปะปนทำให้คุณภาพน้ำทิ้งไม่ดี

3) ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen: DO) ถังเติมอากาศจะต้องมีค่าออกซิเจนละลายน้ำไม่น้อยกว่า 2 mg/L เพื่อป้องกันจุลินทรีย์ที่เกิดเป็นเส้นใย

4) ระยะเวลาการบำบัด (Detention time) ระยะเวลาในการบำบัดน้ำเสียจะต้องนานเพียงพอที่จุลินทรีย์จะใช้ในการย่อยสลายสารต่างๆ หากมีระยะเวลาสั้นเกินไปสารที่ย่อยสลายยากจะถูกย่อยไม่ถึงขั้นสุดท้าย ทำให้น้ำทิ้งมีค่าความสกปรกหลงเหลืออยู่มาก

5) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (Positive potential of hydrogen ions : pH) ค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 6.5-8.5 ถ้า pH มีค่าต่ำกว่า 6.5 พวงรา (Fungi) จะเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดลดลง และตะกอนจะตกตะกอนได้ไม่ดี ถ้า pH มีค่าสูงจะทำให้ฟอสฟอรัสแยกตัวออกจากน้ำ และจุลินทรีย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ทำให้ระบบทำงานได้ไม่ดีถ้า pH สูงหรือต่ำมากๆ จุลินทรีย์ก็ไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้

6) สารเป็นพิษ (Toxic) สารเป็นพิษแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มออกฤทธิ์เฉียบพลัน (Acute toxicity) ได้แก่ ไซยาไนด์ อาร์เซนิก เป็นต้น ซึ่งมีผลให้จุลินทรีย์ตายหมดในระยะเวลาไม่กี่ชั่วโมง และกลุ่มออกฤทธิ์เรื้อรัง (Chronic toxicity) เช่น ทองแดง และโลหะหนักต่างๆ โดยจุลินทรีย์จะสะสมภายในเซลล์จนเกิดเป็นพิษ และตายในที่สุด



7) อุณหภูมิ (Temperature) อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญในการทำงาน จุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 20°C เป็น 35°C แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็วเป็นผลให้ประสิทธิภาพของระบบลดลงตามไปด้วย

8) การกวน (Stirring) ภายในถังเติมอากาศจะต้องมีการกวนอย่างทั่วถึง และสม่ำเสมอ เพื่อป้องกันมิให้ตะกอนจุลินทรีย์ตกตะกอนเกิดสภาวะไร้อากาศ และเพื่อให้จุลินทรีย์ได้สัมผัสกับน้ำเสียที่ส่งเข้ามาบำบัดโดยใช้เป็นอาหารลดมลสารต่างๆ รวมทั้งจะได้จับตัวเป็น Flocc ที่ดี ถ้ามีการกวนที่แรงเกินไปจะทำให้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการกำจัดไนโตรเจนทำงานไม่ได้

9) อัตราการไหลของน้ำเสีย (Flow rate) การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของน้ำเสียที่เข้ามาในระบบบำบัดมีผลโดยตรงต่อการทำงานของกระบวนการทางชีววิทยา และการตกตะกอนหากน้ำเสียมีอัตราการไหลเพิ่มมากขึ้นจะทำให้มีระยะเวลาในการบำบัดน้อยลง ทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบลดลง ดังนั้นจึงต้องควบคุมอัตราการไหลของน้ำเสียให้เข้ามาบำบัดอย่างสม่ำเสมอในอัตราที่ใกล้เคียงกับที่ออกแบบไว้

#### 2.5.4 ข้อดี-ข้อเสียของการบำบัดน้ำเสียในระบบเอสปีอาร์ (ขวัญเนตร สมบัติสมภพ, 2551)

##### 1) ข้อดีของระบบเอสปีอาร์

1.1) ระบบเอสปีอาร์จะรวมส่วนของถังพัก ถังเติมอากาศและถังตกตะกอนในถังเดียวกัน ทำให้ลดพื้นที่ก่อสร้าง

1.2) ระบบสามารถควบคุมไม่ให้เกิดการผสมระหว่างน้ำใสและตะกอนได้ง่าย ทำให้น้ำที่ออกจากระบบอยู่ในค่ามาตรฐานที่ต้องการ และควบคุมปริมาณได้

1.3) ระบบสามารถรับการเปลี่ยนแปลงภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (Organic Loading) ได้ดี โดยน้ำเสียที่เข้าระบบถูกเจือจางลงโดยน้ำในถังปฏิกิริยาซึ่งที่ทำการบำบัดแล้วในรอบการทำงานที่ผ่านมา

1.4) ระบบสามารถเปลี่ยนแปลงวัฏจักรการทำงานให้เหมาะสมกับลักษณะและปริมาณน้ำเสียได้

1.5) ระบบไม่จำเป็นต้องหมุนเวียนตะกอน เพราะตะกอนจุลินทรีย์อยู่ในถังปฏิกิริยาตลอดเวลา

1.6) การเจริญของจุลินทรีย์พวกเส้นใยสามารถควบคุมได้โดยการควบคุมระบบการทำงานในขั้นตอนการเติมน้ำเสีย (Yu et al., 1996)

1.7) ระบบสามารถควบคุมให้เกิดไนตริฟิเคชัน-ดีไนตริฟิเคชัน หรือการกำจัดฟอสฟอรัสได้โดยไม่ต้องเติมสารเคมี แต่อาศัยการควบคุมวัฏจักรของการบำบัด (Subramaniam et al., 1994)



## 2) ข้อเสียของระบบเอสปีอาร์

- 2.1) การทำงานของระบบต้องอาศัยผู้ควบคุมที่มีความเชี่ยวชาญและประสบการณ์
- 2.2) ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการควบคุมระบบสูงเนื่องจากการทำงานของระบบเป็นแบบอัตโนมัติ
- 2.3) ระบบมีความเหมาะสมกับการบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณน้ำเสียเข้าระบบน้อย

## 2.6 กระบวนการหมัก

การหมัก (Fermentation มาจากภาษาละติน Fervere หมายถึงเดือด) เป็นกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ เพื่อสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์ด้วยเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอนซึ่งต่างจากการหายใจแบบใช้ออกซิเจนที่ใช้ออกซิเจนที่เป็นสารอนินทรีย์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ในครั้งแรกคำว่ากระบวนการหมักใช้อธิบายลักษณะที่เกิดจากการทำงานของยีสต์ในน้ำผลไม้ เพราะยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลในสถานะที่ไร้ออกซิเจน จึงเกิดฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ผุดขึ้นมาเหมือนน้ำเดือด การหมักแบ่งตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้ออกเป็น 4 กระบวนการหมัก ดังต่อไปนี้

### 2.6.1 กระบวนการหมักแบบกะ (Batch fermentation)

เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบปิดที่มีปริมาณอาหารเริ่มต้นจำกัด ส่งผลให้จุลินทรีย์มีรูปแบบการเจริญดังแสดงในภาพ 2.9 โดยการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบการหมักแบบกะประกอบด้วยช่วงที่มีความสำคัญ 4 ช่วงหลัก ได้แก่

1) Lag phase เป็นช่วงแรกของการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหาร ในระยะนี้เซลล์จะยังไม่มีการเพิ่มจำนวน เนื่องจากเป็นช่วงปรับตัวเพื่อให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ในอุตสาหกรรมจำเป็นต้องทำให้ช่วงนี้เป็นระยะที่สั้นที่สุดของกระบวนการ เพื่อช่วยในด้านการลดต้นทุนการผลิต

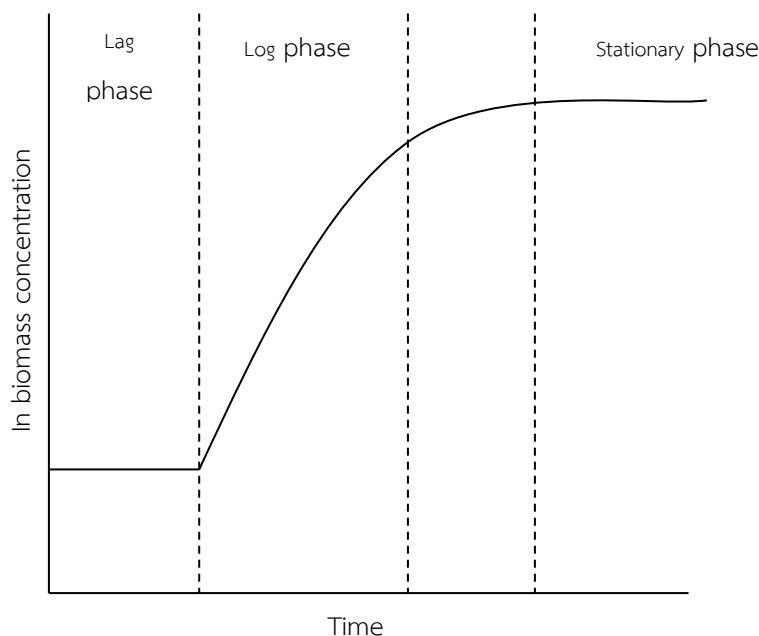
2) Log phase หรือ exponential เป็นช่วงที่เชื้อจุลินทรีย์ในระบบมีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์ และกระบวนการต่างๆ ตลอดจนสมบัติทางสรีรวิทยาในระยะนี้จะเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

3) Stationary phase เป็นช่วงที่จุลินทรีย์ไม่มีการเจริญเพิ่มอีก ส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์ในระบบเกิดการคงที่ โดยในระยะนี้อัตราเกิดของจุลินทรีย์เท่ากับอัตราการตาย เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบใกล้หมดลง จุลินทรีย์จึงเจริญช้าลงพร้อมทั้งสร้างสารของเสียที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของตัวจุลินทรีย์เองด้วย

4) Death phase หรือ decline phase เป็นช่วงที่อัตราการตายของจุลินทรีย์มีมากกว่าอัตราการเจริญ เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบอาจหมดลง รวมทั้งเริ่มมีสารพิษสะสมอยู่ในระบบเป็นจำนวนมาก



การหมักแบบกะนี้สามารถใช้ได้ทั้งการผลิตมวลเซลล์ สารเมตาบอไลต์ปฐมภูมิ และ สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ โดยในการผลิตมวลเซลล์ควรใช้สภาวะการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ส่งเสริมให้เซลล์มีการเจริญได้มากที่สุด



ที่มา: Stanbury และ Whitaker (1984)

ภาพประกอบ 2.9 กราฟแสดงการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ

### 2.6.2 กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation)

เป็นกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง โดยมีการเติมสารอาหารใหม่เข้าสู่ระบบในอัตราเท่ากับ การถ่ายสารอาหารออกจากระบบอยู่ตลอดเวลา จึงส่งผลให้ช่วงระยะเวลาของ log phase ยาวนาน ขึ้น การเติมสารอาหารใหม่เข้าไปแทนที่สารอาหารเก่าในปริมาณเท่าเดิมทำให้เชื้อ จุลินทรีย์ในระบบสามารถเจริญได้อย่างต่อเนื่อง และถ้ามีอัตราการเติมและถ่ายสารอาหารในระบบอย่าง เหมาะสมจะทำให้ระบบอยู่ในสภาวะสมดุล โดยปริมาณเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่จะเท่ากับปริมาณเซลล์ที่ ปล่อยออกจากระบบ แต่ถ้าความเข้มข้นของวัตถุดิบตั้งต้นลดลงมากเกินไปจะทำให้เซลล์ถูกชะล้าง (Wash out) ออกมาในอัตราที่สูงกว่าการเจริญ ทำให้จำนวนเซลล์ลดลงและวัตถุดิบตั้งต้นที่เหลืออยู่ สูงขึ้น และเมื่อวัตถุดิบตั้งต้นในระบบสูงขึ้นจะทำให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์กลับมาสูงขึ้นไปด้วย และในที่สุดระบบจะเข้าสู่สภาวะสมดุลอีกครั้ง ซึ่งระบบการหมักแบบต่อเนื่องที่ระบบสามารถเข้าสู่ สภาวะสมดุลได้เองดังที่กล่าวมานั้นคือแบบ chemostat (สนใจ ศิริโชค, 2537) นอกจากนี้ยังมีระบบ การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องอีกแบบคือ turbidostat ซึ่งใช้วิธีการควบคุมอัตราการไหลของ อาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสม เพื่อให้ความเข้มข้นของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงนั้นคงที่ สำหรับการควบคุมความ



เข้มข้นของเซลล์ให้คงที่นั้น อาจทำได้โดยการวัดความขุ่นของเซลล์โดยใช้ photoelectric cell ต่อเข้ากับเครื่องที่ทำหน้าที่ในการป้อนอาหารเข้าสู่ระบบ หรืออาจใช้วิธีวัดความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์แทนก็ได้ โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องนั้นนิยมใช้ระบบ chemostat มากกว่าระบบ tubidostat เนื่องจากไม่จำเป็นต้องใช้ระบบการควบคุมที่ซับซ้อนในการรักษาสถานะของระบบให้คงที่

### 2.6.3 กระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation)

เป็นกระบวนการหมักที่มีการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบเป็นช่วงเวลาอย่างต่อเนื่องโดยไม่มีการดึงสารอาหารเก่า หรือว่าเซลล์ของจุลินทรีย์ออกจากระบบ ส่งผลให้ทั้งเซลล์จุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์ที่ถูกผลิตขึ้นคงอยู่ในระบบจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก (Qu et al., 2013) การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักแบบนี้ จะทำให้ได้มวลเซลล์ความเข้มข้นสูง นอกจากนั้นกระบวนการหมักแบบนี้ยังมีข้อดีกว่ากระบวนการหมักแบบกะ คือ ให้อัตราการผลิตสูงกว่า มีความสม่ำเสมอในการดำเนินงาน และควบคุมโดยใช้ระบบอัตโนมัติได้ง่าย แต่มีข้อเสีย คือ สามารถปนเปื้อนได้ง่ายกว่ากระบวนการหมักแบบกะ

### 2.6.4 กระบวนการหมักแบบกะซ้ำ (Repeated-batch fermentation)

เป็นกระบวนการหมักที่มีลักษณะคล้ายกันกับกระบวนการหมักแบบกะ เพียงแต่เมื่อกระบวนการหมักสิ้นสุดลงในแต่ละกะจะทำการถ่ายน้ำหมักออกส่วนหนึ่ง และเหลือน้ำหมักอีกส่วนไว้ในถังหมักเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการดำเนินกระบวนการหมักในกะต่อไป

เนื่องจากกระบวนการหมักแต่ละรูปแบบไม่ว่าจะเป็นการหมักแบบกะ แบบกึ่งกะ หรือว่าแบบต่อเนื่องล้วนต้องการอัตราการผลิตและผลผลิตสุดท้ายที่คุ้มค่า อย่างไรก็ตามเนื่องจากผลผลิตกรดแลคติกขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นในถังหมักด้วย ในกรณีนี้กระบวนการหมักแบบกะซ้ำช่วยให้มีปริมาณของหัวเชื้อเริ่มต้นค่อนข้างคงที่ซึ่งส่งผลให้ได้ผลผลิตสูง นอกจากนี้ยังสามารถช่วยลดต้นทุนในด้านการทำหัวเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการหมักกะต่อไปอีกด้วย (Kim et al., 2006)

จากคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นจึงทำให้กระบวนการหมักแบบกะซ้ำเหมาะสมต่อการนำมาใช้เมื่อต้องการผลผลิตที่สูง และต้องการหมุนเวียนหัวเชื้อเริ่มต้น

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุขใจ ชูจันทร์ และศิริประภา มั่นตรง (2551) ศึกษาเรื่องการเพิ่มผลผลิตกรดแลคติกจากเวย์โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมแอลจิเนต พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงเซลล์คือ ระยะทางระหว่างปลายสายยางถึงผิวหน้าของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 15 เซนติเมตร ความเข้มข้นของโซเดียมแอลจิเนตร้อยละ 2 ให้ผลกรดแลคติกดีที่สุด และสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกในถังหมักขนาด 2 l ที่ใช้ทางนมความเข้มข้น 90% เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการหมัก



ควบคุมสภาวะการหมักที่ อัตราการกวน 100 รอบ/นาที ค่า pH 6.5 อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 48 พบว่าให้ผลกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 6.51 g/l ที่ชั่วโมง 72 ผลผลิตกรดแลคติก 0.195 กรัมต่อ วัตต์ดิบตั้งต้น 0.212 g/g และอัตราการผลิตกรดแลคติก 0.170 g/l/h

พรหมปพร เขียววงษ์ครอบ และคณะ (2553) ศึกษาเรื่องสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจากน้ำย่อยแป้ง ด้วยจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ คือ *Enterococcus faecalis* TISTR 379 ที่สามารถผลิตกรดแลคติกในรูปแบบ L และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 053 ที่สามารถผลิตกรดแลคติกในรูปแบบ D โดยแปรผันปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและแปรผันแหล่งไนโตรเจน ทำการหมักแบบกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 l ปริมาตรทำงาน 3 l ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 °C อัตราการกวน 150 รอบ/นาที และค่า pH 6.0 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจากน้ำย่อยแป้ง โดย *En. faecalis* คือที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10 องศาบริกซ์ โดยใช้เปปโทเนเป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถผลิตกรดแลคติกได้ 83.05 g/l คิดเป็นผลได้และอัตราการผลิต เท่ากับ 1.24 และ 1.76 g/l/h ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจากน้ำย่อยแป้ง โดยใช้เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 053 คือที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10 องศาบริกซ์ โดยใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถผลิตกรดแลคติกได้ 22.07 g/l คิดเป็นผลได้และอัตราการผลิต เท่ากับ 0.72 และ 0.92 g/l/h ตามลำดับ

Kim และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากหางนมในกระบวนการหมักแบบกะ และ กะช้า โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus* sp. RKY2 พบว่ากระบวนการหมักแบบกะให้อัตราการผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดเท่ากับ 6.34 g/l/h ซึ่งเป็นอัตราการผลิตที่สูงกว่ากระบวนการหมักแบบกะถึง 6.2 เท่า

Thomsen และคณะ (2007) ได้ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแหล่งอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยแป้งและน้ำตาล โดยใช้เชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยแป้ง (*Lactobacillus plantarum* A6) ในกระบวนการหมักแบบกะ พบว่าในชั่วโมงที่ 24 ให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดเท่ากับ 14.25 g/l

Seesuriyachan และคณะ (2009) ศึกษาการตกตะกอนทางชีวภาพของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตนมด้วยระบบ micro-aerobic sequencing batch reactor (micro-aerobic SBR) โดยใช้เชื้อ *L. casei* TISTR 1500 โดยระบบ micro-aerobic SBR ของงานวิจัยนี้ 1 วัฏจักร มี 24 ชั่วโมง แบ่งออกเป็น ช่วงเติมน้ำเข้า 5 นาที ช่วงทำปฏิกิริยา 23 ชั่วโมง ช่วงพัก 50 นาที และช่วงระบายน้ำออก 5 นาที ผลการศึกษาพบว่าการใช้ค่าอายุตะกอนในการเดินระบบ 10 วัน ทำให้ระบบมีประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ (COD) สูงสุดเท่ากับ  $73.6 \pm 5.9\%$  ประสิทธิภาพการกำจัดโปรตีนสูงสุดเท่ากับ  $90.1 \pm 1.3\%$  และปริมาณกรดรวมสูงสุดเท่ากับ 3.8-4.0 g/l และการใช้ค่าอายุตะกอนเพิ่มขึ้นเป็น 15 วัน พบว่ามีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียมากที่สุด เนื่องจากให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดที่ 2.7 g/l และปริมาณแลคติกแอซิติกแบคทีเรียในตะกอนจุลินทรีย์





เท่ากับ 7.84-7.89 Log CFU/ml และพบว่าประสิทธิภาพการบำบัดของระบบที่ได้ผลดีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลัก 3 ประการ ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดในระบบบำบัด และการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในช่วงระยะพัก

Coelho และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกประเภท L (+) จากน้ำเสียจากโรงงานแปงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* B 103 พบว่าการใช้น้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังน้ำเสีย 50 l ร่วมกับ Tween 80 1.27 ml และน้ำแช่ข้าวโพด 65.4 ml ตามลำดับในกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ให้ความเข้มข้นของกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 39.00 g/l

Coelho และคณะ (2011) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียที่ได้จากโรงกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Enterococcus hawaiiensis* ที่แยกได้ใหม่ พบว่าการใช้น้ำเสียจากโรงกลั่นเอทานอลปริมาณ 15 l ร่วมกับ glucose 80 g/l, peptone 10 g/l, yeast extract 10 g/l,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1.5 g/l และ  $\text{MgSO}_4$  0.2 g/l เมื่อดำเนินการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ให้ความเข้มข้นกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 87.00 g/l

Afolabi และคณะ (2012) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแปงมันสำปะหลังที่ผ่านการไฮโดรไลซิส โดยใช้เชื้อ *L. casei* ในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง พบว่าให้อัตราการผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดเท่ากับ 11.40 g/l/h ความเข้มข้นกรดแลคติกเท่ากับ 25 g/l

Son และ Kwon (2013) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกประเภท L(+) จากแปงโดยใช้เชื้อ *L. manihotivorans* ในกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ พบว่าให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงมากกว่ากระบวนการหมักแบบกะโดยให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดเท่ากับ 71.4 g/l



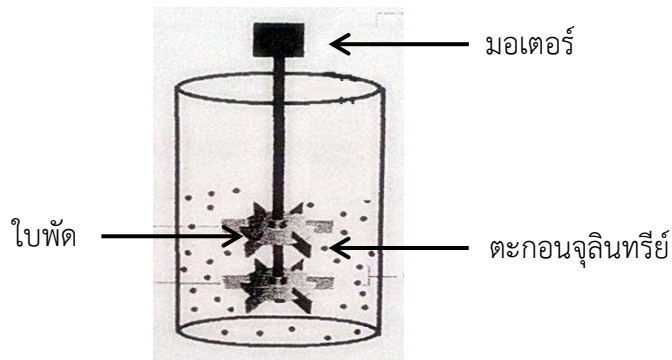


### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 1) ถังปฏิกรณ์ทรงกระบอกทำจากแก้วความจุ 5 l (ปริมาตรใช้งาน 2 l)



ภาพประกอบ 3.1 ลักษณะถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 2) อุปกรณ์พื้นฐานต่างๆในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์
- 3) เครื่อง centrifuge (รุ่น RC5C, Dupo ประเทศญี่ปุ่น)
- 4) เครื่อง spectrophotometer (รุ่น UV-160A, Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น)
- 5) เครื่อง pH meter (รุ่น RS232, Beckman ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 6) เครื่อง macro – kjeldahl nitrogen (รุ่น B324, Büchi ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- 7) เครื่อง hot air oven (รุ่น TK/L 4015, Ehret ประเทศฝรั่งเศส)
- 8) เครื่อง DO meter (รุ่น DO 200, YSI ประเทศจีน)
- 9) วัสดุอุปกรณ์พื้นฐานในการวิเคราะห์น้ำเสีย

##### 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 1) อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Lactobacilli MRS broth (ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย)
- 2) สารเคมีในการวิเคราะห์ COD และ TKN
- 3) สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแป้ง และกรดแลกติก
- 4) สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์



### 3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.3.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาคือแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา เตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์โดยการถ่ายเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 1 ลูบ ลงในอาหารเหลว Lactobacillus MRS ปริมาตร 100 ml ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml จำนวน 5 ขวด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ 10,000g เป็นเวลา 15 นาที ที่ส่วนน้ำใสและนำส่วนของเซลล์เปียกไปปรับค่าความเข้มข้นเซลล์เทียบเท่ากับค่า 0.5 Mcfarland scale (Finegold and Baron, 1986) ดังตาราง 3.1 เพื่อให้ได้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ  $10^8$  CFU/ml

ตาราง 3.1 ตาราง Mcfarland scale (Finegold and Baron, 1986)

	A: % Barium			B: 1% Sulfuric acid							
Mcfarland scale	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A (ml)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
B (ml)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9
App. Cell density ( $\times 10^8$ /ml)	1.5	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

#### 3.3.2 การเตรียมน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์

ละลายส่วนประกอบต่างๆ ดังตาราง 3.2 ในน้ำกลั่น 1 l เติมน้ำแป้งมันสำปะหลัง (40 g) เป็นแหล่งคาร์บอนในน้ำเสีย ปรับค่า pH เท่ากับ  $6.5 \pm 0.2$  น้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่เตรียมได้นี้มีค่า COD เท่ากับ 8,000 mg/l



ตาราง 3.2 ส่วนประกอบของน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์

ส่วนประกอบ	ความเข้มข้น (mg/l)
1. FeCl <sub>3</sub>	2.5
2. CaCl <sub>2</sub>	4.5
3. MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	19
4. KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	30
5. Urea	60
6. NaHCO <sub>3</sub>	342
7. NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	470

### 3.3.3 การผลิตกรดแลคติกแบบขั้นตอนเดียวในระบบการหมักแบบกะซ้ำ

การผลิตกรดแลคติกในงานวิจัยนี้ใช้กระบวนการหมักน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะซ้ำภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ โดยเป็นการการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสม pH เริ่มต้นที่เหมาะสม และความเข้มข้นยูเรียที่เหมาะสม ดังนั้นจึงแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก

เป็นการศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen, DO) 2 ระดับ คือ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในช่วง 1.0 - 1.5 mg/l และน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) เริ่มต้นกระบวนการหมักแบบกะซ้ำสำหรับการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่ 1.0 - 1.5 mg/l โดยเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 4% (ปริมาณความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 10<sup>8</sup> CFU/ml) ลงในถังปฏิกรณ์ที่บรรจุน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ (pH เท่ากับ 6.5±0.2) ปริมาตร 2 l ดำเนินกระบวนการหมักโดยควบคุมค่าออกซิเจนละลายน้ำให้อยู่ระหว่าง 1.0 - 1.5 mg/l

2) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำหมักที่ไม่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอน นำไปวิเคราะห์ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ชีวมวลเซลล์ ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแป้ง COD จนกระทั่งปริมาณแป้งใกล้หมด จากนั้นปิดเครื่องกวนเพื่อตกตะกอนเชื้อจุลินทรีย์ภายในถังปฏิกรณ์ระบายน้ำส่วนบนออกปริมาตร 2 ใน 3 ของน้ำทั้งหมด เติมน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ใหม่ลงไปจนครบปริมาตร 2 l

3) ดำเนินกระบวนการหมักในกะต่อไปด้วยวิธีการเดิม และสิ้นสุดการหมักแบบกะซ้ำเมื่อปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียเริ่มต้นในการหมักกะใดๆ มีค่าลดลงมากกว่า 40%



4) เริ่มต้นกระบวนการหมักแบบกะขี้สำหรับการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l โดยดำเนินการด้วยวิธีการเดียวกันกับที่กล่าวมาในการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่ 1.0 – 1.5 mg/l แต่ใช้การควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l

5) เปรียบเทียบปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซีวมวลเซลล์ ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแป้ง COD ณ เวลาต่างๆ ของการหมัก ระหว่างการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่ 1.0 – 1.5 mg/l กับน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l เลือกค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่ให้การผลิตกรดแลคติกสูงสุดเป็นค่าออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมสำหรับการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 2 การศึกษาค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก

เป็นการศึกษา pH เริ่มต้น 3 ค่า คือ 5.0 5.5 และ 6.5 โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) เริ่มต้นกระบวนการหมักแบบกะขี้สำหรับการศึกษาค่า pH เริ่มต้นที่ 5.0 โดยเติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 4% (ปริมาณความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ  $10^8$  CFU/ml) ลงในถังปฏิกรณ์ที่บรรจุน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ปริมาตร 2 l ที่มี pH เริ่มต้น 5.0 ดำเนินกระบวนการหมักโดยควบคุมค่าออกซิเจนละลายน้ำตามที่ได้จากการทดลองที่ 1

2) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำหมักที่ไม่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอน นำไปวิเคราะห์ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซีวมวลเซลล์ ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแป้ง COD และ TKN จนกระทั่งปริมาณแป้งใกล้หมด จากนั้นปิดเครื่องกวนเพื่อตกตะกอนเชื้อจุลินทรีย์ภายในถังปฏิกรณ์ ระบายน้ำส่วนบนออกปริมาตร 2 ใน 3 ของน้ำทั้งหมด เติมน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ใหม่ลงไปจนครบปริมาตร 2 l

3) ดำเนินกระบวนการหมักในกะต่อไปด้วยวิธีการเดิม และสิ้นสุดการหมักแบบกะขี้เมื่อปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียเริ่มต้นในการหมักกะใดๆ มีค่าลดลงมากกว่า 40%

4) เริ่มต้นกระบวนการหมักแบบกะขี้สำหรับการศึกษาผลของค่า pH เริ่มต้นที่ 5.5 และ 6.5 โดยดำเนินการด้วยวิธีการเดียวกันกับที่กล่าวมาในการศึกษาผลของค่า pH เริ่มต้นที่ 5.0 แต่ป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีค่า pH เริ่มต้นที่ 5.5 และ 6.5 จนสิ้นสุดการทดลองของค่า pH แต่ละค่า

5) เปรียบเทียบปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซีวมวลเซลล์ ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแป้ง COD ณ เวลาต่างๆ ของการหมัก ระหว่างการศึกษาผลของค่า pH เริ่มต้นที่ 5.0 5.5 และ 6.5 เลือกค่า pH เริ่มต้นที่ให้การผลิตกรดแลคติกสูงสุดเป็นค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 3 การศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก





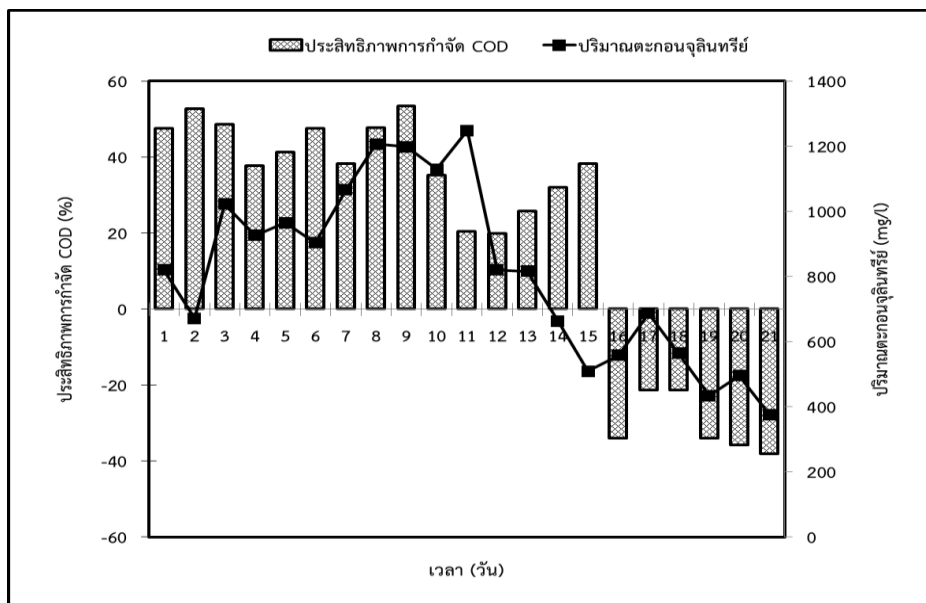
ตะกอนตัวอย่างที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงนำไปวิเคราะห์ปริมาณชีวมวลเซลล์ด้วยวิธีการอบน้ำหนักแห้งที่อุณหภูมิ 103 - 105°C เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ตัวอย่างส่วนที่สองนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียในตะกอนจุลินทรีย์ด้วย spread plate technique โดยใช้อาหาร MRS agar ที่มี 0.2% bromocresol purple เป็นอินดิเคเตอร์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมานับจำนวนโคโลนีโดยเลือกนับเฉพาะโคโลนีที่เปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีเหลืองจากงานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี (Seesuriyachan et al., 2009)



## บทที่ 4

### ผลการวิจัย และการอภิปรายผล

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปรงมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วย กระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ วิทยานิพนธ์นี้เดิมออกแบบให้เป็นการวิจัยด้านการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแปรงมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยระบบเอสปีอาร์ (Sequencing batch reactor) โดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ซึ่งเป็นแลคติกแอซิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลังสำหรับเป็นหัวเชื้อ (Starter หรือ inoculum) ในการเริ่มต้นเดินระบบบำบัด โดยมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติก ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) pH เริ่มต้น และ อัตราคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบ ตลอดจนศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (LAB) ในตะกอนจุลินทรีย์ และ ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย ทำการเริ่มต้นระบบบำบัดเอสปีอาร์ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข โดย น้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบมีค่าความเข้มข้น COD 8,000 mg/l แต่ภายหลังจากทำการเริ่มต้นเดินระบบถึง 4 ครั้ง พบปัญหาในลักษณะเดิมคือ ระบบเกิดการล้มเหลวประมาณวันที่ 16 ของการเริ่มต้นเดินระบบ โดยน้ำเสียในระบบมีลักษณะดำคล้ำ มีกลิ่นเหม็นรุนแรง และตะกอนจุลินทรีย์ไม่ตกตะกอน นอกจากนี้ ประสิทธิภาพการกำจัด COD และปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ลดต่ำลงจนกระทั่งมีค่าติดลบดัง ภาพ 4.1 (ตารางผนวก ข-1.1 และ 1.2) กล่าวคือระบบไม่สามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้



ภาพประกอบ 4.1 ผลของประสิทธิภาพการกำจัด COD และปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ของระบบ เอสปีอาร์ในระหว่างการเริ่มต้นเดินระบบบำบัดน้ำเสียแปรงมันสำปะหลังสังเคราะห์เพื่อผลิตกรดแลคติกด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702



สาเหตุที่ระบบเกิดการล้มเหลวอาจเนื่องมาจากน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบมีค่าความเข้มข้น COD เริ่มต้นสูงเกินกว่าที่หัวเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* MSUL 702 จะทำการกำจัดได้ในแต่ละวัน ทำให้มีสารอินทรีย์สะสมในระบบ และนำไปสู่สภาวะไร้อากาศในบางจุดของบ่อบำบัดที่ส่งเสริมให้เกิดการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ จนกลายเป็นจุลินทรีย์เด่นในระบบบำบัด และทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ต่างๆที่เป็นผลจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ นอกจากนี้การที่เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เป็นจุลินทรีย์กลุ่ม facultative anaerobe (Fu and Mathews, 1999) และต้องการแร่ธาตุในการเจริญมากกว่าแบคทีเรียกลุ่ม anaerobes อื่นๆ ทำให้เมื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นของระบบเอสปีอาร์ที่เดินระบบภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้ออย่างต่อเนื่องหลายวัน *L. plantarum* MSUL 702 จึงไม่สามารถแข่งขันในการเจริญกับแบคทีเรีย anaerobes ต่างๆ ได้ และทำให้เกิดการล้มเหลวของระบบในที่สุด

จากปัญหาการล้มเหลวของการเดินระบบในข้างต้น ดังนั้นจึงได้ปรับทิศทางการวิจัยจากการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยระบบเอสปีอาร์เป็นการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยกระบวนการหมักแบบกะช้ำภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อแทน โดยยังคงใช้ *L. plantarum* MSUL 702 เป็นหัวเชื้อของระบบการผลิตกรดแลคติกเช่นเดิม และปรับวิธีการวิจัยให้สอดคล้องกันดังที่ได้กล่าวรายละเอียดไว้ในบทที่ 3 วิธิดำเนินการวิจัย โดยเป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่างๆ ในการผลิตกรดแลคติก ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสม (1.0 - 1.5 และ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l) ค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสม (5.0 5.5 และ 6.5) และยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสม (0.2% 0.4% และ 0.8%) ผลการศึกษามีรายละเอียดดังต่อไปนี้

#### 4.1 ผลการศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสม

ในการผลิตกรดแลคติกแบบขั้นตอนเดียวจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยกระบวนการหมักแบบกะช้ำด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ น้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบมีค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 8,000 mg/l และ pH เริ่มต้น 6.5 เมื่อทำการแปรผันออกซิเจนละลายน้ำ 2 ระดับ คือ 1.0 - 1.5 mg/l และน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l เพื่อศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก พบว่าได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้



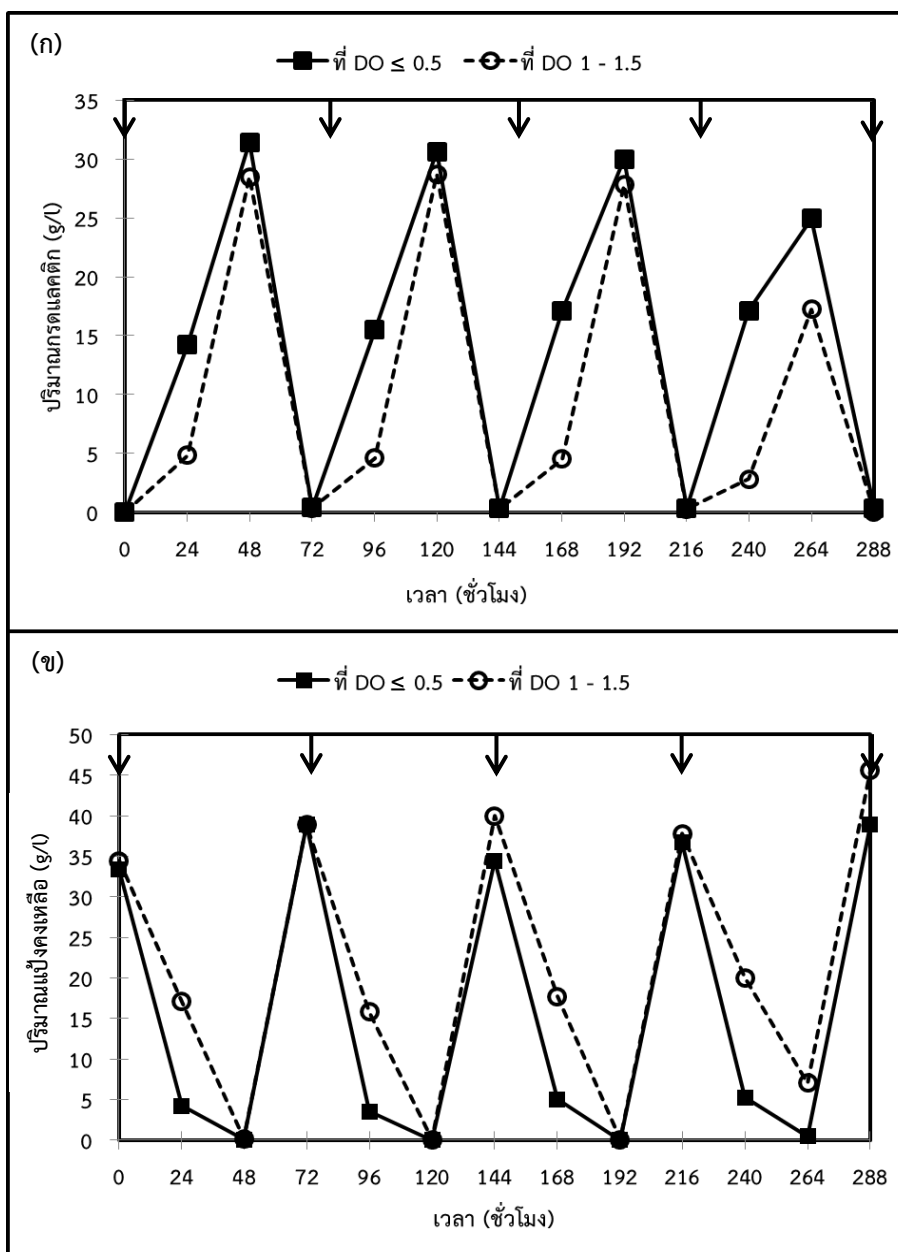


#### 4.1.1 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อการผลิตกรดแลคติก

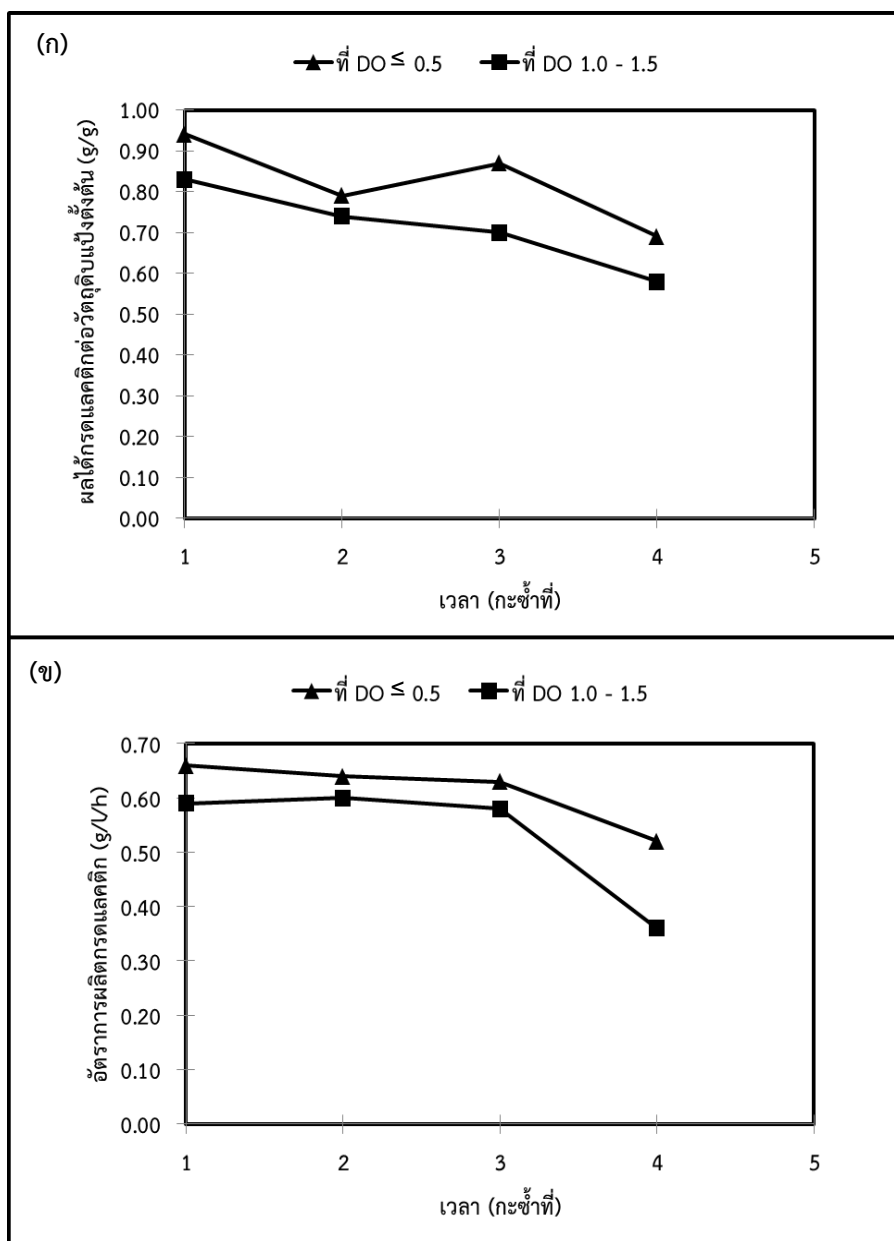
ผลการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l พบว่าสามารถดำเนินกระบวนการหมักได้ทั้งหมด 4 กะช้ำ (แต่ละกะดำเนินกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง) ซึ่งกะช้ำที่ให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดคือกะช้ำที่ 2 (ชั่วโมงที่ 120) โดยให้ค่าปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 28.71 g/l (ภาพประกอบ 4.2 (ก), ตารางภาคผนวก ง-1.1) คิดเป็นผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้น และอัตราการผลิตกรดแลคติกเท่ากับ 0.83 g/g (ภาพประกอบ 4.3 (ก), ตารางภาคผนวก ง-1.2) และ 0.60 g/l/h (ภาพประกอบ 4.3 (ข), ตารางภาคผนวก ง-1.3) ตามลำดับทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงปริมาณกรดแลคติกที่ได้แต่ละกะช้ำพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากทุกกะช้ำมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-1.1)

เมื่อพิจารณาผลการผลิตกรดแลคติกควบคู่ไปกับปริมาณแป้งคงเหลือของการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่สอดคล้องกันกล่าวคือเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 สามารถใช้สารอาหารแป้งในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกได้หมดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักของกะช้ำที่ 1 - 3 และเริ่มใช้สารอาหารแป้งได้น้อยลงจนไม่สามารถใช้สารอาหารแป้งได้หมดในการหมักกะช้ำที่ 4 (ชั่วโมงที่ 264) (ภาพประกอบ 4.2 (ข), ตารางภาคผนวก ง-1.4) โดยมีปริมาณแป้งคงเหลือในระบบเท่ากับ 7.03 g/l





ภาพประกอบ 4.2 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ต่อปริมาณกรดแลคติก (ก) และปริมาณแอมโมเนีย (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (▼ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติม อาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)



ภาพประกอบ 4.3 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อผลได้กรดแลคติก (ก) และอัตราการผลิตกรดแลคติก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะเช้าโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ



สำหรับผลการศึกษากการผลิตรกรดแลคติกภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l นั้นพบว่าสามารถดำเนินกระบวนการหมักได้ทั้งหมด 4 กระเช้าเช่นกัน (แต่ละกระเช้าเป็นกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง) ซึ่งกระเช้าที่ให้ผลการผลิตรกรดแลคติกสูงสุดคือกระเช้าที่ 1 (ในชั่วโมงที่ 48) โดยให้ค่าปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 31.44 g/l (ภาพประกอบ 4.2 (ก), ตารางภาคผนวก ง-1.1) คิดเป็นผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้น และอัตราการผลิตรกรดแลคติกเท่ากับ 0.94 g/g (ภาพประกอบ 4.3 (ก), ตารางภาคผนวก ง-1.2) และ 0.66 g/l/h (ภาพประกอบ 4.3 (ข), ตารางภาคผนวก ง-1.3) ตามลำดับ ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกที่ได้แต่ละกระเช้าทางสถิติพบว่า ปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากทุกกระเช้ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-1.1)

เมื่อพิจารณาผลการผลิตรกรดแลคติกควบคู่ไปกับปริมาณแป้งคงเหลือของการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l พบว่าเป็นไปตามผลการผลิตรกรดแลคติกที่ได้กล่าวคือเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 สามารถใช้สารอาหารแป้งในกระบวนการหมักเพื่อผลิตรกรดแลคติกได้หมดตั้งแต่กระเช้าที่ 1 ไปจนกระทั่งถึงกระเช้าสุดท้ายของกระบวนการหมัก (ภาพประกอบ 4.2 (ข), ตารางภาคผนวก ง-1.4)

จากการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อผลการผลิตรกรดแลคติก เห็นได้ชัดว่าการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้าภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l นั้น ให้ปริมาณกรดแลคติก (31.44 g/l) สูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 1.0 - 1.5 mg/l (28.71 g/l) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-1.2) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาปริมาณแป้งคงเหลือในระบบ กล่าวคือการหมักภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l นั้น จุลินทรีย์ในระบบสามารถใช้แป้งได้หมดในทุกกะช้า (กระเช้าที่ 1 - 4) ในขณะที่การหมักภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 1.0 - 1.5 mg/l ในกะช้าที่ 4 จุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถใช้แป้งได้หมด สาเหตุที่ได้ผลเช่นนี้อาจเนื่องมาจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย หรือขาดอากาศ (Kandler and Weiss, 1986) และสามารถผลิตรกรดแลคติกได้ดีในสภาวะไร้อากาศ ในขณะที่ในสภาวะมีอากาศเชื่อจะมี การเจริญเป็นเซลล์ใหม่ได้ดีกว่าแต่ให้ปริมาณกรดแลคติกที่ต่ำกว่า นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Wenge และ Mathews (1999) ซึ่งได้ปริมาณกรดแลคติกจากการเพาะเลี้ยง *L. plantarum* ในสภาวะไร้อากาศสูงกว่าในสภาวะมีอากาศ ผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้นจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้าภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l ของงานวิจัยนี้ (0.94 g/g ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก) มีค่าต่ำกว่าที่ได้จากงานวิจัยของ Li และคณะ (2010) ที่ผลิตรกรดแลคติกจากแป้งข้าวสาลีที่ผ่านการไฮโดรไลซิสรวมกับน้ำแช่ข้าวโพดโดยใช้เชื้อ *L. rhamnosus* ซึ่งให้ค่าผลได้กรดแลคติกเท่ากับ 0.99 g/g อาจเนื่องมาจากวัตถุดิบแป้งตั้งต้นของงานวิจัยดังกล่าวได้ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรดก่อนนำมาใช้ในกระบวนการหมัก และยังเป็นกระบวนการหมัก



ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อจึงส่งผลให้จุลินทรีย์ในระบบสามารถนำสารอาหารแบ่งไปผลิตกรดแลคติกได้ดีมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการให้ผลได้กรดแลคติกที่ใกล้เคียงกันแต่ใช้ระยะเวลาในการหมักที่สั้นกว่างานวิจัยของ Huang และคณะ (2003) ที่ผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันฝรั่งโดยใช้เชื้อ *Rhizopus arrhizus* ให้ค่าผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้นเท่ากับ 0.95 g/g ในชั่วโมงที่ 52

4.1.2 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์

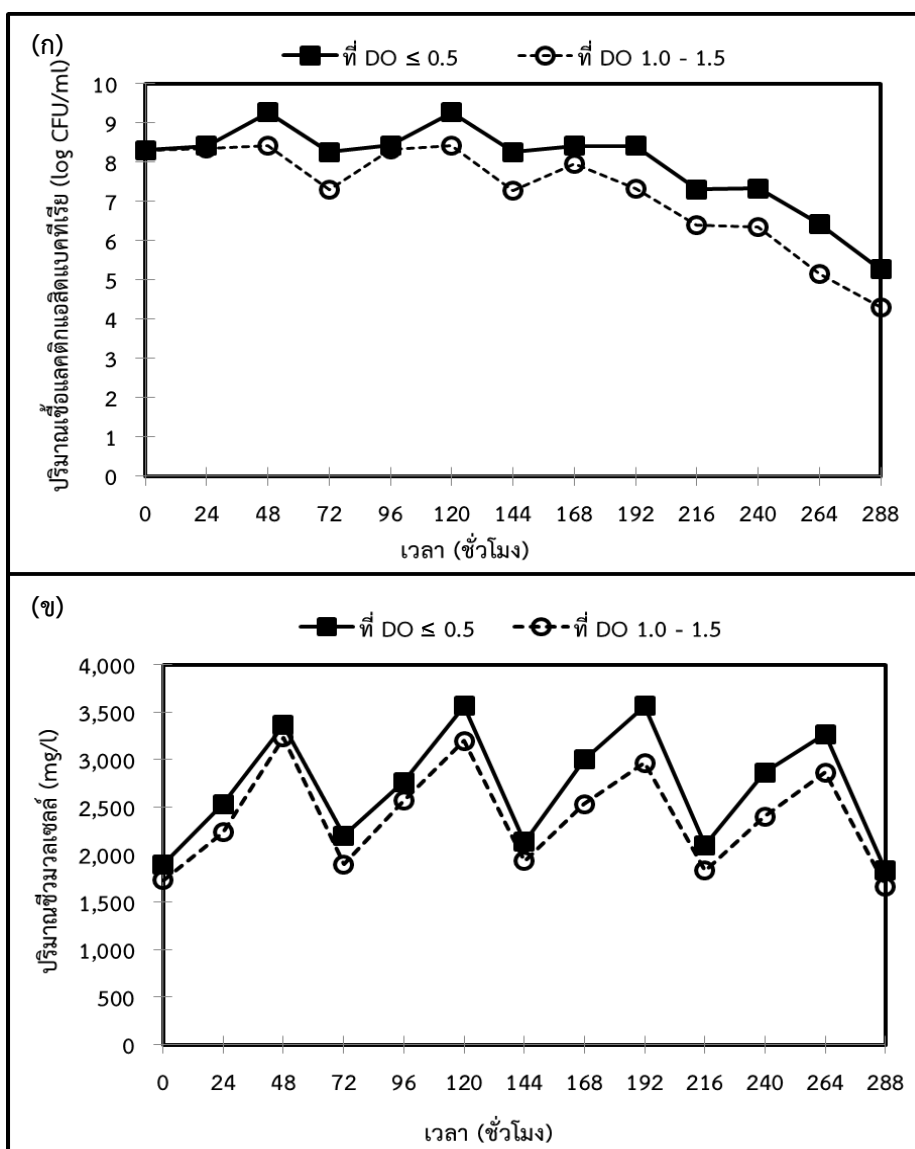
งานวิจัยนี้ทำการศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้จากกระบวนการหมักด้วย เพื่อให้ทราบปริมาณเซลล์แลคติกแอซิติกแบคทีเรียทั้งที่มีชีวิตและ/หรือไม่มีชีวิต ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการพิจารณานำกากเซลล์ที่ได้จากกระบวนการหมักไปใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำไปใช้ผสมกับอาหารสัตว์ (Huang et al., 2008) (Seesuriyachan et al., 2009) (Pervaiz and Sain, 2011) เนื่องจากแลคติกแอซิติกแบคทีเรียโดยเฉพาะ *L. plantarum* เป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เมื่อได้รับในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งเสริมการทำงานของลำไส้ (Sanders, 2009) ในปัจจุบันนอกจากผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกสำหรับคนแล้วยังมีโปรไบโอติกสำหรับเสริมสุขภาพของปศุสัตว์และประมงออกจำหน่ายอีกด้วย ดังในงานวิจัยของ สุขชน และคณะ (มปป.) ที่ทำการศึกษาการเสริมเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียลงในอาหารไก่พบว่าไก่ที่ได้รับเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียละลายน้ำระดับ  $2 \times 10^5$  และ  $1 \times 10^6$  เซลล์/มิลลิลิตร หรือเท่ากับ  $0.9 \times 10^6$  และ  $4.7 \times 10^6$  เซลล์/กรัมอาหาร มีแนวโน้มช่วยปรับปรุงน้ำหนักไข่ ค่าความถ่วงจำเพาะของไข่ และอาหารที่ใช้ในการผลิตไข่ 1 กิโลกรัม ดีกว่ากลุ่มควบคุม และจากหลายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียยังสามารถช่วยในเรื่องของการลดปริมาณคอเลสเตอรอลได้อีกด้วย (Gilliland et al., 1984, Haddadin et al., 1996, James et al., 1999)

ผลการศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้จากการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะขี้ภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l พบว่าในการหมักกะขี้ที่ 2 ให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์สูงสุดเท่ากับ 8.41 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.4 ก), ตารางผนวก ง-1.5) และ 3,200.00 mg/l (ภาพประกอบ 4.4 ข), ตารางผนวก ง-1.6) ตามลำดับ เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ทั้งสองค่าดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมักพบว่ามีความโน้มไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือในช่วงที่ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ผลได้ของกรดแลคติกเพิ่มขึ้นตามไปด้วย เห็นได้จากในช่วงกะขี้ที่ 2 ซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณแลคติกแอซิติกแบคทีเรียสูงสุดในกระบวนการหมักนั้นเป็นช่วงเดียวกันกับที่ให้ผลได้ของกรดแลคติกสูงที่สุดในกระบวนการหมักด้วยเช่นกัน โดยหลังจากนั้นเมื่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียเริ่มลดลงผลได้ของกรดแลคติกก็มีการลดต่ำลงตามไปด้วย



ผลการศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้จากการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะขี้ภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l พบว่าในการหมักกะขี้ที่ 1 ให้ค่าปริมาณเชื้อเห็นได้ชัดว่าภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l ให้ค่าปริมาณกรดแลคติกและชีวมวลเซลล์สูงกว่าภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l เนื่องจาก *L. plantarum* เป็น facultative anaerobe ซึ่งสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะไร้อากาศและขาดอากาศ แต่จะมีเจริญในสภาวะไร้อากาศได้ดีกว่าสภาวะมีอากาศดังที่ได้กล่าวไปแล้ว แลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์สูงสุดเท่ากับ 9.27 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.4 (ก), ตารางผนวก ง-1.5) และ 3,566.67 mg/l (ภาพประกอบ 4.4 (ข), ตารางผนวก ง-1.6) ตามลำดับ เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ทั้งสองมาพิจารณาร่วมกับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมัก พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันเช่นเดียวกันกับการหมักภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l นอกจากนี้พบว่าในงานวิจัยนี้ ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และชีวมวลเซลล์สูงสุดที่ได้จากการหมักในสภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l มีค่าสูงกว่าที่ได้จากงานวิจัยของ Xiaodong และคณะ (1997) ที่ทำการผลิตกรดแลคติกจากแป้งมันสำปะหลัง และแป้งชนิดอื่นๆ ในกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้เชื้อ *L.amylovorus* ATCC 33620 ใน flask ขนาด 500 ml ปริมาตร 250 ml ภายใต้สภาวะไร้อากาศ เนื่องจาก ในงานวิจัยที่นำมาเปรียบเทียบดังกล่าวเป็นการศึกษาในระดับ flask และไม่มีการควบคุมสภาวะปริมาณออกซิเจนที่แน่นอน





ภาพประกอบ 4.4 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ก) และปริมาณชีวมวลเซลล์ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลัง สังเคราะห์แบบกะช้ำโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ



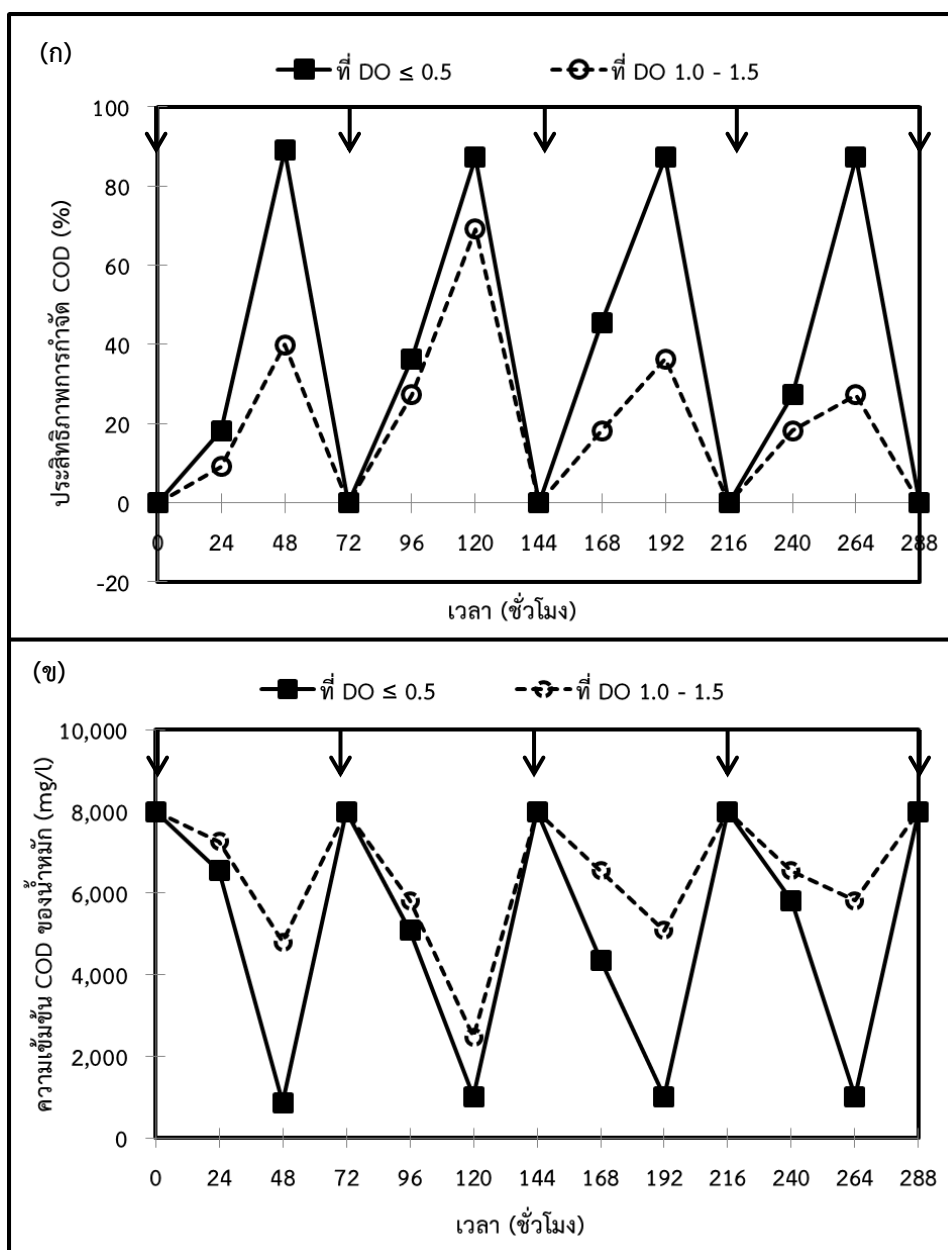
#### 4.1.3 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดในกะขี้ที่ 2 เท่ากับร้อยละ 69.08 (ภาพประกอบ 4.5 (ก), ตารางภาคผนวก ง-1.7) โดยให้ค่าความเข้มข้น COD ของน้ำหมักที่ผ่านการแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกเท่ากับ 2,473 mg/l (ภาพประกอบ 4.5 (ข), ตารางภาคผนวก ง-1.7) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้แต่ละกะขี้พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากกะขี้ที่ 2 ซึ่งเป็นกะขี้ที่ให้ประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกะขี้ที่ 1 3 และ 4 (ตารางผนวก จ-1.3) เมื่อนำค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD มาเปรียบเทียบกับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมักพบว่ามีความสัมพันธ์กันในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือเมื่อประสิทธิภาพการกำจัด COD ในระบบเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสามารถให้เหตุผลได้ว่าเกิดจากการที่เชื้อจุลินทรีย์นำเอาสารอินทรีย์ไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตกรดแลคติก แนวโน้มลักษณะดังกล่าวนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Huang et al. (2003)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดในกะขี้ที่ 1 เท่ากับร้อยละ 89.09 (ภาพ 4.5, ตารางภาคผนวก ง-1.7) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้แต่ละกะขี้พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากกะขี้ที่ 1 มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกะขี้ที่ 2 3 และ 4 (ตารางผนวก จ-1.3) นอกจากนี้พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD และปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมักมีความสัมพันธ์กันในทิศทางเดียวกันกับการหมักภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l







ภาพประกอบ 4.5 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD (ก) และ ความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสีย โรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (▼ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)



ในการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD เห็นได้ชัดว่าการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้ภายใต้สภาวะออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l นั้น ให้ประสิทธิภาพการกำจัด COD (89.09% ในกะขี้ที่ 1) สูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 1.0 - 1.5 mg/l (ร้อยละ 69.09% ในกะขี้ที่ 2) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-1.4) ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l เป็นสภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญของเชื้อมากกว่าภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 1.0 - 1.5 mg/l จึงส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญและใช้สารอินทรีย์เพื่อเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกได้ดีกว่า นอกจากนี้ประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l นี้ ยังให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ใกล้เคียงกัน ประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากงานวิจัยนี้มีค่าใกล้เคียงกับที่ได้จากงานวิจัยของ Huang และคณะ (2003) ซึ่งศึกษาการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียจริงจากโรงงานแป้งมันฝรั่งแบบกะด้วยเชื้อ *Rhizopus arrhizus* โดยเป็นการทดลองในลักษณะขวดเขย่า ที่มีอัตราการเร็วในการเขย่า 150 รอบต่อนาที เพื่อเป็นการเติมออกซิเจนให้แก่เชื้อราซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการใช้ออกซิเจนในการเจริญ ดังนั้นหากพิจารณาด้านการประหยัดพลังงาน การผลิตกรดแลคติกด้วยแลคติกแอซิดแบคทีเรียจึงมีข้อได้เปรียบมากกว่า

จากการศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกพบว่าภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l ให้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ (ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ปริมาณชีวมวลเซลล์ และประสิทธิภาพการกำจัด COD) ของระบบสูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 1.0 - 1.5 mg/l ดังนั้นจึงเลือกปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l เป็นสภาวะออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการศึกษา pH เริ่มต้นที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป

#### 4.2 ผลการศึกษา pH เริ่มต้นที่เหมาะสม

ในการผลิตกรดแลคติกแบบขั้นตอนเดียวจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น โดยน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบมีค่า COD เริ่มต้น 8,000 mg/l และควบคุมค่า DO ให้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l เมื่อทำการแปรผัน pH เริ่มต้นของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบ 3 ค่า คือ 5.0 5.5 และ 6.5 ตามลำดับ เพื่อศึกษา pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก พบว่าได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

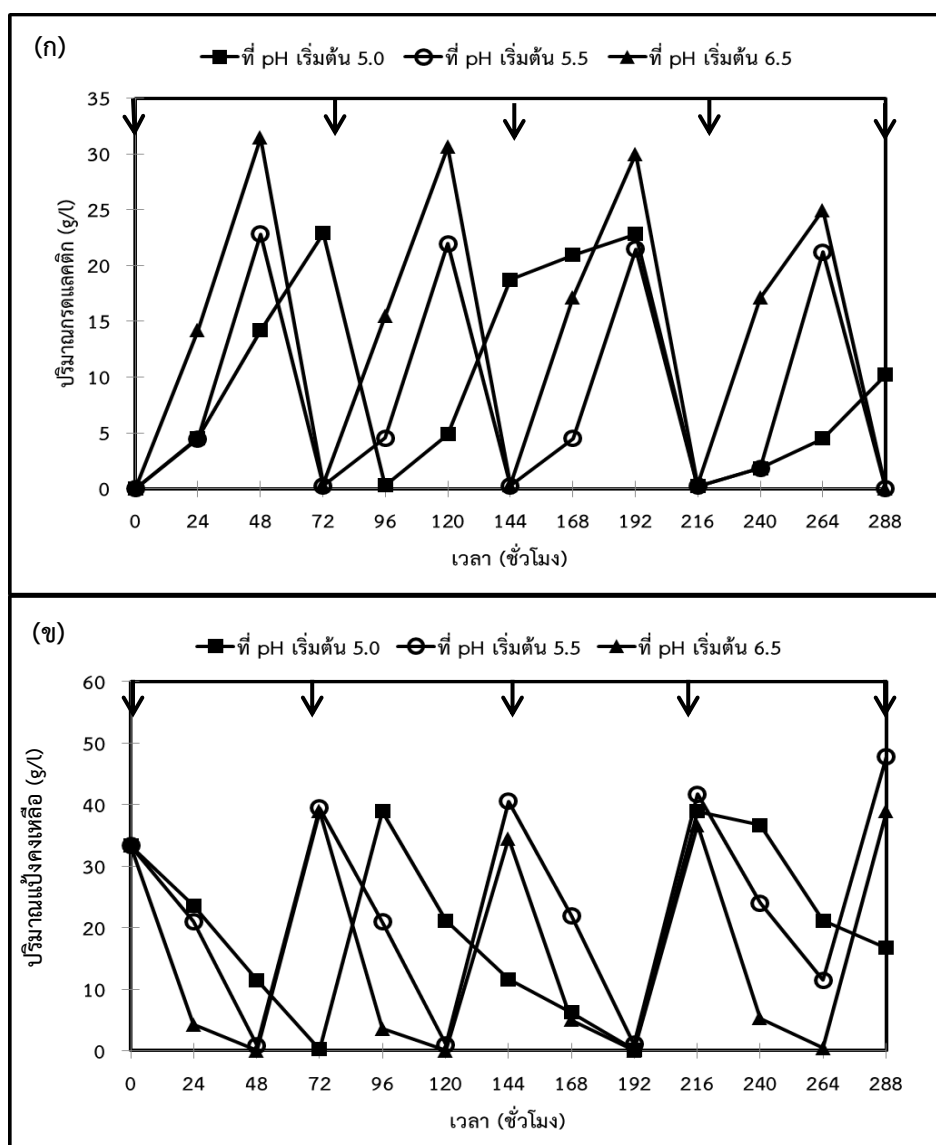


#### 4.2.1 ผลของ pH เริ่มต้นต่อการผลิตกรดแลคติก

ผลการศึกษาการผลิตกรดแลคติกภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 พบว่าการผลิตกรดแลคติกให้ได้สูงในแต่ละกะชั้้นนั้นเป็นไปอย่างช้ามาก (แต่ละกะดำเนินกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง) และสามารถเดินระบบได้เพียงแค่ 3 กะชั้้นเท่านั้น ซึ่งกะชั้้นที่ให้ผลการผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดคือกะชั้้นที่ 1 (ชั่วโมงที่ 72) โดยให้ค่าปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 22.89 g/l (ภาพประกอบ 4.6 (ก), ตารางภาคผนวก ง-2.1) คิดเป็นผลได้กรดแลคติกต่อวัตฤติบแ่งตั้งต้น และอัตราการผลิตกรดแลคติกเท่ากับ 0.70 g/g (ภาพ 4.7 (ก), ตารางภาคผนวก ง-2.2) และ 0.32 g/l/h (ภาพประกอบ 4.7 (ข), ตารางภาคผนวก ง-2.3) ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงปริมาณกรดแลคติกที่ได้แต่ละกะชั้้นพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากทุกกะชั้้นมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-2.1)

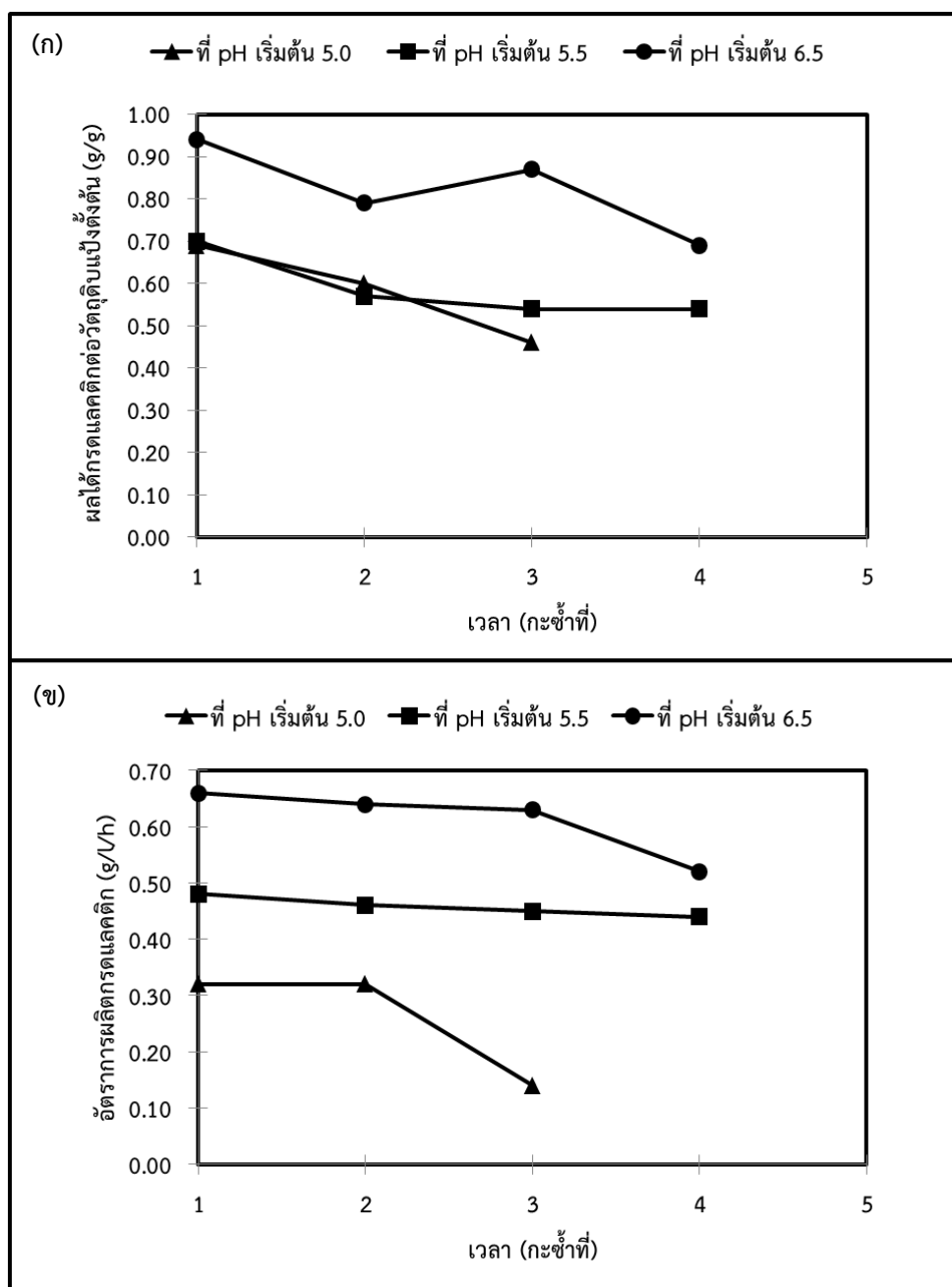
เมื่อพิจารณาผลการผลิตกรดแลคติกควบคู่ไปกับปริมาณแ่งคงเหลือของการหมักน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่สอดคล้องกันกล่าวคือเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 สามารถใช้สารอาหารแ่งในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกได้ช้ามากตั้งแต่กะชั้้นที่ 2 และไม่สามารถใช้สารอาหารแ่งได้หมดเมื่อกระบวนการหมักเข้าสู่กะชั้้นที่ 3 (ภาพประกอบ 4.6 (ข), ตารางภาคผนวก ง-2.4) โดยมีปริมาณแ่งคงเหลือในระบบเท่ากับ 16.69 g/l





ภาพประกอบ 4.6 ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณกรดแลคติก (ก) และปริมาณแป้งคงเหลือ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้โดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (V คือช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่ เข้าสู่กระบวนการหมัก)





ภาพประกอบ 4.7 ผลของ pH เริ่มต้นต่อผลได้กรดแลคติก (ก) และอัตราการผลิตกรดแลคติก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปรงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะเช้าโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดภัย

ผลการศึกษาการผลิตกรดแลคติกภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแปรงมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 พบว่าสามารถดำเนินกระบวนการหมักได้ทั้งหมด 4 กะเช้า (แต่ละกะดำเนินกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง) ซึ่งกะเช้าที่ให้ผลการผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดคือกะเช้าที่ 2 (ชั่วโมงที่ 120) โดยให้ค่าปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 22.81 g/l (ภาพประกอบ 4.6 (ก), ตาราง





จากการศึกษาผลของ pH เริ่มต้นของน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบต่อผลการผลิตกรดแลคติก เห็นได้ชัดว่าการหมักน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 นั้น ให้ปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และ 5.5 ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษางานวิจัยของ Al-Asady (2012) ที่พบว่ากระบวนการหมักภายใต้สภาวะ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ให้ปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าภายใต้สภาวะ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และ 5.5 เช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Panda et al. (2008) ที่ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแ่งด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* MTCC 1407 ภายใต้การควบคุมสภาวะ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ทั้งนี้ Fossi และคณะ (2011) พบว่าเมื่อค่า pH ที่ใช้ในกระบวนการหมักกรดแลคติกลดลงต่ำกว่า 6.5 ส่งผลให้ผลผลิตกรดแลคติกลดลงตามด้วย ดังงานวิจัยของ Hofvendahl และคณะ (1999) ที่ทำการศึกษาผลของค่า pH ต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 ซึ่งพบว่ากระบวนการหมักกรดแลคติกภายใต้การควบคุม pH เริ่มต้น 6.5 ให้ค่าผลได้กรดแลคติกสูงที่สุดในขณะที่กระบวนการหมักที่ค่า pH เท่ากับ 5.0 พบว่าส่งผลให้ผลได้กรดแลคติก และมวลเซลล์ลดลง เนื่องจากค่า pH ที่ลดต่ำลงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบว่าค่า pH ระหว่าง 5.0 - 5.7 ส่งผลให้เกิดการสะสมแอนไอออนแลคเตทภายในเซลล์ (Russel, 1992) ซึ่งเป็นตัวขัดขวางไม่ให้เกิดการสังเคราะห์พลังงาน ATP (Kashket, 1987) และยับยั้งการเจริญ อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าปริมาณกรดแลคติกที่ได้จาก pH เริ่มต้นของน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบทั้ง 3 สภาวะ มาเปรียบเทียบกับทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ( $P \geq 0.5$ ) (ตารางภาคผนวก จ-2.2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากช่วง pH ทั้ง 3 ค่าที่ศึกษานี้เป็นช่วงของค่า pH ที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดี ซึ่ง Hofvendahl และคณะ (2000) กล่าวว่าค่า pH ที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักกรดแลคติกโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีค่าอยู่ระหว่าง 5 - 7

#### 4.2.2 ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวล เซลล์

ผลการศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้จากการหมักน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะขี้ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 พบว่าการเพิ่มจำนวนของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์เป็นไปค่อนข้างช้า (1 กะขี้ใช้ระยะเวลา 72 ชั่วโมง) โดยให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์สูงสุดในกะขี้ที่ 1 เท่ากับ 9.12 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.8 (ก), ตารางผนวก ง-2.5) และ 2,100.00 mg/l (ภาพประกอบ 4.8 (ข), ตารางผนวก ง-2.6) ตามลำดับ เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ทั้งสองค่าดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมักพบว่ามีความโน้มไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือระบบให้ปริมาณกรดแล



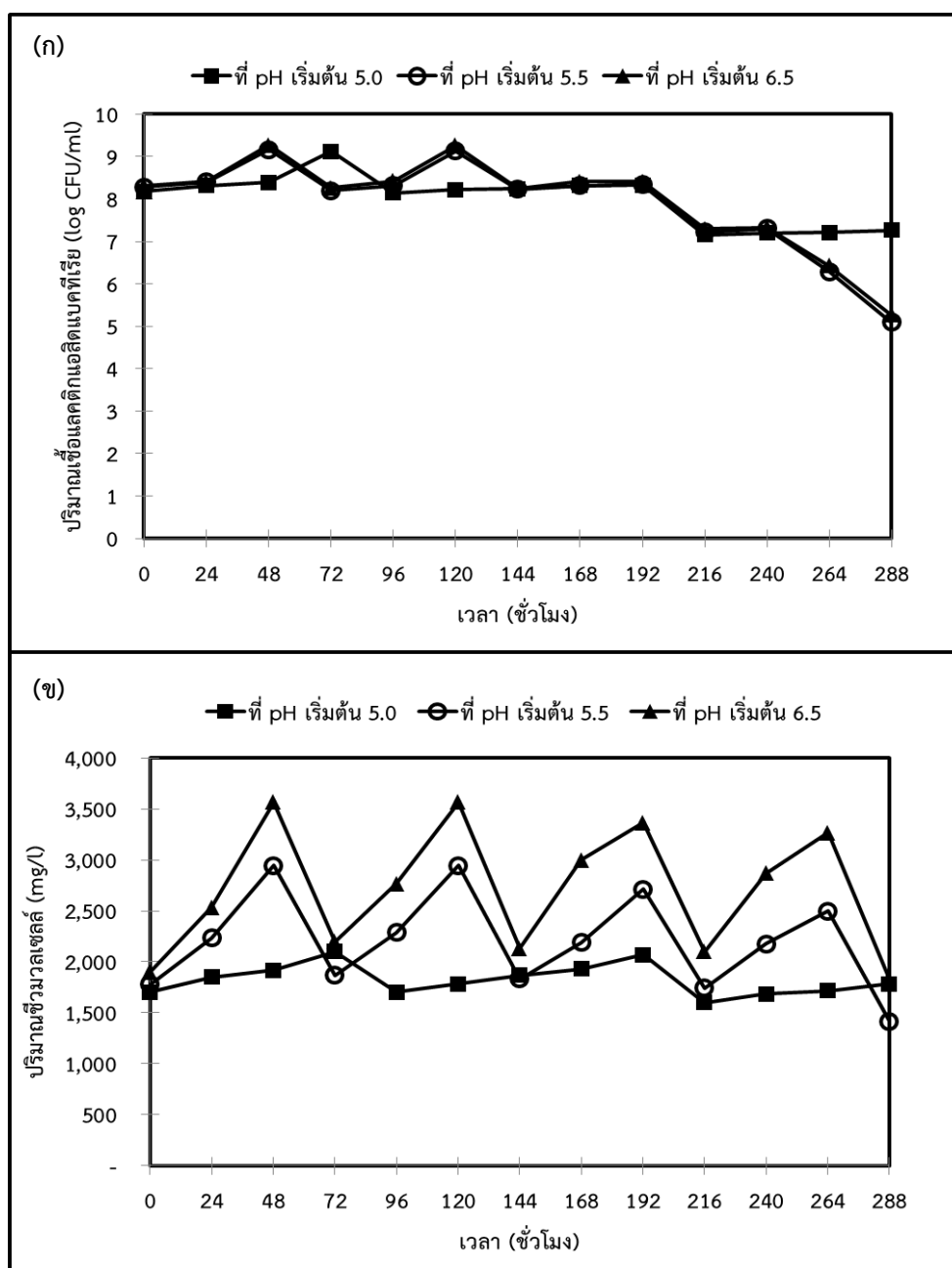
คคติกสูงในกะข้ำที่ 1 เท่านั้น จากนั้นเริ่มลดต่ำลงตามค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และเนื่องจากเหลือปริมาณหัวเชื้ออยู่ในระบบน้อยเกินไปจึงทำให้ต้องสิ้นสุดกระบวนการที่กะข้ำที่ 3

ผลการศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้จากการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะข้ำภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 พบว่าในการหมักกะข้ำที่ 1 (ชั่วโมงที่ 48) ให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์สูงสุดเท่ากับ 9.17 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.8 (ก), ตารางผนวก ง-2.5) และ 2,944.44 mg/l (ภาพประกอบ 4.8 (ข), ตารางผนวก ง-2.6) ตามลำดับ เห็นได้ว่าเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 สามารถเจริญหรือเพิ่มจำนวนภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้ได้ไปจนกระทั่งถึงกะข้ำที่ 4 โดยให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียในแต่ละกะข้ำใกล้เคียงกันตลอดทั้งกระบวนการหมัก เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ทั้งสองมาพิจารณาร่วมกับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมัก พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้

สำหรับผลการศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้จากการหมักน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะข้ำภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 พบว่าในการหมักกะข้ำที่ 1 (ชั่วโมงที่ 48) ให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์สูงสุดเท่ากับ 9.27 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.8 (ก), ตารางผนวก ง-2.5) และ 3,566.67 mg/l (ภาพประกอบ 4.8 (ข), ตารางผนวก ง-2.6) ตามลำดับ เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ทั้งสองมาพิจารณาร่วมกับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมัก พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันเช่นเดียวกับภายใต้สภาวะกันกับการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และ 5. จากการศึกษาผลของผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ พบว่าภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และชีวมวลเซลล์สูงกว่าการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มี pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และ 5.5 ซึ่งปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และชีวมวลเซลล์ที่อยู่ในระบบสามารถส่งผลต่อการผลิตกรดแลคติกด้วย เห็นได้จากการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ให้ผลปริมาณเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และชีวมวลเซลล์สูงที่สุดในการทดลองนี้ จึงส่งผลให้ได้ผลกรดแลคติกสูงที่สุดของการทดลองนี้ด้วยเช่นกัน







ภาพประกอบ 4.8 ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ก) และปริมาณชีวมวลเซลล์ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะช้าโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ



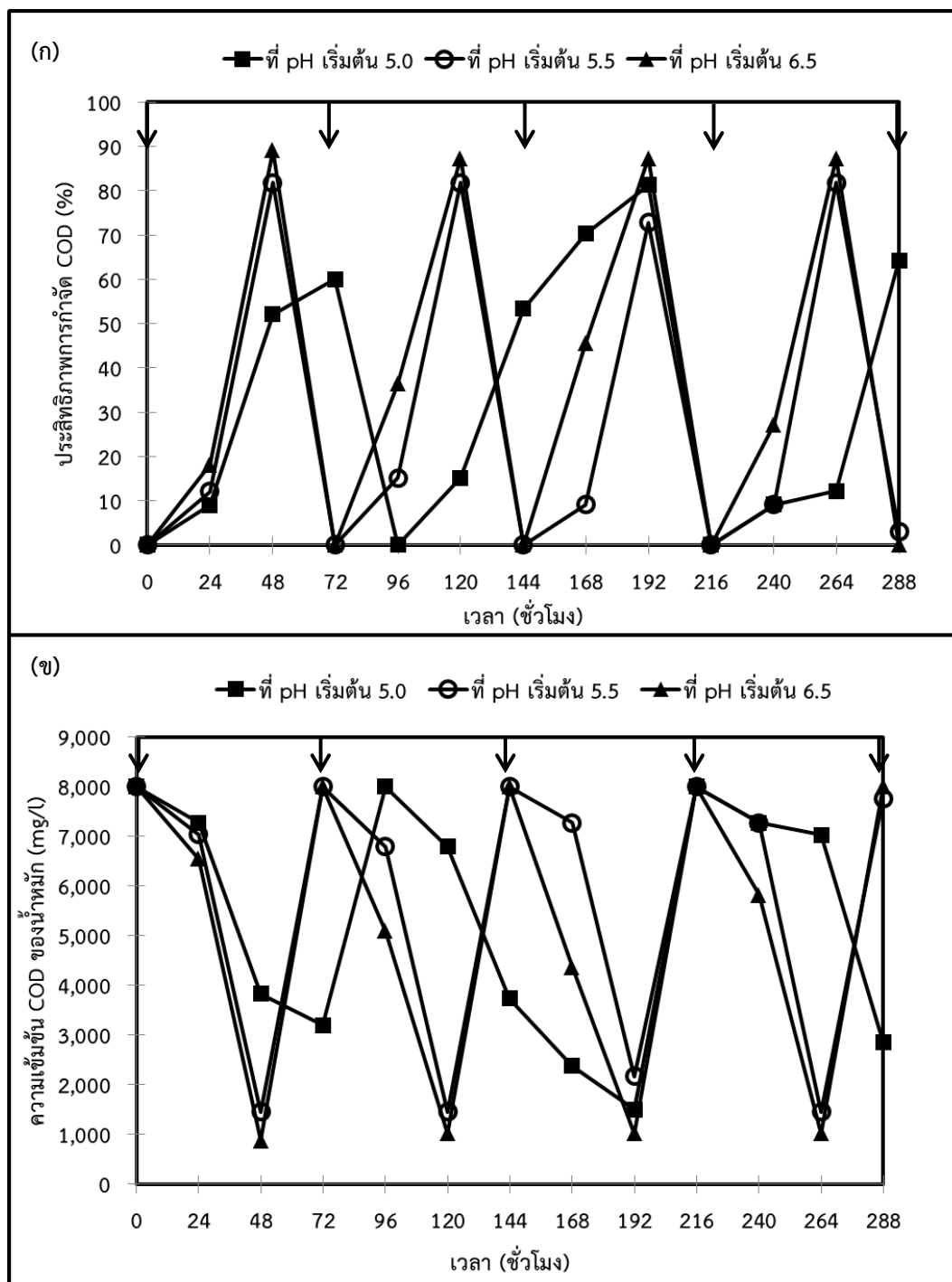
#### 4.2.3 ผลของ pH เริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ให้ประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงสุดในกะช้ำที่ 3 ของกระบวนการหมักเท่ากับ 81.23% (ภาพประกอบ 4.9 (ก), ตารางภาคผนวก ง-2.7) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้แต่ละกะช้ำพบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากทุกกะช้ำมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-2.3) จากภาพประกอบ 4.9 (ก) เห็นได้ว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากระบบลดลงอย่างต่อเนื่อง และสิ้นสุดกระบวนการหมักในกะช้ำที่ 3

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดในกะช้ำที่ 1 เท่ากับ 81.84% (ภาพประกอบ 4.9 (ก), ตารางภาคผนวก ง-2.7) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้แต่ละกะช้ำพบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากกะช้ำที่ 1 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับประสิทธิภาพการกำจัด COD ในกะช้ำที่ 2 แต่ไม่แตกต่างกันกับกะช้ำที่ 3 และ 4 ( $P \geq 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-2.3)

สำหรับผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดในกะช้ำที่ 1 เท่ากับ 89.09% และให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ไม่ต่ำกว่า 80% ในทุกกะช้ำของกระบวนการหมัก (ภาพประกอบ 4.9 (ก), ตารางภาคผนวก ง-2.7) และพบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากจากกะช้ำที่ 1 มีค่าแตกต่างกันกับกะช้ำที่ 2 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-2.3)





ภาพประกอบ 4.9 ผลของ pH เริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD (ก) และความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลัง สังกะหรณ์แบบกะซำโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (▼ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)



สำหรับการศึกษาผลของ pH เริ่มต้นของน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD เห็นได้ชัดว่าการหมักน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขี้ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 นั้น ให้ประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และ 5.5 ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 เป็นสภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญของเชื้อมากที่สุด จึงส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญและใช้สารอินทรีย์เพื่อเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกได้ดีกว่า

จากผลการศึกษาที่ได้บ่งชี้ว่าการหมักน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ให้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ (ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ปริมาณชีวมวลเซลล์ และประสิทธิภาพการกำจัด COD) ของระบบสูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และ 5.5 ดังนั้นจึงเลือกการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ pH เริ่มต้น 6.5 เป็นสภาวะ pH เริ่มต้นที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาความเข้มข้นยูเรียที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป

#### 4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสม

ในการผลิตกรดแลคติกแบบขั้นตอนเดียวจากน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นโดยน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบมี pH เริ่มต้น 6.5 ค่า COD 8,000 mg/l และควบคุมค่า DO ให้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l เมื่อทำการแปรผันความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบ 3 ค่า คือ 0.2 0.4 และ 0.8% (w/v) ตามลำดับ เพื่อศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก พบว่าได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

##### 4.3.1 ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อการผลิตกรดแลคติก

ผลการศึกษาการผลิตกรดแลคติกภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) นั้นพบว่าสามารถดำเนินกระบวนการหมักได้ทั้งหมด 4 กะขี้ (แต่ละกะดำเนินการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง) ซึ่งกะขี้ที่ให้ผลการผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดคือกะขี้ที่ 2 (ชั่วโมงที่ 120) โดยให้ค่าปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 34.13 g/l (ภาพประกอบ 4.10 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.1) คิดเป็นผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแ่งตั้งต้น และอัตราการผลิตกรดแลคติกเท่ากับ 0.99 g/g (ภาพประกอบ 4.11 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.2) และ 0.71 g/l/h (ภาพประกอบ 4.11 (ข), ตารางภาคผนวก ง-3.3) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสถิติถึงปริมาณกรดแลคติกที่ได้แต่ละกะขี้พบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกะขี้มีค่าใกล้เคียงกันตลอดทั้งกระบวนการหมักและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P \geq 0.05$ ) (ตารางผนวก ง-3.1)

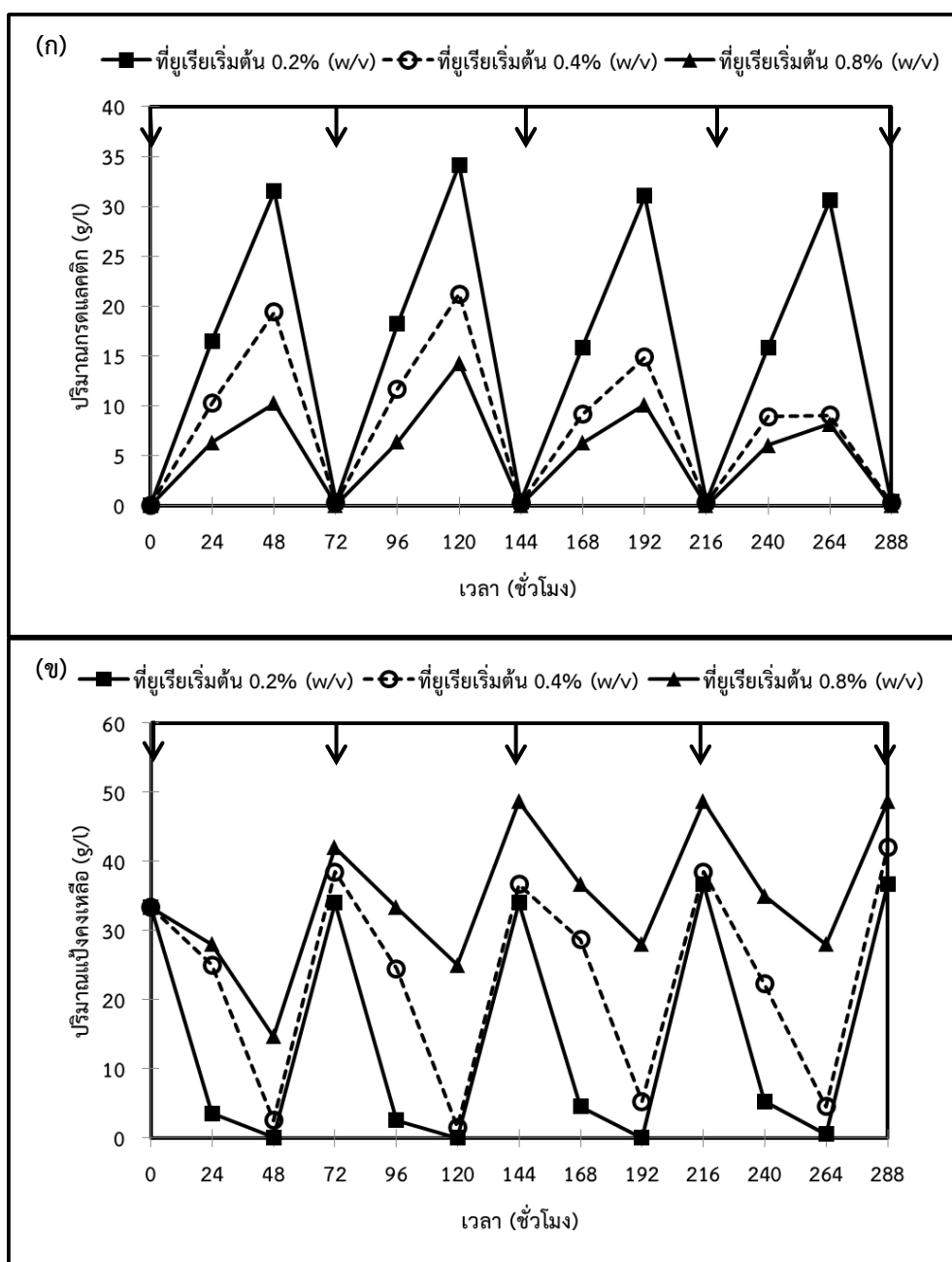


เมื่อพิจารณาผลการผลิตกรดแลคติกควบคู่ไปกับปริมาณแป้งคงเหลือของการหมักน้ำเสีย แป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) พบว่าเป็นไปตามผลผลิตกรดแลคติกที่ได้ กล่าวคือเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 สามารถใช้สารอาหารแป้งในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกได้หมด ตั้งแต่กะเช้าที่ 1 ไปจนกระทั่งถึงกะเช้าสุดท้ายของกระบวนการหมัก (ภาพประกอบ 4.10 (ข), ตาราง ภาคผนวก ง-3.4)

ผลการศึกษากการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะเช้าภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.4% (w/v) พบว่าสามารถดำเนินกระบวนการหมักได้ทั้งหมด 4 กะเช้า (แต่ละกะดำเนินกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง) ซึ่งกะเช้าที่ให้ผลการผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดคือกะเช้าที่ 2 (ชั่วโมงที่ 120) โดยให้ค่าปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 21.23 g/l (ภาพประกอบ 4.10 (ก), ตาราง ภาคผนวก ง-3.1) คิดเป็นผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้น และอัตราการผลิตกรดแลคติกเท่ากับ 0.63 g/g (ภาพประกอบ 4.11 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.2) และ 0.44 g/l/h (ภาพประกอบ 4.11 (ข), ตารางภาคผนวก ง-3.3) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงปริมาณกรดแลคติกที่ได้แต่ละกะเช้า พบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกะเช้าที่ 1 และ 2 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-3.1) กับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกะเช้าที่ 3 และ 4 ของกระบวนการหมัก

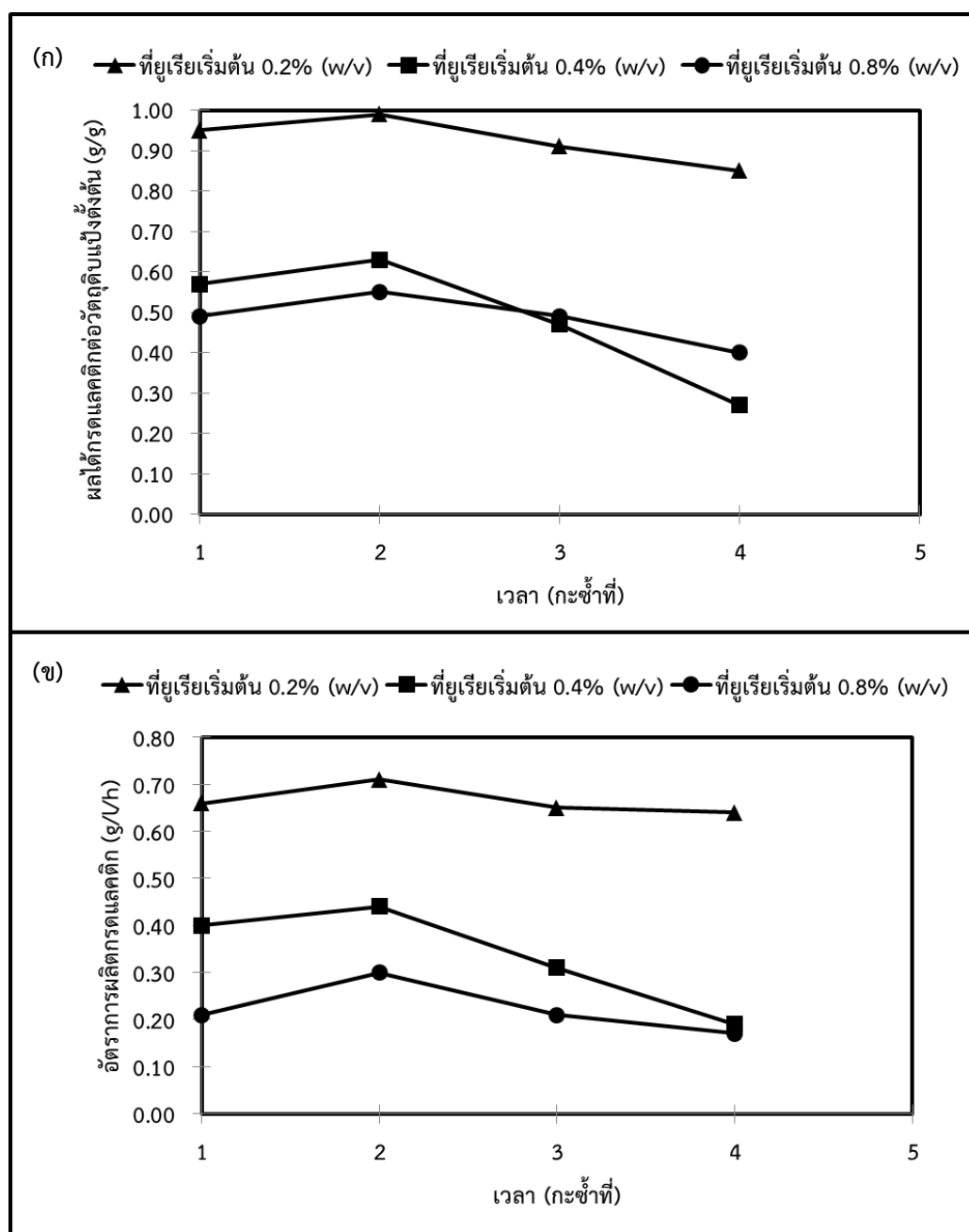
เมื่อพิจารณาผลการผลิตกรดแลคติกควบคู่ไปกับปริมาณแป้งคงเหลือของการหมักน้ำเสีย แป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.4% (w/v) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่สอดคล้องกัน กล่าวคือเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 สามารถใช้สารอาหารแป้งในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกได้หมดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักของกะเช้าที่ 1 - 2 และเริ่มใช้สารอาหารแป้งได้น้อยลงจนไม่สามารถใช้สารอาหารแป้งได้หมดในการหมักกะเช้าที่ 4 (ชั่วโมงที่ 264) (ภาพ 4.10 (ข), ตารางภาคผนวก ง-3.4) โดยมีปริมาณแป้งคงเหลือในระบบเท่ากับ 4.53 g/l





ภาพประกอบ 4.10 ผลของความเข้มข้นยีสเริ่มตันต่อปริมาณกรดแลคติก (ก) และปริมาณแอลกอฮอล์ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะซำโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (▼ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)





ภาพประกอบ 4.11 ผลของความเข้มข้นยู่เรียเริ่มต้นต่อผลได้กรดแลคติก (ก) และอัตราการผลิตกรดแลคติก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแปรงมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะเช้าใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ



สำหรับผลการศึกษาการผลิตกรดแลคติกภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.8% (w/v) พบว่าให้ผลการผลิตกรดแลคติกในแต่ละกะซ้ำของการหมักค่อนข้างต่ำ ซึ่งกะซ้ำที่ให้ผลการผลิตกรดแลคติกสูงที่สุดของการทดลองนี้คือกะซ้ำที่ 2 (ชั่วโมงที่ 120) โดยให้ค่าปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 14.28 g/L (ภาพประกอบ 4.10 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.1) คิดเป็นผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแ่งตั้งต้น และอัตราการผลิตกรดแลคติกเท่ากับ 0.55 g/g (ภาพประกอบ 4.11 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.2) และ 0.30 g/L/h (ภาพประกอบ 4.11 (ข), ตารางภาคผนวก ง-3.3) ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับทางสถิติถึงปริมาณกรดแลคติกที่ได้แต่ละกะซ้ำพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกะซ้ำที่ 1 และ 3 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-3.1) กับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการหมักในกะซ้ำที่ 2 และ 4

เมื่อพิจารณาผลการผลิตกรดแลคติกควบคู่ไปกับปริมาณแ่งคองเหลือของการหมักน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.8% (w/v) พบว่าเป็นไปตามปริมาณกรดแลคติกที่ได้ กล่าวคือเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 สามารถใช้สารอาหารแ่งในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกได้น้อยมาก เห็นได้ว่าตั้งแต่ในกะซ้ำที่ 1 จนกระทั่งถึงกะซ้ำที่ 4 ซึ่งเป็นกะซ้ำสุดท้ายของกระบวนการหมักไม่มีกะซ้ำใดเลยที่เชื้อจุลินทรีย์ในระบบสามารถใช้สารอาหารแ่งได้หมด อีกทั้งยังมีปริมาณแ่งคองเหลือตกค้างในกระบวนการหมักกะซ้ำสุดท้ายเป็นปริมาณมากเท่ากับ 28.02 g/L (ภาพประกอบ 4.10 (ข), ตารางภาคผนวก ง-3.4)

จากการศึกษาผลความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบต่อผลการผลิตกรดแลคติก เห็นได้ชัดว่าการหมักน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะซ้ำภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) นั้น ให้ปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.4 และ 0.8% (w/v) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-3.2) ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกันกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2007) ที่พบว่าการใช้ยูเรียในปริมาณ 0.22% (w/v) เป็นแหล่งไนโตรเจนให้ปริมาณกรดแลคติกสูงที่สุดในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียแ่งมันฝรั่งด้วยเชื้อ *Rhizopus arrhizus* ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการหมักภายใต้สภาวะที่ป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.4 และ 0.8% (w/v) อาจมีส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่ไม่เหมาะสมจึงทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรีย และการผลิตกรดแลคติก ในขณะที่กระบวนการหมักภายใต้สภาวะที่ป้อนด้วยน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) มีปริมาณไนโตรเจนในระบบที่เหมาะสมมากกว่า จึงส่งผลให้เชื้อแลคติกแอซิติกแบคทีเรียในกระบวนการหมักสามารถเจริญ และผลิตกรดแลคติกได้สูงมากกว่า

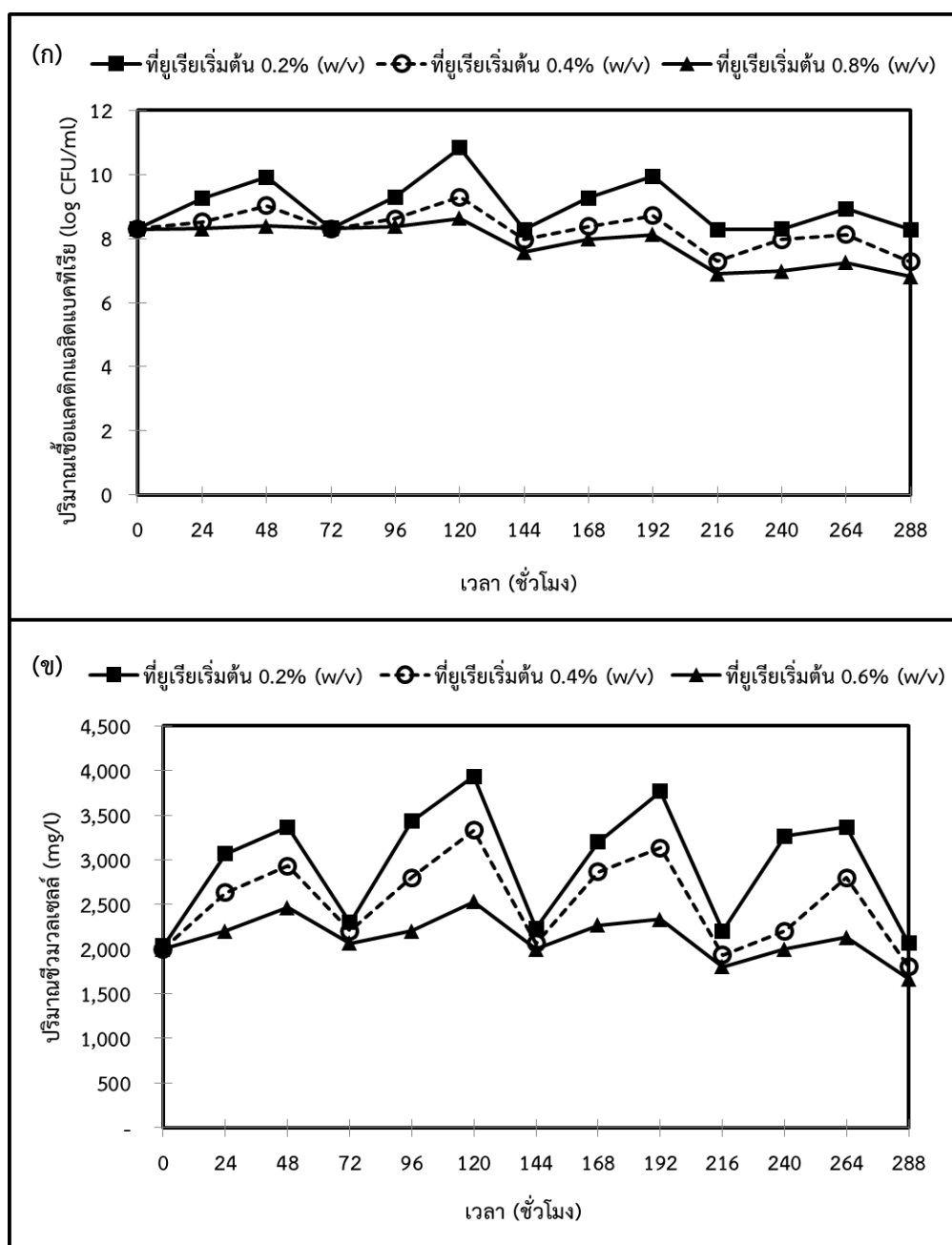




#### 4.3.2 ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และ ปริมาณชีวมวลเซลล์

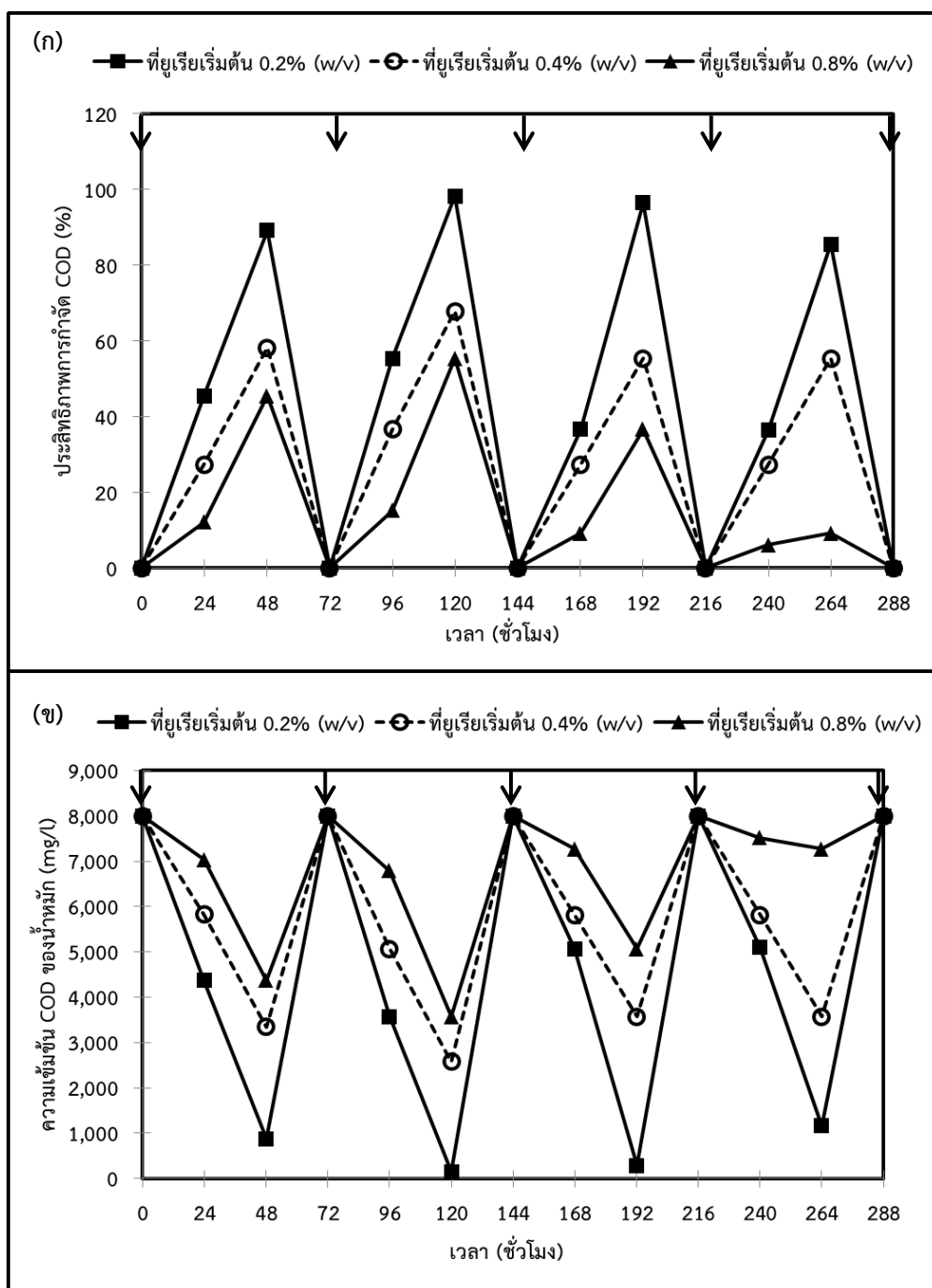
ผลการศึกษาปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์ที่ได้จากการหมักน้ำเสียแบริ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 แบบกะขี้ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแบริ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) พบว่าในการหมักกะขี้ที่ 2 ให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์สูงสุดเท่ากับ 10.83 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.12 (ก), ตารางผนวก ง-3.5) และ 3,933.33 mg/l (ภาพประกอบ 4.12 (ข), ตารางผนวก ง-3.6) ตามลำดับ แต่เมื่อป้อนน้ำเสียแบริ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.4% (w/v) พบว่าในการหมักกะขี้ที่ 2 ให้ค่าปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์สูงสุดเท่ากับ 9.29 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.12 (ก), ตารางผนวก ง-3.5) และ 3,333.33 mg/l (ภาพประกอบ 4.12 (ข), ตารางผนวก ง-3.6) ตามลำดับ และพบว่าการใช้ น้ำเสียแบริ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.8% (w/v) ทำให้ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และปริมาณชีวมวลเซลล์มีค่าลดต่ำลงไปอีก โดยปริมาณสูงสุดที่ได้มาจากการหมักกะขี้ที่ 2 ด้วยค่าเท่ากับ 9.12 log CFU/ml (ภาพประกอบ 4.12 (ก), ตารางผนวก ง-3.5) และ 2,100.00 mg/l (ภาพประกอบ 4.12 (ข), ตารางผนวก ง-3.6) ผลการศึกษาที่ได้นี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ghasemi และคณะ (2009) ที่พบว่าการเติมสารอาหารเสริมจำพวกแหล่งไนโตรเจนที่มากเกินไปไม่ได้ส่งผลดีต่อการเจริญของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และการผลิตกรดแลคติก เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ทั้งสองมาพิจารณาพร้อมกับปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากกระบวนการหมัก พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน





ภาพประกอบ 4.12 ผลของความเข้มข้นยู่เรียเริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ก) และปริมาณชีวมวลเซลล์ (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์แบบกะขำโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้อากาศไม่ปลอดเชื้อ





ภาพประกอบ 4.13 ผลของความเข้มข้นยู่เรียเริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD (ก) และความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (ข) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลัง สังกะหรณ์แบบกะช้าโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ (▼ คือ ช่วงเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าสู่กระบวนการหมัก)



#### 4.3.3 ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการกำจัด COD

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดในกะขี้ที่ 2 เท่ากับ 98.21% ซึ่งค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าไม่ต่ำกว่า 80% ในทุกกะขี้ของกระบวนการหมัก (ภาพประกอบ 4.13 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.7) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้แต่ละกะขี้พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากทุกกะขี้มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-3.3) ทั้งนี้ค่าความเข้มข้น COD ของน้ำหมักมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 140 - 900 mg/l ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่า COD ที่กำหนดไว้ในมาตรฐานน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม (ภาคผนวก ค) พบว่าน้ำหมักที่ได้จากกระบวนการผลิตกรดแลคติกนี้ยังไม่สามารถระบายสู่แหล่งรับน้ำสาธารณะได้

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.4% (w/v) พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดในกะขี้ที่ 2 เท่ากับ 67.80% (ภาพประกอบ 4.13 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.7) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้แต่ละกะขี้พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากกะขี้ที่ 1 และ 2 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-3.3) กับประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากกะขี้ที่ 3 และ 4 ของกระบวนการหมัก ทั้งนี้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าต่ำกว่าที่ได้จากการหมักภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของไนโตรเจนเริ่มต้นในระบบมีความไม่เหมาะสมจึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดนั้นลดต่ำลง

สำหรับผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด COD จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ในกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.8% (w/v) พบว่ากระบวนการหมักให้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ค่อนข้างต่ำโดยประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงที่สุดของการทดลองนี้ให้ค่าเท่ากับ 55.31% ในกะขี้ที่ 2 ของกระบวนการหมัก (ภาพประกอบ 4.13 (ก), ตารางภาคผนวก ง-3.7) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้แต่ละกะขี้พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากทุกกะขี้มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางผนวก จ-3.3) ทั้งนี้ค่าประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าต่ำกว่าที่ได้จากการหมักภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2 และ 0.4% (w/v)



เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบผลของประสิทธิภาพการกำจัด COD ที่ได้จากการป้อนด้วยน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นทั้ง 3 สภาวะ พบว่าการป้อนน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) ให้ประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงกว่าการป้อนด้วยน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.8% (w/v) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางภาคผนวก จ-3.4) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการป้อนน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้น 0.4% (w/v) ( $P \geq 0.05$ ) (ตารางภาคผนวก จ-3.4) ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากปัจจัยหลักในการผลิตกรดแลคติกคือแหล่งคาร์บอนซึ่งในการศึกษานี้ใช้น้ำเสียแอมโมเนีย โดยทั่วไปเมื่อแอมโมเนียผ่านการย่อยจะมีสารอาหารในรูปแบบของกรดอะมิโนออกมาและกลายเป็นแหล่งไนโตรเจนด้วยอยู่แล้ว (Hofvendahl et al., 1999) จากปริมาณความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่สูงเมื่อรวมกับกรดอะมิโนที่ปลดปล่อยออกมาจากการย่อยแอมโมเนียจึงส่งผลให้แหล่งไนโตรเจนในน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่กระบวนการหมักมีค่าสูงมากเกินไปไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และต่อการผลิตกรดแลคติก (Ghasemi et al., 2009) นอกจากนี้ยังพบว่าในงานวิจัยการศึกษาของ Ribas และคณะ (2010) ที่ทำการบำบัดน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ด้วยระบบไร้อากาศ ได้ประสิทธิภาพการกำจัด COD สูงสุดจากการเติมความเข้มข้นยูเรียเท่ากับ 0.22% (w/v) ลงในน้ำเสีย ซึ่งถือว่าใกล้เคียงกับผลการศึกษานี้

จากการศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกพบว่า ภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) ให้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ (ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ปริมาณชีวมวลเซลล์ และประสิทธิภาพการกำจัด COD) ของระบบสูงกว่าการหมักภายใต้สภาวะการป้อนด้วยน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.4 และ 0.8% (w/v) ดังนั้นจึงเลือกการป้อนด้วยน้ำเสียแอมโมเนียสำหรับเลี้ยงสัตว์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) เป็นสภาวะความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกของงานวิจัยนี้



## บทที่ 5

### บทสรุป

#### 5.1 สรุปผล

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยกระบวนการหมักแบบกะขี้ด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 ภายใต้สภาวะไม่ปลอด โดยเป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติก 3 สภาวะหลัก ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 และเท่ากับ 1.0 - 1.5 mg/l) pH เริ่มต้น (pH เริ่มต้น 5.0 5.5 และ 6.5) และความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้น (ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้น 0.2 0.4 และ 0.8% (w/v)) ดำเนินการหมักในถังหมักที่มีปริมาตร 2 l ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบระยะเวลาของการหมักแต่ละกะคือ 48 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักไปวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแป้ง ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซีวมวลเซลล์ และประสิทธิภาพการกำจัด COD เพื่อศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ pH เริ่มต้น และความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อการผลิตกรดแลคติก ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย

จากการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 และ 1.0 - 1.5 mg/l ต่อการผลิตกรดแลคติก เพื่อหาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก ดำเนินการหมักแบบกะขี้ด้วยการป้อนน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีค่า pH เริ่มต้น 6.5 และแปรผันปริมาณออกซิเจนละลายน้ำตามที่กำหนด ผลการศึกษาพบว่ากระบวนการหมักที่ควบคุมค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l ให้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ได้จากกระบวนการหมักสูงกว่าการใช้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 1.0 - 1.5 mg/l โดยให้ปริมาณกรดแลคติกแอซิดเท่ากับ 31.44 g/l ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียเท่ากับ 9.27 log CFU/ml ซีวมวลเซลล์เท่ากับ 3,566.67 mg/l ประสิทธิภาพการกำจัด COD เท่ากับ 89.09%

ในการศึกษาผลของ pH เริ่มต้นที่ 5.0 5.5 และ 6.5 ต่อการผลิตกรดแลคติก เพื่อหาค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก โดยควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l พบว่ากระบวนการหมักที่ป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีค่า pH เริ่มต้น 6.5 ให้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ได้จากกระบวนการหมักสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และ 5.5 โดยปริมาณกรดแลคติกแอซิด ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซีวมวลเซลล์ ประสิทธิภาพการกำจัด COD ผลการศึกษาที่ได้มีค่าเท่ากับที่ได้ระบุไว้ในผลการศึกษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสม



ในการศึกษาผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2 0.4 และ 0.8% (w/v) ต่อการผลิตกรดแลคติก เพื่อหาค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก โดยควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l และ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 พบว่ากระบวนการหมักที่ป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ความเข้มข้นยูเรียเท่ากับ 0.2% (w/v) ให้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ได้จากกระบวนการหมักสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการป้อนด้วยน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นยูเรียเท่ากับ 0.4 และ 0.8% (w/v) โดยให้ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 34.13 g/l ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียเท่ากับ 10.83 log CFU/ml ซิวมวลเซลล์เท่ากับ 3,933.33 mg/l ประสิทธิภาพการกำจัด COD เท่ากับ 98.21%

สามารถสรุปสภาวะเหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยกระบวนการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* MSUL 702 ได้ว่าควรใช้น้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่มีค่า pH เริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นเท่ากับ 0.2% (w/v) ป้อนเข้าสู่กระบวนการหมัก และความคุมกระบวนการหมักภายใต้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 mg/l โดยสภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่ให้ปริมาณกรดแลคติกสูงที่สุด

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์จากการหมักแบบกะขี้ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อด้วยเพื่อเทียบจำนวนกะขี้ของกระบวนการหมัก ปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้ และการประเมินด้านเศรษฐศาสตร์การผลิต
2. ควรศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังที่เป็นน้ำเสียจริง เพื่อศึกษาผลขององค์ประกอบอื่นๆ ต่อการเจริญของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และผลต่อการผลิตกรดแลคติกเนื่องจากน้ำเสียจริงมีสิ่งเจือปนอื่นๆ โดยเฉพาะสารไซยาไนด์เจือปนสูงกว่าในน้ำเสียสังเคราะห์
3. ควรศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากยีสต์ร่วมกับการใช้ยูเรียต่อการผลิตกรดแลคติก
4. ควรศึกษาปริมาณโปรตีน และคุณค่าทางโภชนาการอื่นๆ เพื่อนำมาตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการหมักไปใช้ประโยชน์
5. ควรศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่เตรียมโดยแป้งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการต้มเปรียบเทียบกับการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ที่เตรียมโดยแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการต้ม



เอกสารอ้างอิง





## เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ และสมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย (ม.ป.ป.) มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม. [ออนไลน์]. ได้จาก: [http://www.pcd.go.th/info\\_serv/reg\\_std\\_water04.html](http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water04.html) [สืบค้นเมื่อ 7 เมษายน 2555].
- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. (2540). คู่มือการจัดการสิ่งแวดล้อมอุตสาหกรรมแบริ่งน้ำมันสำหรับ แบริ่งมันดัดแปร และแบริ่งมันแปรรูป. [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://www.diw.go.th/./page/page%2028.htm> [สืบค้นเมื่อ 16 มีนาคม 2555].
- ขวัญเนตร สมบัติภพ. (2551). การบำบัดน้ำเสียด้วยระบบเอสบีอาร์. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 18(3), 96-103.
- ชลดา ศิริเสตุวรรณ. (2551). การผลิตกรดติกด้วยเซลล์ตรึง *Lactobacillus rhammnosus* ATCC 10863. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชวนชม อ่วมเนตร. (2552). การพัฒนาพอลิเมอร์ย่อยสลายได้จากพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำและแป้งดัดแปรเพื่อผลิตวัสดุคลุมโรงเรือนสำหรับเพาะปลูกพืช. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการและวิศวกรรมพอลิเมอร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- พรหมพร เขียวรวงษ์ครอบ, ภรณ์ทิพย์ อุตตโมบล, ยุวลักษณ์ ชุนอิน และสุภาดา เอ็นดู. (2553). การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจากน้ำย่อยแป้งโดย *Enterococcus faecalis* TISTR 379 และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 053. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- ภัทรพล นามทอง, สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และ ประสงค์ วงศ์วิชา. (2554). การทากรดแลคติกให้บริสุทธิ์. ใน: การประชุมวิชาการนานาชาติวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย. ครั้งที่ 21 ระหว่างวันที่ 10 – 11 พฤศจิกายน. อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.
- มันสิน ตันกุลเวศม์. (2540). เทคโนโลยีการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม เล่ม 1. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มันสิน ตันกุลเวศม์. (2542). เทคโนโลยีการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม เล่ม 2. กรุงเทพฯ: แชน อี 68 คอนซัลติ้ง เอ็นจิเนียร์.
- วันทนา เกียรติสมาน. (2543). การศึกษาความเหมาะสมของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแบริ่งน้ำมันสำหรับมาใช้ในการชลประทาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.



- วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. (2557). *การหมัก (ชีวเคมี)*. [ออนไลน์]. ได้จาก [http://www.th.wikipedia/wiki/การหมัก\\_\(ชีวเคมี\)](http://www.th.wikipedia/wiki/การหมัก_(ชีวเคมี)). [สืบค้นเมื่อ 5 ตุลาคม 2557].
- สุขใจ ชูจันทร์ และศิริประภา มั่นตรง. (2551). การเพิ่มผลผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1341 ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมแอลจิเนต. ใน: *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. สาขาวิทยาศาสตร์*, 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2551, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- สุขน ตังทวีวัฒน์, สุมาลี พลกษากร, พิเชษฐ แสงศรีจันทร์ และบุญล้อม ชีวะอิสระกุล. (ม.ป.ป.) *ผลการเสริมแลคโตแบซิลัสในไก่ไข่*. เชียงใหม่: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สมคิด ดิจริง และอรุณี คงดี. (2556). *รายงานผลการวิจัยการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลกติกจากแป้งโดยตรงเพื่อลดต้นทุนการผลิตพลาสติกชีวภาพ*. เชียงราย: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- สมใจ ศิริโกด. (2537). *เทคโนโลยีการหมัก*. กรุงเทพฯ: สหมิตรออฟเซต.
- โสภิตา บุญเอนกทรัพย์, สุชาดา ไชยสวัสดิ์ และภาวิณี ชัยประเสริฐ. (2541). การศึกษาคุณสมบัติน้ำทิ้งในขั้นตอนกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง. ใน: *การประชุมทางวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาเศรษฐกิจ ครั้งที่ 24*, 19-21. ตุลาคม 2541 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์, กรุงเทพฯ: ประเทศไทย. หน้า 20-21.
- หน่วยปฏิบัติการแปรรูปมันสำปะหลัง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2542). *การแปรรูปและการใช้ประโยชน์มันสำปะหลัง*. [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://www.lactospore.com/back.html> [สืบค้นเมื่อ 18 กันยายน 2557].
- องค์การจัดการน้ำเสีย. (2543). *วารสารมาตรฐานการออกแบบระบบบำบัดน้ำเสีย สำหรับชุมชนเมืองขนาดเล็ก*. [ออนไลน์]. ได้จาก: [http://www.kmitl.ac.th/~kbkittic/watertreat/wastewater\\_designcriteria.html](http://www.kmitl.ac.th/~kbkittic/watertreat/wastewater_designcriteria.html) [สืบค้นเมื่อ 16 มีนาคม 2555].
- Adthalungrong, C. and Temviriyankul, S. (2010). Optimization of Lactic Acid Production from Tapioca Starch Hydrolysate by *Lactobacillus casei* TISTR 453. *Khoankan University Research Journal*, 15, 436-445.
- Afolabi, A.S., Olugbenga, S.M. and Abdulkareem, A.S. (2012). *Production of Lactic Acid from Cassava Starch Hydrolysate Using Immobilized Lactobacillus Casei in a Fibrous Bed Bioreactor*. Proceedings of the World Congress on Engineering, 1-3.
- Al-Asady, A.K.G. (2012). Production of Lactic Acid by a Local Isolate of *Lactobacillus plantarum* Using Cheap Starchy Material Hydrolysates. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(1), 88-93.



- Altaf, M., Naveena, B.J. and Reddy, G. (2005). Screening of Inexpensive Nitrogen Sources for Production of l(+) Lactic Acid from Starch by Amylolytic *Lactobacillus amylophilus* GV6 In Single Step Fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 43(3), 235-239.
- Akerberg, C., Hofvindh, K. Zacchi, G. and Hahn, H.B. (1998). Modeling the Influence of pH, Temperature, Glucose and Lactic Acid Concentration on the Kinetics of Lactic Acid Production by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 in Whole-wheat Flour. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49, 682-690.
- Amari, M., Arango, L.F., Gabriel, V. (2013). Characterization of a Novel Dextranucrase from *Weissella confusa* Isolated from Sourdough. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(12), 5413-22.
- Anuradha, R., Suresh, A.K., and Venkatesh, K.V. (1999). Simultaneous Saccharification and Fermentation of Starch to Lactic Acid. *Process Biochemistry*, 35, 367-375.
- A.O.A.C. (2000). *Official Methods of analysis*. 17th ed. , USA.: The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia
- APHA, AWWA and WEF. (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19<sup>th</sup> ed. USA.: American Public Health Association, Washington D.C.
- Ayo, S.A., Olugbenga, S.M. and Ambali, S.A. (2012). *Production of Lactic Acid from Cassava Starch Hydrolysate Using Immobilized Lactobacillus casei in a Fibrous bed Bioreactor*. In: Proceedings of the World Congress on Engineering. Vol III, July 4 - 6, 2012, London, United Kingdom. p. 978-988.
- Bhanwar, S., Arashdeep, S., Abhijit, G. (2014). Effective Conversion of Industrial Starch Waste to L-lactic Acid by *Lactococcus lactis* in a Dialysis Sac Bioreactor. *Annals of Microbiology*, 64,(3), 1447-1452.
- Blom, H., Katla, T., Nissen, H. and Holo, H. (2001). Characterization, Production, and Purification of Carnocin H, a Bacteriocin Produced by *Carnobacterium* 377. *Current Microbiology*, 43(4), 227-31.
- Budiyono and Kusworo, T.D. (2011). Biogas Production from Cassava Starch Effluent Using Microalgae as Biostabilisator. *International Journal of Science*, 2(1), 4-8.



- Chen,S.J., Jia,L.C., Wei, C.H. and Hsin, L.C. (2009). Fermentation Process Development for Hyaluronic Acid Production by Streptococcus Zooepidemicus ATCC 39920. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 26(2), 428-432.
- Coelho, L.F., Bolner de Lima, C.J., Bernardo, M.P., Alvarez, G.M. and Contiero J. (1994). Improvement of L(+)-lactic Acid Production from Cassava Wastewater by Lactobacillus rhamnosus B 103. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 11, 30-90.
- Coelho, L.F., da Silva, G.P., Alvarez, G. and Contiero, J. (2010). L(+)-lactic Acid Production by New Lactobacillus rhamnosus B 103. *Journal of Microbiology and Biochemistry*, 2, 064-069.
- Coelho, L.F., de Lima, C.J., Bernardo, M.P. and Contiero, J. (2011). D(-)-lactic Acid Production by Leuconostoc mesenteroides B512 Using Different Carbon and Nitrogen Sources. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(7), 1160-71.
- Demiate, I.M., Barana, A.C., Cereda, M.P. and Wosiacki, G. (1999). Organic Acid Profile of Commercial Sour Cassava Starch. *Cienciae Tecnologia de Alimentos*, 19, 131-135.
- Didilescu, A.C., Claudia, M., Luminila, N., Mihai, S., Adrian, B. and Gabriela, B. (2013). Antibacterial Efficacy of Endodontic Irrigation Solutions Against Enterococcus Faecalis. *BMC Infectious Diseases*, 13(1), 113.
- Fernandez, A.P.A, Stivala, M.G., Rodriguez, V.M.J and Farias, M.E. (2011). Increase in Antioxidant and Antihypertensive Activity by Oenococcus oeni in a Yeast Autolysis Wine Model. *Journal of Biotechnology Letters*, 33(2), 359-64.
- Finegold, M.S. and Baron, E.J. (1986). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 7th ed. s.l: Mosby Company.
- Fossi, B.T., Tavea, F., Jiwoua, C. and Ndjouenkeu, R. (2011). Simultaneous Production of Raw Starch Degrading Highly Thermostable  $\alpha$ -amylase and Lactic Acid by Lactobacillus Fermentum 04BBA 19. *African Journal of Biotechnology*, 10(34), 6564-6574.
- Gao, T.G., Mio, K., Hirata, M., Toorisaka, E. and Hano, T. (2008). Utilization of Rice Bran as Nutrient Source for Fermentative Lactic acid Production. *Bioresource Technology*, 99, 3659-3664.



- Ghasemi, M., Ghasem, N., Mostafa, R., Pouyan, A.B., Mehdi, S. and Babak, H. (2009). Effect of Different Media on Production of Lactic Acid from Whey by *Lactobacillus Bulgaricus*. *African Journal of Biotechnology*, 8(1), 081-084.
- Gilliland, S.E., Nelson, C.R. and Maxwell C. (1984). *Assimilation of cholesterol by Lactobacillus Acidophilus*. Oklahoma: Animal Science Department, Oklahoma State University.
- Gursky, L., Martin, N.I., Derksen, D.J., van Belkum, M.J., Kaur, K., Vederas, J.C., Stiles, M.E. and McMullen, L.M. (2006). Production of Piscicolin 126 by *Carnobacterium Maltaromaticum* UAL26 is Controlled by Temperature and Induction Peptide Concentration. *Archives of Microbiology*, 186(4), 317-25.
- Haddadin, M.S.Y., Abdulrahim, S.M., Hashlamoun, E.A.R. and Robinson, R.K. (1996) *Lactobacillus Acidophilus* on the Production and Chemical Composition of Hen's Egg. *Poultry Science Journal*, 75, 491-494.
- Hizukuri, S. (1985). Relationship Between the Distribution of the Chain Length of Amylopectin and the Crystallite Structure of Starch Granules. *Carbohydrate Research*, 141, 295-306.
- Hofvendahl, K., Akerberg, C., Zacchi, G. and Hahn, H.B. (1999). Simultaneous Enzymatic Wheat Starch Saccharification and Fermentation to Lactic Acid by *Lactococcus Lactis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52, 163–169.
- Hofvendahl, K. and Hahn, H.B. (1997). L-lactic Acid Production from Whole-wheat Starch Hydrolysate Using Strains of *Lactobacilli* and *Lactococci*. *Enzyme and Microbial Technology*, 20, 301–307.
- Hofvendahl, K. and Hahn, H.B. (2000). Factors Affecting the Fermentative Lactic Acid Production from Renewable Resources. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 87-107.
- Hofvendahl, K. E. vanNiel, W.J. and Hahn-Hagerdal, B. (1999). Effect of Temperature and pH on Growth and Product Formation of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 Growing on Maltose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51, 669-672.
- Hoover, R. and Ratanayake, W.S. (2001). Composition Molecular Structure and Physiochemical Properties of Tuber and Root Starches : A Review. *Carbohydrate Polymers*, 45, 253-267.



- Huang, L.P., Bo, J., Paul, L. and Jiti, Z. (2003). Biotechnological Production of Lactic Acid Integrated with Potato Wastewater Treatment by *Rhizopus Arrhizus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 78, 899-906.
- Huang, L.P., Bo, J., Paul, L. and Jiti, Z. (2005). Simultaneous Saccharification and Fermentation of Potato Starch Wastewater to Lactic Acid by *Rhizopus Oryzae* and *Rhizopus Arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal*, 23, 265-276.
- Huang, W., Chunliu, Z., Hao, W., Elizabeth, H. and Elizabeth, A.E. (2008). The Interferon Consensus Sequence-binding Protein (ICSBP/IRF8) Represses PTPN13 Gene Transcription in Differentiating Myeloid Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 283(12), 7921-7935.
- James, W., Anderson, M.D. and Gilliland, S.E. (1999). Effect of Fermented Milk (Yogurt) Containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on Serum Cholesterol in Hypercholesterolemic Humans. *Oklahoma Journal*, 18(1), 43-50
- Javanainen, P. and Linko, Y.Y. (1955). Lactic Acid Fermentation on Barley Flour Without Additional Nutrients. *Biotechnology Techniques*, 9, 543-548.
- Joshi, A. and Kanekar, P.P. (2011). Production of Exopolysaccharide by *Vagococcus carniphilus* MCM B-1018 Isolated from Alkaline Lonar Lake, India. *Annals of microbiology*, 61(4), 733-740.
- Kaewkannetra, P., Imai, T., Garcia-Garcia, F.J. and Chiu, T.Y. (2009). Cyanide Removal from Cassava Mill Wastewater Using *Azotobactor Vinelandii* TISTR 1094 with Mixed Microorganisms in Activated Sludge Treatment System. *Journal of Hazardous Materials*, 172, 224-228.
- Kaletunç, G. and Breslauer, K.J. (2003). Calorimetry of Pre- and Post-extruded Cereal Flours in : Characterization of Cereals and Flours : Properties, Analysis and Applications. *Breslauer Eds*, 1-35.
- Kandler, O. (1983). Carbohydrate Metabolism in Lactic Acid Bacteria. *Journal of Microbiology*, 49, 209-224.
- Kasemsuwan, T., Jane, J., Chen, Y.Y., Lee, L.F., McPherson, A.E., Wong, K.S. and Radosavljevic, M. (1999). Effects of Amylopectin Branch Chain Length and Amylose Content on the Gelatinization and Pasting Properties of Starch. *Cereal Chemistry*, 76(5), 629-637.



- Kashket, E.R. (1987). Bioenergetics of Lactic Acid Bacteria: Cytoplasmic pH and Osmotolerance. *FEMS Microbiology Reviews*, 46, 233-244.
- Kim, H.S., Jeon, J.W., Kim, B., Ahn, C.Y., Oh, H.M. and Yoon, B.D. (2006). Extracellular Production of a Glycolipid Biosurfactant, Mannosylerythritol Lipid, by *Candida* sp. SY16 Using Fed-batch Fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 70, 391-396.
- Kious, J.J. (2000). *Lactobacillus and Lactic Acid Production*. Doctor's thesis LeTourneau: LeTourneau University.
- Kiyosawa, H., Sugawara, C., Sugawara, N. and Miyake, H. (1984). Effect of Skim Milk and Yogurt on Serum Lipids and Development of Sudanophilic lesions in Cholesterol-fed Rabbits. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40, 479-484.
- Kwon, S., Lee, P.C., Lee, E.G., Keun, C.Y. and Chang, N. (2000). Production of Lactic Acid by *Lactobacillus Rhamnosus* with Vitamin-supplemented Soybean Hydrolysate. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 209-215.
- Lee, G.Y., Suk, J.H., Jong, H.J., Dong, H.S., Jong, Y.P., Su, R.K., Nam, W.P., Dong, K.K., Sang, H.P. and Cheon, S.P. (2009). Effect of Non-animal-derived Nitrogen Sources on the Production of Hyaluronic Acid by *Streptococcus* sp. KL0188. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(3), 283-289.
- Lei, Y., Lei, T., Ren, X., Pei, X. and Feng, Y. (2008). Response Surface Optimization of L-(+)-lactic Acid Production Using Corn Steep Liquor as an Alternative Nitrogen Source by *Lactobacillus Rhamnosus* CGMCC 146639. *Biochemical Engineering Journal*, 39(3), 496-502.
- Liang, Q., Lu, J.R., Guan, N.S., Xiao, J.J., Zhi, K.N. and He, H. (2013). Batch, Fed-batch and Repeated Fed-batch Fermentation Processes of the Marine Thraustochytrid *Schizochytrium* sp. for Producing Docosahexaenoic Acid. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36, 1905-1912.
- Liang, Z., Kong, Q.S. and Gui, Y.S. (2011). Production of L-lactic acid with Very High Gravity Distillery Wastewater from Ethanol Fermentation by a Newly Isolated *Enterococcus hawaiiensis*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86( 2), 213-216.





- Li, Z., Lu, H., Yizhi, J., Xiaonan, W.G. and Tianwei, T.N. (2010). Fermentative Production of L-lactic Acid from Hydrolysate of Wheat Bran by *Lactobacillus Rhamnosus*. *Biochemical Engineering Journal*, 49, 138-142.
- Lynd, R.Y., Cushman, J., Nichols. R.J. and Wyman, C. (1991). Fuel Ethanol from Cellulosic Biomass. *American Association for the Advancement of Science*, 251, 1318-1322.
- Matz, S. A. (1991). *The Chemistry and Technology of Cereals as Food and Feed*. s.l.: AVI Book, Springer.
- Mai, H.N.P. (2006). *Integrated Treatment of Tapioca-processing Industry Wastewater*. Doctor's Thesis Wageningen: Based on Environmental Bio-Technology, Wageningen University.
- Milko, E.S., Sperelup, O.V., Rabotnova, I.L. and Die, M. (1996). *Lactobacterium Delbrueckii* Bei Kontinuerlicher Kultivierung. *Z Allg Mikrobiol journal*, 6, 297-301.
- Naveena, B.J. (2004). *Amylolytic Bacterial L(+)-lactic Acid Production in Solid State Fermentation and Molecular Identification of the Strain*. PhD thesis. India: Osmania University.
- Narayanan, N., Roychoudhury, P.K. and Srivastava, A. (2008). L(+)-lactic Acid Fermentation and its Product Polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology*, 7, 0717-3458.
- Neczaj, E., Kacprzak, M., Kamizela, T., Lach, J. and Okoniewska, E. (2008). Sequencing Batch Reactor System for the Co-treatment of Landfill Leachate and Dairy Wastewater. *Desalination Journal*, 222, 404-409.
- Nowjee, N.C. (2004). Melt Processing and Foaming of Starch. [online]. Available from: <http://www.cheng.cam.ac.uk/research/groups/polymer/RMP/nitin/Starchstructure.html> [accessed 18 September 2014].
- Okafor, N. (2007). *Modern Industrial Microbiology and Biotechnology*. New Hampshire: Science publishers, Inc.
- Panda, S.H. and Ray, R.C. (2008). Direct Conversion of Raw Starch to Lactic Acid by *Lactobacillus Plantarum* MTCC 1407 in Semi-solid Fermentation Using Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* L.) Flour. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67, 531-537.





- Papagianni, M. (2012). Effects of Dissolved Oxygen and pH Levels on Weissellin A Production by *Weissella Paramesenteroides* DX in Fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35, 1035-1041.
- Parmjit, S., Panesarm A., John, F., Kennedy, B.C., Dina, N., Gandhi, D. and Katarzyna, B.C. (2007). Bioutilisation of Whey for Lactic Acid Production. *Food Chemistry*, 105, 1-14.
- Pervaiz, M., and Sain, M. (2011). Protein Extraction from Secondary Sludge of Paper Mill Wastewater and its Utilization as a Wood Adhesive. *Biology Resources*, 6(2), 961-970.
- Phruksawan, P., Songsri, K., Sarintip, S. and Nuttha, T. (2012). Direct Fermentation of L(+)-lactic Acid from Cassava Pulp by Solid State Culture of *Rhizopus oryzae*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35, 1429–1436.
- Ray, R.C., Sharama, P. and Panda, S.H. (2009). Lactic Acid Production from Cassava Fibrous Residue Using *Lactobacillus plantarum* MTCC 1407. *Journal of Environmental Biology*, 30(5), 847-52.
- RibasI, M.M.F., Ceredall, M.P. and BoasIII, R.L.V. (2010). Use of Cassava Wastewater Treated Anaerobically with Alkaline Agents as Fertilizer for Maize (*Zea mays L.*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53(1), 55-62.
- Richter, K. and Träger, A. (2007). L(+)-lactic Acid from Sweet Sorghum by Submerged and Solid-state Fermentations. *Acta Biotechnologica*, 14(4), 367-378.
- Rojan, P.J., Nampoothir, K.M. and Pandey, A. (2007). Fermentative Production of Lactic Acid from Biomass: an Overview on Process Developments and Future Perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74, 524-534.
- Russel, J.B. (1992). Another Explanation for the Toxicity of Fermentation Acids at Low pH: Anion Accumulation Versus Uncoupling. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 363-370.
- Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Sasaki, K. and Techapun, C. (2009). Biocoagulation of Dairy Wastewater by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 for Protein Recovery Using Micro-aerobic Sequencing Batch Reactor (Micro-aerobic SBR). *Process Biochemistry*, 44, 406-411.
- Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. (1986). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. *Williams Wilkins Co., Baltimore*, 2, 1123.



- Somogyi M (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195, 18-23.
- Son, M.S. and Yun, J.K. (2013). Direct Fermentation of Starch to L(+)-lactic Acid by Fed-batch Culture of *Lactobacillus ?Manihotivorans*. *Food Science and Biotechnology*, 22(1), 289-293.
- Stiles, M.E. and Holzapfel, W.H. (1997). Lactic Acid Bacteria of Foods and Their Current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29.
- Subramaniam, K., Greenfield, P.F., Ho, K.M. and Johns, M.R. (1994). Efficient Biological Nutrient Removal in High Strength Wastewater Using Combined Anaerobic-sequencing Batch Reactor Treatment. *Water Science and Technology*, 30, 315-321.
- Stanbury, P.F. and Whitaker, A. (1984). *Principles of Fermentation Technology*. New York: Pergamon Press, xiv, 255.
- Taylor, K.A.C.C. (1996). A Simple Colorimetric Assay for Muramic Acid and Lactic Acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 56, 49-58.
- Thomsen, M.H., Guyot, J.P. and Kiel, P. (2007). Batch Fermentations on Synthetic Mixed Sugar and Starch Medium with Amyolytic Lactic Acid Bacteria Applied *Microbiology and Biotechnology*, 74, 540-546.
- Tsai, T.S. and Millard, C.S. (1994). Improved Pre-treatment Process for Lactic Acid Production. s.l.: *PCT International Patent*, World Intellectual Property Organization.
- Uchida, M., Jie, O., Bi, W.C., Chun, H.Y., Xur, H.Z., Shun, S.C., Yasuhiro, F., Ken, I., Kawasaki, M.S. and Yutaka, F. (2005). Effects of Soy Sauce Koji and Lactic Acid Bacteria on the Fermentation of Fish Sauce from Freshwater Silver Carp *Hypophthalmichthys Molitrix*. *Fisheries Science*, 71(2), 422-430.
- Uygur, A. and Kargi, F. (2004). Biological Nutrient Removal from Pre-treated Landfill Leachate in a Sequencing Batch Reactor. *Journal of Environmental Management*, 71, 9-14.
- van Niel, E.W.J. and Hahn, H.B. (1999). Nutrient Requirements of Lactococci in Defined Growth Media. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52, 617-627.
- Vickroy, T.B. (1985). Lactic acid. *Comprehensive Biotechnology Vol. 3*. New York: Moo-Young M (Ed.), Pergamon Press.



- Vijayakumar, J., Aravindan, R. and Viruthagiri, T. (2008). Recent Trends in the Production, Purification and Application of Lactic Acid. *Chemical and Biochemical Engineering*, 22(2), 245-264.
- Wee, Y.J., Kim, J.N. and Ryu, H.W. (2006). Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications. *Food Technology and Biotechnology*, 44, 163-172.
- Wenge, F.U. and Mathews, A.P. (1999). Lactic Acid Production from Lactose by *Lactobacillus plantarum*: Kinetic Model and Effects of pH, Substrate, and Oxygen. *Biochemical Engineering Journal*, 3(3), 163-170.
- Wenhua, L.V., Wei, C. and Zhaoling, C. (2004) Nisin Production by *Lactococcus lactis* Subsp. Lactis under Nutritional Limitation in Fed-batch Culture. *Biotechnology Letters*, 26(3), 235-238.
- Yu, H.Q., Gu, G.W. and Song, L.P. (1996). The Effect of Fill Mode on the Performance of Sequencing Batch Reactors Treating Various Wastewaters. *Bioresource Technology*, 49, 55-58.
- Yu, P.L., Noel, W., Dunn, W. and Kim, S. (2001). Lactate Removal by Anionic-exchange Resin Improves Nisin Production by *Lactococcus lactis*. *Biotechnology Letters*, 24(1), 59-64.
- Yu, S., Houyi, J., Bo, J. and Wanmeng M. (2012). Characterization of D-lactate Dehydrogening D-3-phenyllactic Acid from *Pediococcus pentosaceus*. *Food Science and Technology*, 76(4), 853-855.
- Xiaodong, W., Xuan, G. and Rakshit, S.K. (1997). Direct Fermentative Production of Lactic Acid on Cassava and other Starch Substrates. *Biotechnology Letters*, 19(9), 841-843.
- Zhang, Z.Y., Jin, B. and Kelly, J.M. (2007). Production of Lactic Acid and Byproducts from Waste Potato Starch by *Rhizopus arrhizus*: Role of Nitrogen Sources. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 229-236.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก  
วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์



## วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์

### 1 การตรวจวัดค่า pH

#### 1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) เครื่อง pH meter
- 2) ปีกเกอร์ขนาด 250 ml
- 3) กระบอกฉีดยาน้ำกลั่น

#### 1.2 วิธีวิเคราะห์

- 1) ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาด แล้วใช้กระดาษทิชชูเช็ดให้แห้ง
- 2) ปรับเครื่องมือให้ได้มาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือ
- 3) จุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำตัวอย่างรอจนค่าหยุดนิ่ง จดบันทึกค่า pH
- 4) ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาด แล้วใช้กระดาษทิชชูเช็ดให้แห้งก่อนเก็บ

เข้าที่

### 2. การวิเคราะห์ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ

#### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) เครื่อง DO meter
- 2) ปีกเกอร์ขนาด 250 ml
- 3) กระบอกฉีดยาน้ำกลั่น

#### 2.2 วิธีวิเคราะห์

- 1) ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาด แล้วใช้กระดาษทิชชูเช็ดให้แห้ง
- 2) ปรับเครื่องมือให้ได้มาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือ
- 3) จุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำตัวอย่างรอจนค่าหยุดนิ่ง จดบันทึกค่า DO



4) ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาด แล้วใช้กระดาษทิชชูเช็ดให้แห้งก่อนเก็บเข้าที่

### 3. การวิเคราะห์ซีมวลเซลล์

#### 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) กระจกกรวยแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 cm
- 2) กรวยกรวยบุชเนอร์ ความจุ 1000 ml
- 3) เครื่องดูดอากาศ
- 4) โถดูดความชื้น
- 5) ตู้อบแห้ง
- 6) เครื่องชั่งละเอียด

#### 3.2 วิธีการวิเคราะห์

- 1) อบ eppendorf ให้แห้งที่อุณหภูมิ 103°C - 105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น
- 2) ชั่งน้ำหนัก eppendorf ก่อนนำไปใช้ใส่ตัวอย่าง
- 3) ใส่ตัวอย่างปริมาตร 1 ml ลงใน eppendorf
- 4) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000g นาน 5 นาที
- 5) เทส่วนใสออก นำส่วนที่เป็นตะกอนติดอยู่ใน eppendorf ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103°C - 105°C เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก eppendorf พร้อมของแข็งบน eppendorf

#### 3.3 การคำนวณ

$$\text{ซีมวลเซลล์, mg/l} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (B-A)} \times 10^6}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (ml)}}$$

เมื่อ A = น้ำหนัก eppendorf (g)

B = น้ำหนัก eppendorf และของแข็ง (g)



#### 4. การวิเคราะห์ COD ด้วยวิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Close reflux method) (APHA *et al.*, 1995)

##### 4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) หลอดทดลองชนิด borosilicate ขนาด 16 x 100 ml พร้อมจุก TFE
- 2) ที่ใส่หลอดทดลอง
- 3) COD Reactor ที่อุณหภูมิ  $150 \pm 2^{\circ}\text{C}$
- 4) Spectrophotometer ความยาวคลื่น 600 nm
- 5) ปิเปตขนาด 1 และ 10 ml
- 6) บิวเรตขนาด 50 ml

##### 4.2 สารเคมี

- 1) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น  $0.0167 \text{ mol}$  ละลาย  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  4.903 g ซึ่งอบแห้งที่  $103^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในน้ำกลั่น 500 ml ค่อย ๆ เติม conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  167 ml เติม  $\text{HgSO}_4$  ลงไป 33.3 g คนให้ละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 l ด้วยน้ำกลั่น
- 2) conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ที่ผสม  $\text{AgSO}_4$  ละลาย  $\text{AgSO}_4$  22 g ใน conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ซึ่งมีน้ำหนัก 4.1 kg (2.5 l) แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ละลาย
- 3) สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) 0.1 M ละลาย  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  39.2 g ในน้ำกลั่น 500 ml เติม conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  20 ml คนให้ละลาย แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 l ด้วยน้ำกลั่น
- 4) สารละลายเฟอโรอินดิเคเตอร์ ละลาย 1-10 Phenanthroline monohydrate 1.485 g และ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  695 ml ลงในน้ำกลั่น คนให้ละลายแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น

##### 4.3 วิธีการตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลาย FAS





ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.1 N 5.0 ml ใส่ลงในขวดรูป  
ชมพู่ เติมน้ำกลั่น 50 ml แล้วจึงค่อยๆเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 15 ml ทิ้งให้เย็น เติมหิวโรอินดิเคเตอร์  
2 - 3 หยด แล้วนำมาไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน FAS จนได้สีน้ำตาลเป็นจุดยุติ

$$\text{ความเข้มข้นของ FAS, นอร์มัล (N)} = \frac{0.5 \times 0.1}{\text{ปริมาตรของ FAS ที่ใช้ไป}}$$

#### 4.4 วิธีการวิเคราะห์

- 1) นำหลอดทดลองที่ล้างสะอาดแล้ว อบด้วยอุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 2) นำออกจากตู้อบแล้วทิ้งให้เย็นในอุณหภูมิห้อง
- 3) ควบน้ำตัวอย่าง 2.5 ml ใส่หลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นเพื่อเจือจาง อัตราส่วน 1:2  
คือเติมน้ำกลั่น 5 ml
- 4) ทำแบลนด์โดยใส่น้ำกลั่นลงในหลอดทดลอง 7.5 ml
- 5) เติมหิวโรอินดิเคเตอร์ 1.5 ml ในน้ำตัวอย่างและแบลนด์ ใช้ปิเปตขนาด 1  
ml ดูดสารดังกล่าว โดยปล่อยให้สารสัมผัสโดยตรงกับน้ำตัวอย่างเลยแต่ไม่ให้ปลายปิเปตแตะน้ำตัวอย่าง
- 6) เติมหิวโรอินดิเคเตอร์ 3.5 ml ในน้ำตัวอย่างและแบลนด์ โดยใช้ปิเปตขนาด 5 ml  
ดูดสารดังกล่าว โดยปล่อยให้สารสัมผัสโดยตรงกับน้ำตัวอย่างเลย แต่ไม่ให้ปลายปิเปตแตะน้ำตัวอย่าง
- 7) นำหลอดทดลองใส่ไว้ในตะแกรงและนำเข้าตู้อบที่มีอุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา  
2 ชั่วโมง
- 8) หลังจากอบครบ 2 ชั่วโมงแล้ว นำออกมาตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 9) เทลงน้ำตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml
- 10) หยดเฟอโรอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมน้ำเงิน
- 11) ไทเตรตด้วยเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.025 N ในการไตเตรต  
จะต้องค่อยๆ หยดทีละหยด เนื่องจากการถึงจุดยุติจะเร็วมาก คือจะเปลี่ยนเป็นสีแดงอิฐ บันทึกลง

#### 4.5 การคำนวณ

$$\text{ซีไอดี, mg ออกซิเจน / l} = \frac{(A-B) \times M \times 8,000}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (ml)}}$$



เมื่อ A = ml ของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตแบลงค์  
 B = ml ของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างน้ำ  
 M = mol ของ FAS

## 5. การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก (Taylor, 1996)

### 5.1 การเตรียมน้ำยาเคมี

#### 1) การเตรียม stock standard lactic acid solution

เตรียม 0.1% stock lactic acid solution โดยชั่ง L – lactate 0.1 g ในน้ำกลั่น 100 ml (stock solution ที่ใช้เหลือนี้เก็บไว้ที่  $-20^{\circ}\text{C}$  สำหรับใช้ในครั้งต่อไปได้) จะได้ stock ที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 1 mg/ml

เตรียม standard lactic acid solution ความเข้มข้น 0 10 20 30 40 และ 50  $\mu\text{g/ml}$  ปริมาตร 2 ml โดยปิเปต stock solution 0 20 40 60 80 และ 100  $\mu\text{l}$  ใส่ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 2,000 1,880 1,860 1,840 และ 1,900  $\mu\text{l}$  ผสมให้เข้ากันดี

2) การเตรียมสารละลาย 1.5% p-phenylphenol ใน 95% ethanol โดยชั่ง p-phenylphenol 1.5 g ผสมกับ 95% ethanol ปรับปริมาตรเป็น 100 ml

3) เตรียมสารละลาย 4% copper sulphate โดยชั่ง copper sulphate 4 g ผสมกับน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 ml

### 5.2 วิธีวิเคราะห์

1) ปิเปตตัวอย่าง (ที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง 10,000 g นาน 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์) ปริมาตร 0.5 ml ลงในหลอดทดลอง

2) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 ml ผสมให้เข้ากันดี

3) ต้มในน้ำเดือด 10 นาที แล้วแช่ใน water bath  $30^{\circ}\text{C}$  นาน 10 นาที

4) เติมสารละลาย 4% copper sulphate 50  $\mu\text{l}$  ลงไป ผสมให้เข้ากันดี

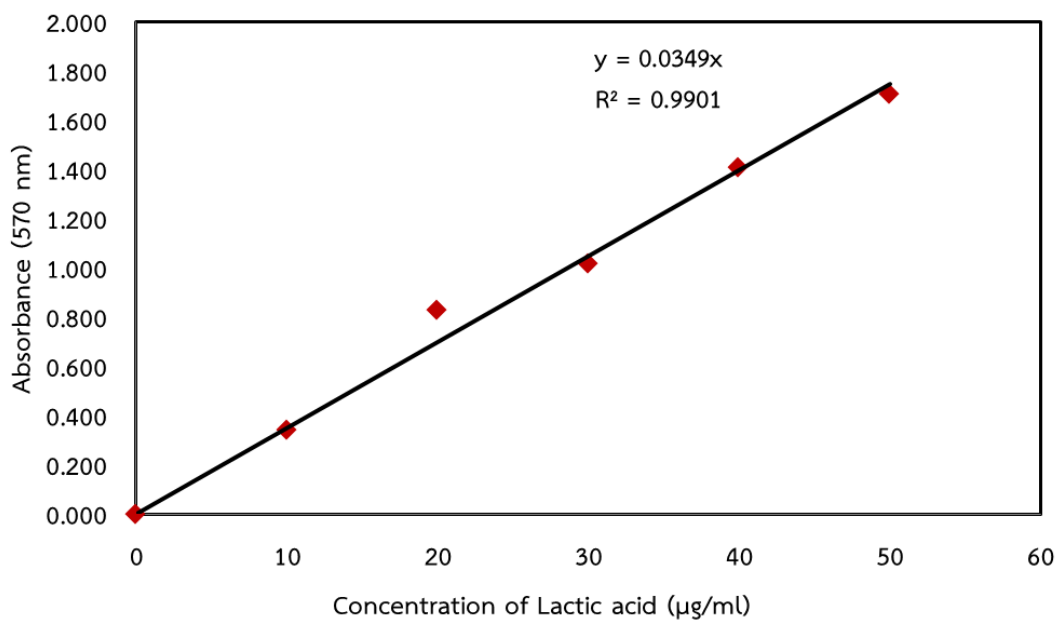
5) เติมสารละลาย 1.5% p-phenylphenol 100  $\mu\text{l}$  ลงไป ผสมให้เข้ากันดี

6) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm

7) plot กราฟมาตรฐานกรดแลคติกในหน่วย  $\mu\text{g/ml}$  (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) โดยแต่ละค่าความเข้มข้นทำ 3 ซ้ำ



8) หาปริมาณกรดแลคติกโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพผนวก ก-1)



ภาพประกอบ ภาคผนวก ก-1 กราฟมาตรฐานกรดแลคติก

### 5.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดแลคติก (}\mu\text{g/ml)} = \frac{A}{Y} \times \text{dilution}$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่วัดได้

Y = Slope ของกราฟมาตรฐาน

$$\text{ผลได้กรดแลคติก (g/g)} = \frac{A}{B}$$

เมื่อ A = ปริมาณกรดแลคติกที่ได้ (g)

B = ปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไป (g)



$$\text{อัตราการผลิตกรดแลคติก (g/l/h)} = \frac{A}{B}$$

เมื่อ A = ปริมาณกรดแลคติกที่ได้ (g/l)

B = ระยะเวลาที่ให้ผลผลิต (h)

## 6. การวิเคราะห์ปริมาณแป้ง (Hoover and Ratnayake, 2001)

### 6.1 การเตรียมน้ำยาเคมี

1) เตรียมสารละลายไอโอดีน ละลายไอโอดีน 0.2 g พร้อมกับ KI 2 g ในน้ำ 100 ml

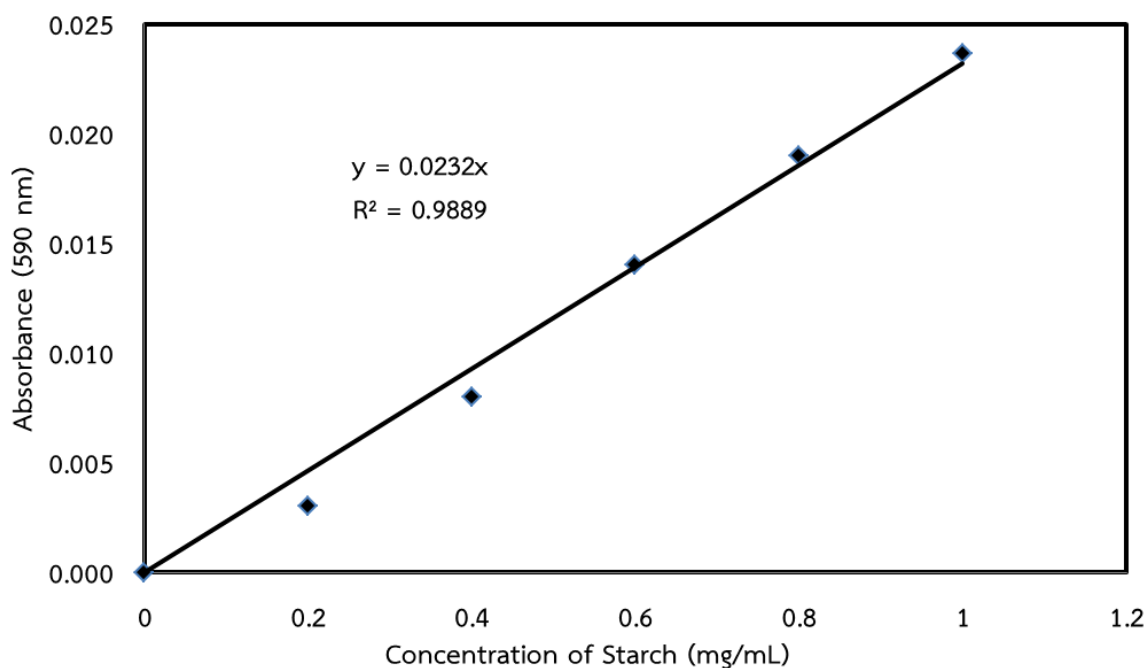
2) ละลายแป้ง Soluble starch 0.1 g ใน 8 ml DMSO (90% v/v) (dimethylsulfoxide) แล้วให้ความร้อนในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 85 °C จนละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 100 ml

### 6.2 วิธีการวิเคราะห์

- 1) เจือจางให้ได้สารละลายสต็อกที่มีความเข้มข้น 500-2500 µg/ml
- 2) ดูดสารละลายแป้ง 0.1 ml เติมสารละลายไอโอดีน 0.5 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
- 3) เติมน้ำ 2.4 ml เขย่า แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm



4) หาปริมาณแป้งของตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพผนวก ก-2)



ภาพประกอบ ภาคผนวก ก-2 กราฟมาตรฐานแป้ง

### 6.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณแป้ง (}\mu\text{g/ml)} = \frac{A}{Y} \times \text{dilution}$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่วัดได้

Y = Slope ของกราฟมาตรฐาน



ภาคผนวก ข

การศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยระบบเอสปีอาร์



## 1. วิธีดำเนินการวิจัย

การเริ่มต้นเดินระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- 1) ทำให้แบคทีเรียเกิดความคุ้นเคยกับน้ำเสียก่อน โดยนำเซลล์เปียกของแลคติก แอซิดแบคทีเรียไปปรับค่าความเข้มข้นเซลล์เทียบเท่ากับค่า 0.5 Mcfarland scale (Finegold and Baron, 1986) เติมลงในถังปฏิกรณ์เอสปีอาร์ที่มีน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์ปริมาตร 1 l และ น้ำกลั่น 1 l ปรับความเร็วรอบในการกวนให้ได้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำประมาณ 0.5 - 1.0 mg/l
- 2) เติมน้ำเสียเพิ่มวันละ 1l จนครบปริมาตร 5 l จึงทำการควบคุมให้ระบบมีการทำงานเป็นวัฏจักร โดยกำหนดเวลา 1 วัฏจักรเป็น 24 ชั่วโมง ซึ่งประกอบไปด้วย 4 ขั้นตอน คือ ช่วงเติมน้ำเสีย 20 นาที ช่วงทำปฏิกริยา 22 ชั่วโมง ช่วงตกตะกอน 1 ชั่วโมง และช่วงระบายน้ำทิ้ง 40 นาที ใช้ อัตราการกวนในช่วงการทำปฏิกริยา 50 รอบต่อนาที ระยะเวลาพักพักชลศาสตร์ 1.25 วัน อายุตะกอน 10 วัน และควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำให้อยู่ในช่วง 0.5 - 1.0 mg/l
- 3) เมื่อครบแต่ละรอบวัฏจักรทำการปล่อยน้ำใสส่วนบนออกประมาณ 4 l และ เติมน้ำเสียใหม่ 4 l เก็บตัวอย่างน้ำเข้าและน้ำใสส่วนที่ผ่านการบำบัดแล้วไปวิเคราะห์หาค่า COD, Total Kjedahl Nitrogen (TKN), ของแข็งแขวนลอย และปริมาณกรดแลคติก เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียและการผลิตกรดแลคติก
- 4) เก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่ตกตะกอนได้ในช่วงตกตะกอนของแต่ละรอบวัฏจักร ไปวิเคราะห์ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย
- 5) เดินระบบต่อเนื่องจนกระทั่งได้ค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ ประมาณ 2,000 mg/l ตะกอนจุลินทรีย์สามารถจมตัวได้ดี และประสิทธิภาพการกำจัด COD อยู่ในช่วงประมาณ 90% แสดงว่าระบบเข้าสู่สภาวะสมดุล



## 2. ผลการศึกษาการเริ่มต้นเดินระบบเอสปีอาร์

ตารางภาคผนวก ข-1 ความเข้มข้น COD และประสิทธิภาพการกำจัด COD ของระบบเอสปีอาร์ในระหว่างการเริ่มต้นเดินระบบบำบัดน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์เพื่อผลิตกรดแลคติก ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

วัน	ความเข้มข้น COD ของน้ำออก (mg/l)					การกำจัด COD (%)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
1	3780	3800	3818	3799	19.10	47
2	4250	4200	4200	4217	28.87	53
3	3876	3900	3900	3892	13.86	49
4	3022	3022	3022	3022	0.00	38
5	3300	3300	3300	3300	0.00	41
6	3818	3800	3800	3806	10.39	48
7	3054	3054	3054	3054	0.00	38
8	3818	3800	3818	3812	10.45	48
9	4363	4200	4255	4273	82.97	53
10	2818	2818	2818	2818	0.00	35
11	1630	1636	1636	1634	3.57	20
12	1592	1590	1590	1591	1.15	20
13	2070	2027	2073	2057	25.65	26
14	2590	2590	2509	2563	46.71	32
15	3054	3054	3054	3054	0.00	38
16	-2727	-2727	-2727	-2727	0.16	-34
17	-1745	-1745	-1636	-1709	62.93	-21
18	-1745	-1745	-1636	-1709	62.93	-21
19	-2727	-2727	-2727	-2727	0.16	-34
20	-2945	-2945	-2727	-2872	125.70	-36
21	-3054	-3054	-3054	-3054	0.00	-38

หมายเหตุ เทียบจาก COD เริ่มต้นในกระบวนการหมัก 8,000 mg/l





ตารางภาคผนวก ข-2 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ของระบบเอสบีอาร์ในระหว่างการเริ่มต้น  
เดินระบบบำบัดน้ำเสียแ่งมันสำปะหลังสังเคราะห์เพื่อผลิตกรดแลคติก  
ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

วัน	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (mg/l)				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
1	868.00	800.00	792.00	820.00	41.76
2	720.00	696.00	600.00	672.00	63.50
3	1048.00	1048.00	970.00	1022.00	45.03
4	954.00	970.00	856.00	926.67	61.72
5	970.00	954.00	970.00	964.67	9.24
6	900.00	954.00	856.00	903.33	49.08
7	1180.00	970.00	1048.00	1066.00	106.15
8	1220.00	1220.00	1180.00	1206.67	23.09
9	1200.00	1220.00	1174.00	1198.00	23.07
10	1370.00	1048.00	970.00	1129.33	212.04
11	1174.00	1370.00	1200.00	1248.00	106.45
12	792.00	800.00	868.00	820.00	41.76
13	856.00	792.00	800.00	816.00	34.87
14	694.00	600.00	696.00	663.33	54.86
15	554.00	514.00	458.00	508.67	48.22
16	580.00	514.00	580.00	558.00	38.11
17	696.00	694.00	670.00	686.67	14.47
18	600.00	514.00	580.00	564.67	45.00
19	458.00	440.00	406.00	434.67	26.41
20	514.00	458.00	514.00	495.33	32.33
21	440.00	290.00	396.00	375.33	77.11

หมายเหตุ เทียบจาก COD เริ่มต้นในกระบวนการหมัก 8,000 mg/l



ภาคผนวก ค

มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม



## มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม

ตามประกาศของกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) เรื่อง กำหนดคุณลักษณะของน้ำทิ้งที่ระบายออกจากโรงงานอุตสาหกรรม และนิคมอุตสาหกรรม มีคุณสมบัติ ดังนี้

### ตาราง ภาคผนวก ค-1 มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม

มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม		
ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
1. ค่าความเป็นกรดและด่าง (pH value)	5.5-9.0	pH Meter
2. ค่าที่ติเอส (TDS หรือ Total dissolved solids)	- ไม่เกิน 3,000 mg/l หรืออาจแตกต่างกันแต่แต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 5,000 mg/l - น้ำทิ้งที่จะระบายลงแหล่งน้ำกร่อยที่มีค่าความเค็ม (Salinity) เกิน 2,000 mg/l หรือลงสู่ทะเลค่าที่ติเอสในน้ำทิ้งจะมีค่ามากกว่าค่าที่ติเอส ที่มีอยู่ในแหล่งน้ำกร่อยหรือน้ำทะเลได้ไม่เกิน 5,000 mg/l	ระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 103-105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. สารแขวนลอย (Suspended Solids)	ไม่เกิน 50 mg/l หรืออาจแตกต่างกันแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม หรือประเภทของระบบบำบัดน้ำเสียตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 150 mg/l	กรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว (Glass Fiber Filter Disc)
4. อุณหภูมิ (Temperature)	ไม่เกิน 40°C	เครื่องวัดอุณหภูมิ วัดขณะทำการเก็บตัวอย่างน้ำ
5. สีหรือกลิ่น	ไม่เป็นที่พึงรังเกียจ	ไม่ได้กำหนด
6. ซัลไฟด์ (Sulfide as H <sub>2</sub> S)	ไม่เกิน 1.0 mg/l	Titrate
7. ไซยาไนด์ (Cyanide as HCN)	ไม่เกิน 0.2 mg/l	กลั่นและตามด้วยวิธี Pyridine Barbituric Acid
8. น้ำมันและไขมัน (Fat, Oil and Grease)	ไม่เกิน 5.0 mg/l หรืออาจแตกต่างกันแต่แต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือ ประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 15 mg/l	สกัดด้วยตัวทำละลาย แล้วแยกหาน้ำหนักของน้ำมันและไขมัน
9. ฟอर्मัลดีไฮด์	ไม่เกิน 1.0 mg/l	Spectrophotometry



## ตาราง ภาคผนวก ค-1 (ต่อ)

มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม		
ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
10. สารประกอบฟีนอล (Phenols)	ไม่เกิน 1.0 mg/l	กลั่นและตามด้วยวิธี 4-Amino antipyrine
11. คลอรีนอิสระ (Free chlorine)	ไม่เกิน 1.0 mg/l	Iodometric Method
12. สารที่ใช้ป้องกัน หรือกำจัดศัตรูพืชหรือ สัตว์ (Pesticide)	ต้องตรวจไม่พบตามวิธีตรวจสอบที่กำหนด	Gas-Chromatography
13. ค่าบีโอดี (5 วัน ที่ อุณหภูมิ 20°C (Biochemical Oxygen demand : BOD)	ไม่เกิน 20 mg/l หรือแตกต่างกันแล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่ คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 60 mg/l	Azide Modification ที่อุณหภูมิ 20°C เป็นเวลา 5 วัน
14. ค่าทีเคเอ็น (TKN หรือ Total kjeldahl nitrogen)	ไม่เกิน 100 mg/l หรืออาจแตกต่างกันแล้วแต่ประเภทของ แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษ เห็นสมควร แต่ไม่เกิน 200 mg/l	Kjeldahl
15. ค่าซีโอดี (Chemical oxygen demand : COD)	ไม่เกิน 120 mg/l หรืออาจแตกต่างกันแล้วแต่ประเภทของ แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษ เห็นสมควร แต่ไม่เกิน 400 mg/l	Potassium Dichromate Digestion
16. โลหะหนัก (Heavy metal)		
16.1. สังกะสี (Zn)	ไม่เกิน 5.0 mg/l	Atomic Absorption Spectro
16.2 โครเมียมชนิดเฮกซะวาเลนต์ (Hexavalent chromium)	ไม่เกิน 0.25 mg/l	photometry ชนิด Direct Aspiration หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด Inductively Coupled Plasma : ICP



ตาราง ภาคผนวก ค-1 (ต่อ)

มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม		
ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
16.3 โครเมียมชนิดไตรวาเล้นท์ (Trivalent Chromium)	ไม่เกิน 0.75 mg/l	Atomic Absorption Spectrophotometry ชนิด Direct Aspiration หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด Inductively Coupled Plasma : ICP
16.4 ทองแดง (Cu)	ไม่เกิน 2.0 mg/l	
16.5 แคดเมียม (Cd)	ไม่เกิน 0.03 mg/l	
16.6 แบเรียม (Ba)	ไม่เกิน 1.0 mg/l	
16.7 ตะกั่ว (Pb)	ไม่เกิน 0.2 mg/l	
16.8 นิกเกิล (Ni)	ไม่เกิน 1.0 mg/l	
16.9 แมงกานีส (Mn)	ไม่เกิน 5.0 mg/l	
16.10 อาร์เซนิก (As)	ไม่เกิน 0.25 mg/l	Atomic Absorption Spectrophotometry ชนิด Hydride Generation หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด Inductively Coupled Plasma : ICP
16.11 เซเลเนียม (Se)	ไม่เกิน 0.02 mg/l	
16.12 ปรอท (Hg)	ไม่เกิน 0.005 mg/l	Atomic Absorption Cold Vapour Technique



ภาคผนวก ง  
ข้อมูลผลการทดลอง



## การศึกษา DO ที่เหมาะสม

ตาราง ภาคผนวก ง-1.1 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณกรดแลคติกในกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

DO (mg/l)	การหมักกะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลคติก (g/l)					
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
1.0 – 1.5	1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
		24	4.83	4.84	4.84	4.84	0.00	
		48	28.45	28.42	28.60	28.49	0.05	
	2	72	0.34	0.35	0.34	0.35	0.00	
		96	4.58	4.59	4.62	4.60	0.01	
		120	28.80	28.60	28.74	28.71	0.06	
	3	144	0.30	0.32	0.31	0.31	0.00	
		168	4.52	4.53	4.53	4.53	0.00	
		192	27.88	27.79	27.79	27.82	0.03	
		4	216	0.28	0.28	0.28	0.28	0.00
	240		2.82	2.82	2.82	2.82	0.00	
	264		17.25	17.19	17.25	17.23	0.02	
	288		0.03	0.03	0.03	0.03	0.00	
	≤ 0.5	1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
			24	14.07	14.27	14.27	14.20	0.07
			48	31.35	31.49	31.49	31.44	0.05
2		72	0.41	0.40	0.41	0.40	0.00	
		96	15.44	15.53	15.44	15.47	0.03	
		120	30.60	30.60	30.66	30.62	0.02	
3		144	0.32	0.32	0.32	0.32	0.00	
		168	17.13	17.13	17.13	17.13	0.00	
		192	30.06	29.80	30.14	30.00	0.10	



ตาราง ภาคผนวก ง-11. (ต่อ)

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลคติก (g/l)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
≤ 0.5	4	216	0.34	0.34	0.33	0.34	0.00
		240	31.35	31.49	31.49	17.12	0.11
		264	25.04	24.93	24.93	24.97	0.04
		288	0.40	0.36	0.29	0.35	0.03

ตาราง ภาคผนวก ง-1.2 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อผลได้กรดแลคติกต่อวัตฤติบ  
 แบ่งตั้งต้นของแต่ละกะช้ำในกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติก  
 จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	ผลได้กรดแลคติกต่อวัตฤติบแบ่งตั้งต้น (g/g)				
		ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
1.0 – 1.5	1	0.82	0.82	0.84	0.83	0.01
	2	0.72	0.70	0.76	0.73	0.02
	3	0.70	0.70	0.72	0.71	0.01
	4	0.56	0.58	0.58	0.57	0.01
≤ 0.5	1	0.96	0.94	0.92	0.94	0.01
	2	0.78	0.80	0.80	0.79	0.01
	3	0.85	0.87	0.87	0.86	0.01
	4	0.68	0.70	0.70	0.69	0.01





ตาราง ภาคผนวก ง-1.3 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ออัตราการผลิตกรดแลคติกของแต่ละ  
กะเช้าในกระบวนการหมักแบบกะเช้าเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมัน  
สำปะหลัง

DO (mg/l)	การหมักกะ เช้าที่	อัตราการผลิตกรดแลคติก (g/l/h)				
		เช้าที่ 1	เช้าที่ 2	เช้าที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
1.0 – 1.5	1	0.60	0.60	0.60	0.60	0.00
	2	0.60	0.58	0.60	0.59	0.01
	3	0.56	0.58	0.60	0.58	0.01
	4	0.34	0.36	0.38	0.36	0.01
≤ 0.5	1	0.64	0.66	0.68	0.66	0.01
	2	0.64	0.64	0.68	0.65	0.01
	3	0.63	0.60	0.68	0.64	0.02
	4	0.50	0.54	0.52	0.52	0.01

ตาราง ภาคผนวก ง-1.4 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณแป้งในกระบวนการหมักแบบ  
กะเช้าเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L.*  
*plantarum* MSUL 702

DO (mg/l)	การหมักกะ เช้าที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแป้ง (g/l)				
			เช้าที่ 1	เช้าที่ 2	เช้าที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
1.0 – 1.5	1	0	34.44	34.44	34.48	34.45	0.02
		24	17.05	17.08	17.06	17.06	0.02
		48	0.16	0.16	0.18	0.17	0.01
	2	72	38.90	38.86	38.90	38.89	0.02
		96	15.76	15.80	15.82	15.79	0.03
		120	0.09	0.09	0.10	0.09	0.01
	3	144	40.00	40.00	40.00	40.00	0.00
		168	17.68	17.75	17.70	17.71	0.04
		192	0.04	0.06	0.04	0.05	0.01
	4	216	37.76	37.80	37.76	37.77	0.02
		240	20.00	20.00	20.02	20.01	0.01
		264	7.00	7.05	6.98	7.03	0.04
288		45.56	45.63	45.50	45.56	0.07	



ตาราง ภาคผนวก ง-1.4 (ต่อ)

DO (mg/l)	การหมักกะ ซ้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแป้ง (g/l)				
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
≤ 0.5	1	0	35.00	30.00	35.00	33.33	2.89
		24	5.02	4.23	4.23	4.49	0.46
		48	0.04	0.03	0.04	0.04	0.01
	2	72	38.89	38.67	38.89	38.82	0.13
		96	4.23	3.54	3.54	3.77	0.40
		120	0.05	0.03	0.04	0.04	0.01
	3	144	35.00	32.67	35.00	34.22	1.35
		168	5.69	4.67	4.67	5.01	0.59
		192	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
	4	216	36.67	36.67	36.67	36.67	0.00
		240	5.27	5.42	5.42	5.37	0.09
		264	0.40	0.48	0.50	0.46	0.05
		288	38.67	39.03	38.89	38.86	0.18



ตาราง ภาคผนวก ง-1.5 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียใน  
กระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml)					
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
1.0 – 1.5	1	0	8.31	8.29	8.31	8.30	0.01	
		24	8.31	8.31	8.4	8.34	0.03	
		48	8.42	8.42	8.42	8.42	0.00	
	2	72	7.29	7.29	7.29	7.29	0.00	
		96	8.32	8.29	8.39	8.33	0.03	
		120	8.40	8.42	8.42	8.41	0.01	
	3	144	7.26	7.28	7.26	7.27	0.01	
		168	7.29	8.31	8.31	7.97	0.34	
		192	7.35	7.30	7.33	7.33	0.01	
	4	216	6.42	6.38	6.4	6.40	0.01	
		240	6.30	6.38	6.35	6.34	0.02	
		264	5.18	5.15	5.12	5.15	0.02	
		288	4.28	4.31	4.31	4.30	0.01	
	≤ 0.5	1	0	8.31	8.32	8.31	8.31	0.00
			24	8.42	8.42	8.4	8.41	0.01
			48	9.28	9.25	9.26	9.27	0.01
2		72	8.26	8.26	8.26	8.26	0.00	
		96	8.40	8.43	8.46	8.43	0.02	
		120	9.27	9.28	9.25	9.27	0.01	
3		144	8.28	8.24	8.25	8.26	0.01	
		168	8.40	8.41	8.43	8.41	0.01	
		192	8.42	8.4	8.42	8.41	0.01	



ตาราง ภาคผนวก ง-1.5 (ต่อ)

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
≤ 0.5	4	216	7.29	7.30	7.32	7.30	0.01
		240	7.35	7.33	7.33	7.34	0.01
		264	6.43	6.40	6.45	6.43	0.01
		288	5.28	5.28	5.26	5.27	0.01

ตาราง ภาคผนวก ง-1.6 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อปริมาณชีวมวลเซลล์ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณชีวมวลเซลล์ (mg/l)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
1.0 – 1.5	1	0	1,600	1,700	1,900	1,733	88.19
		24	2,000	2,500	2,200	2,233	145.30
		48	3,200	3,300	3,200	3,233	33.33
	2	72	2,100	1,900	1,700	1,900	115.47
		96	2,800	2,600	2,300	2,567	145.30
		120	3,600	3,200	2,800	3,200	230.94
	3	144	1,800	1,800	2,200	1,933	133.33
		168	2,800	2,300	2,500	2,533	145.30
		192	2,900	3,100	2,900	2,967	66.67
	4	216	1,800	2,000	1,700	1,833	88.19
		240	2,500	2,300	2,400	2,400	57.74
		264	3,000	2,700	2,900	2,867	88.19
		288	1,700	1,500	1,800	1,667	88.19



ตาราง ภาคผนวก ง-1.6 (ต่อ)

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณชีวมวลเซลล์ (mg/l)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
≤ 0.5	1	0	1,700	2,000	2,000	1,900	100.00
		24	2,500	2,600	2,500	2,533	33.33
		48	3,500	3,700	3,500	3,567	66.67
	2	72	2,200	2,200	2,200	2,200	0.00
		96	2,700	3,000	2,600	2,767	120.19
		120	3,700	3,300	3,700	3,567	133.33
	3	144	2,000	2,100	2,300	2,133	88.19
		168	3,000	3,300	2,700	3,000	173.21
		192	3,800	3,300	3,000	3,367	233.33
	4	216	2,100	2,000	2,200	2,100	57.74
		240	2,800	2,800	3,000	2,867	66.67
		264	3,300	3,100	3,400	3,267	88.19
		288	2,000	1,700	1,800	1,833	88.19



ตาราง ภาคผนวก ง-1.7 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก และประสิทธิภาพการกำจัด COD ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติก จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (mg/l)					การกำจัด COD (%) *	
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.		
1.0 – 1.5	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		24	7,273	7,273	7,273	7,273	0.00	9.09	
		48	7,273	3,575	3,575	4,808	1232.67	39.90	
	2	72	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		96	6,547	4,365	6,547	5,820	727.47	27.25	
		120	2,619	2,619	2,182	2,473	145.49	69.08	
	3	144	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		168	6,547	6,547	6,547	6,547	0.00	18.16	
		192	4,365	4,365	6,547	5,092	727.47	36.35	
	4	216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		240	6,547	6,547	6,547	6,547	0.00	18.16	
		264	4,365	6,547	6,547	5,820	727.47	27.25	
		288	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
	≤ 0.5	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
			24	6,547	6,547	6,547	6,547	0.00	18.16
			48	873	873	873	873	0.00	89.09
2		72	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		96	6,547	6,547	4,365	5,820	727.47	27.25	
		120	1,746	1,309	1,746	1,600	145.49	79.99	
3		144	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		168	4,365	6,547	4,365	5,092	727.47	36.35	
		192	1,746	1,746	1,746	1,746	0.00	78.18	



ตาราง ภาคผนวก ง-1.7 (ต่อ)

DO (mg/l)	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (mg/l)					การกำจัด COD (%) *
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
≤ 0.5	4	216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		240	4,365	6,547	6,547	5,820	727.47	27.25
		264	873	873	1,309	1,018	145.49	87.27
		288	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00

หมายเหตุ \* เทียบจาก COD เริ่มต้นในกระบวนการหมัก 8,000 mg/l



### การศึกษา pH เริ่มต้นที่เหมาะสม

ตาราง ภาคผนวก ง-2.1 ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณกรดแลคติกในกระบวนการหมักแบบกะขี้  
เพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L.*  
*plantarum* MSUL 702

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะขี้ที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลคติก (g/l)					
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
5.0	1	0	0.00	0	0	0.00	0.00	
		24	4.53	4.54	4.53	4.53	0.00	
		48	14.40	14.20	14.00	14.20	0.12	
		72	22.89	22.9	22.88	22.89	0.01	
	2	96	0.28	0.28	0.29	0.28	0.00	
		120	4.86	4.89	4.87	4.87	0.01	
		144	18.74	18.7	18.72	18.72	0.01	
		168	20.90	20.95	20.93	20.93	0.01	
	3	192	22.82	22.8	22.81	22.81	0.01	
		216	0.25	0.23	0.22	0.23	0.01	
		240	1.83	1.80	1.85	1.83	0.01	
		264	4.50	4.48	4.52	4.50	0.01	
		288	10.18	10.22	10.2	10.20	0.01	
	5.5	1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
			24	4.56	4.56	4.29	4.47	0.09
48			22.87	22.78	22.78	22.81	0.03	
2		72	0.28	0.28	0.27	0.28	0.00	
		96	4.55	4.55	4.55	4.55	0.00	
		120	21.86	22.01	22.06	21.98	0.06	
3		144	0.26	0.26	0.25	0.26	0.00	
		168	4.52	4.52	4.52	4.52	0.00	
		192	21.40	21.49	21.49	21.46	0.03	





ตาราง ภาคผนวก ง-2.1 (ต่อ)

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะขี้ที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลคติก (g/l)				
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
5.5	4	216	0.24	0.23	0.23	0.23	0.00
		240	1.84	1.83	1.83	1.83	0.00
		264	21.20	21.26	21.15	21.20	0.03
		288	0.03	0.03	0.03	0.03	0.00
6.5	1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		24	14.07	14.27	14.27	14.20	0.07
		48	31.35	31.49	31.49	31.44	0.10
	2	72	0.41	0.40	0.41	0.40	0.00
		96	15.44	15.53	15.44	15.47	0.03
		120	30.60	30.60	30.66	30.62	0.02
	3	144	0.32	0.32	0.32	0.32	0.00
		168	17.13	17.13	17.13	17.13	0.00
		192	30.06	29.80	30.14	30.00	0.05
	4	216	0.34	0.34	0.33	0.34	0.00
		240	31.35	31.49	31.49	17.12	0.11
		264	25.04	24.93	24.93	24.97	0.04
		288	0.40	0.36	0.29	0.35	0.00



ตาราง ภาคผนวก ง-2.2 ผลของ pH เริ่มต้นต่อผลได้กรดแลคติกต่อวัตฤติบแป้งตั้งต้นของแต่ละกะข้าว  
ในกระบวนการหมักแบบกะข้าวเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะข้าวที่	ผลได้กรดแลคติกต่อวัตฤติบแป้งตั้งต้น (g/g)				
		ข้าวที่ 1	ข้าวที่ 2	ข้าวที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
5.0	1	0.70	0.72	0.68	0.70	0.01
	2	0.58	0.60	0.60	0.59	0.01
	3	0.44	0.44	0.46	0.45	0.01
5.5	1	0.70	0.72	0.70	0.71	0.01
	2	0.58	0.56	0.58	0.57	0.01
	3	0.52	0.56	0.54	0.54	0.01
	4	0.50	0.54	0.54	0.53	0.01
6.5	1	0.96	0.94	0.92	0.94	0.01
	2	0.78	0.80	0.80	0.79	0.01
	3	0.85	0.87	0.87	0.86	0.01
	4	0.68	0.70	0.70	0.69	0.01

ตารางผนวก ง-2.3 ผลของ pH เริ่มต้นต่ออัตราการผลิตกรดแลคติกของแต่ละกะข้าวในกระบวนการ  
หมักแบบกะข้าวเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะข้าวที่	อัตราการผลิตกรดแลคติกต่อวัตฤติบแป้งตั้งต้น (g/g)				
		ข้าวที่ 1	ข้าวที่ 2	ข้าวที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
5.0	1	0.34	0.32	0.30	0.32	0.01
	2	0.32	0.32	0.32	0.32	0.00
	3	0.16	0.12	0.12	0.13	0.01
5.5	1	0.48	0.50	0.46	0.48	0.01
	2	0.48	0.46	0.46	0.47	0.01
	3	0.44	0.46	0.46	0.45	0.01
	4	0.44	0.46	0.42	0.44	0.01



ตาราง ภาคผนวก ง-2.3 (ต่อ)

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะขี้ที่	อัตราการผลิตกรดแลคติกต่อวัตถุดิบแห้งตั้งต้น (g/g)				
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
6.5	1	0.64	0.66	0.68	0.66	0.01
	2	0.64	0.64	0.68	0.65	0.01
	3	0.63	0.60	0.68	0.64	0.02
	4	0.50	0.54	0.52	0.52	0.01

ตาราง ภาคผนวก ง-2.4 ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณแป้งในกระบวนการหมักแบบกะขี้เพื่อผลิตกรด  
แลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL

702

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะขี้ที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแป้ง (g/l)				
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
5.0	1	0	30.00	35.00	35.00	33.33	2.89
		24	23.57	23.67	23.56	23.60	0.06
		48	11.50	11.68	11.50	11.56	0.10
		72	0.25	0.26	0.25	0.25	0.01
	2	96	38.89	38.90	38.89	38.89	0.01
		120	21.14	21.16	21.13	21.14	0.02
		144	11.58	11.54	11.59	11.57	0.03
		168	6.25	6.25	6.28	6.26	0.02
	3	192	0.18	0.22	0.20	0.20	0.02
		216	38.89	38.92	38.90	38.90	0.02
		240	36.67	36.70	36.70	36.69	0.02
		264	21.10	21.16	21.14	21.13	0.03
		288	16.68	16.70	16.70	16.69	0.01



ตาราง ภาคผนวก ง-2.4 (ต่อ)

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะขี้ที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแป้ง (g/l)					
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
5.5	1	0	33.35	33.31	33.33	33.33	0.02	
		24	21.00	20.98	21.00	20.99	0.01	
		48	0.90	0.86	0.84	0.87	0.03	
	2	72	39.44	39.40	39.45	39.43	0.03	
		96	20.96	20.98	20.90	20.95	0.04	
		120	1.01	1.03	1.01	1.02	0.01	
	3	144	40.54	40.58	40.56	40.56	0.02	
		168	21.90	21.93	21.93	21.92	0.02	
		192	1.05	1.08	1.06	1.06	0.02	
	4	216	41.64	41.68	41.65	41.66	0.02	
		240	23.94	23.98	23.96	23.96	0.02	
		264	11.49	11.52	11.50	11.50	0.02	
		288	47.75	47.80	47.78	47.78	0.03	
	6.5	1	0	35.00	30.00	35.00	33.33	1.67
			24	5.02	4.23	4.23	4.49	0.26
			48	0.04	0.03	0.04	0.04	0.00
2		72	38.89	38.67	38.89	38.82	0.07	
		96	4.23	3.54	3.54	3.77	0.23	
		120	0.05	0.03	0.04	0.04	0.01	
3		144	35.00	32.67	35.00	34.22	0.78	
		168	5.69	4.67	4.67	5.01	0.34	
		192	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	
4		216	36.67	36.67	36.67	36.67	0.00	
		240	5.27	5.42	5.42	5.37	0.05	
		264	0.40	0.48	0.50	0.46	0.03	
		288	38.67	39.03	38.89	38.86	0.10	



ตาราง ภาคผนวก ง-2.5 ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะขี้เพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ pH เริ่มต้น	การหมักกะขี้ที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml)					
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
5.0	1	0	8.20	8.16	8.18	8.18	0.02	
		24	8.33	8.30	8.33	8.32	0.01	
		48	8.40	8.39	8.38	8.39	0.00	
		72	9.10	9.14	9.12	9.12	0.01	
	2	96	8.18	8.12	8.15	8.15	0.02	
		120	8.33	8.19	8.16	8.23	0.05	
		144	8.28	8.20	8.24	8.24	0.02	
		168	8.28	8.32	8.36	8.32	0.02	
	3	192	8.33	8.30	8.37	8.33	0.02	
		216	7.16	7.16	7.16	7.16	0.00	
		240	7.24	7.20	7.16	7.20	0.02	
		264	7.22	7.21	7.2	7.21	0.01	
		288	7.26	7.23	7.3	7.26	0.02	
	5.5	1	0	8.29	8.29	8.29	8.29	0.00
			24	8.39	8.42	8.4	8.40	0.01
			48	9.19	9.19	9.13	9.17	0.02
		2	72	8.20	8.20	8.20	8.20	0.00
96			8.33	8.30	8.33	8.32	0.01	
120			9.13	9.13	9.13	9.13	0.00	
3		144	8.23	8.24	8.23	8.23	0.00	
		168	8.31	8.31	8.32	8.31	0.00	
		192	8.32	8.32	8.42	8.35	0.03	



ตาราง ภาคผนวก ง-2.5 (ต่อ)

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะซั่วที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml)				
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
5.5	4	216	7.22	7.22	7.22	7.22	0.00
		240	7.30	7.33	7.3	7.31	0.01
		264	6.33	6.33	6.22	6.29	0.04
		288	5.10	5.10	5.10	5.10	0.00
6.5	1	0	8.31	8.32	8.31	8.31	0.00
		24	8.42	8.42	8.40	8.41	0.01
		48	9.28	9.25	9.26	9.27	0.01
	2	72	8.26	8.26	8.26	8.26	0.00
		96	8.40	8.43	8.46	8.43	0.02
		120	9.27	9.28	9.25	9.27	0.01
	3	144	8.28	8.24	8.25	8.26	0.01
		168	8.40	8.41	8.43	8.41	0.01
		192	8.42	8.40	8.42	8.41	0.01
	4	216	7.29	7.30	7.32	7.30	0.01
		240	7.35	7.33	7.33	7.34	0.01
		264	6.43	6.4	6.45	6.43	0.01
		288	5.28	5.28	5.26	5.27	0.01



ตาราง ภาคผนวก ง-2.6 ผลของ pH เริ่มต้นต่อปริมาณชีวมวลเซลล์ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำ  
เพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L.*  
*plantarum* MSUL 702

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณชีวมวลเซลล์ (mg/l)					
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
5.0	1	0	1,733	1,700	1,667	1,700	19.24	
		24	1,900	1,850	1,800	1,850	28.87	
		48	1,933	1,900	1,917	1,917	9.62	
		72	2,100	2,200	2,000	2,100	57.74	
	2	96	1,667	1,733	1,700	1,700	19.24	
		120	1,783	1,833	1,733	1,783	28.87	
		144	1,833	1,900	1,867	1,867	19.25	
		168	1,933	1,930	1,932	1,932	0.96	
	3	192	2,067	2,200	1,933	2,067	76.98	
		216	1,667	1,600	1,533	1,600	38.47	
		240	1,667	1,683	1,700	1,683	9.64	
		264	1,717	1,733	1,700	1,717	9.62	
		288	1,783	1,833	1,733	1,783	28.87	
	5.5	1	0	1,833	1,700	1,800	1,778	40.06
			24	2,100	2,300	2,300	2,233	66.67
48			2,633	3,133	3,000	2,944	156.74	
2		72	1,900	1,900	1,800	1,867	33.33	
		96	2,067	2,500	2,300	2,289	125.22	
		120	2,633	3,067	3,133	2,944	156.74	
3		144	1,733	1,933	1,833	1,833	57.74	
		168	2,000	2,467	2,100	2,189	141.86	
		192	2,233	2,900	3,000	2,711	240.63	



ตาราง ภาคผนวก ง-2.6 (ต่อ)

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะขี้ที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณชีวมวลเซลล์ (mg/l)				
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
5.5	4	216	1,600	1,733	1,900	1,744	86.78
		240	1,867	2,333	2,333	2,178	155.56
		264	2,033	2,833	2,633	2,500	240.37
		288	1,360	1,533	1,360	1,418	57.78
6.5	1	0	1,700	2,000	2,000	1,900	100.00
		24	2,500	2,600	2,500	2,533	33.33
		48	3,500	3,700	3,500	3,567	66.67
	2	72	2,200	2,200	2,200	2,200	0.00
		96	2,700	3,000	2,600	2,767	120.19
		120	3,700	3,300	3,700	3,567	133.33
	3	144	2,000	2,100	2,300	2,133	88.19
		168	3,000	3,300	2,700	3,000	173.21
		192	3,800	3,300	3,000	3,367	233.33
	4	216	2,100	2,000	2,200	2,100	57.74
		240	2,800	2,800	3,000	2,867	66.67
		264	3,300	3,100	3,400	3,267	88.19
		288	2,000	1,700	1,800	1,833	88.19





ตาราง ภาคผนวก ง-2.7 ผลของ pH เริ่มต้นต่อความเข้มข้น COD ของน้ำหมักและประสิทธิภาพการกำจัด COD ในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมัน สำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

	การหมัก กะซ้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (mg/l)					การกำจัด COD (%) *	
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.		
5.0	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		24	7,275	7,275	7,275	7,275	0.00	9.07	
		48	3,637	4,656	3,200	3,831	431.27	52.11	
		72	3,200	3,200	3,200	3,200	0.00	60.00	
	2	96	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		120	5,817	7,272	7,272	6,787	485.00	15.16	
		144	2,472	4,363	4,363	3,733	630.33	53.34	
		168	2,472	2,472	2,181	2,375	97.00	70.31	
	3	192	1,016	1,016	2,472	1,501	485.33	81.23	
		216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		240	7,273	7,273	7,273	7,273	0.00	9.09	
		264	6,545	6,545	7,993	7,028	482.67	12.15	
		288	2,472	2,472	3,635	2,860	387.67	64.25	
	5.5	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
			24	7,275	7,275	6,547	7,032	242.49	12.10
48			1,453	1,453	1,453	1,453	0.00	81.84	
2		72	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		96	7,273	5,818	7,273	6,788	485.00	15.15	
		120	1,453	1,453	1,453	1,453	0.00	81.84	
3		144	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		168	7,273	7,273	7,273	7,273	0.00	9.09	
		192	2,173	2,173	2,173	2,173	0.00	72.84	

หมายเหตุ \* เทียบจาก COD เริ่มต้นในกระบวนการหมัก 8,000 mg/l



ตาราง ภาคผนวก ง-2.7 (ต่อ)

ที่ pH เริ่มต้น	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (mg/l)					การกำจัด COD (%) *
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
5.5	4	216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		240	7,273	7,273	7,273	7,273	0.00	9.09
		264	1,453	1,453	1,453	1,453	0.00	81.84
		288	8,000	8,000	7,273	7,758	242.33	3.03
6.5	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		24	6,547	6,547	6,547	6,547	0.00	18.16
		48	873	873	873	873	0.00	89.09
	2	72	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		96	5,817	5,817	3,635	5,090	727.33	36.38
		120	1,016	1,016	1,016	1,016	0.00	87.30
	3	144	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		168	3,635	5,817	3,635	4,362	727.33	45.47
		192	1,017	1,017	1,017	1,017	0.00	87.29
	4	216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		240	4,365	6,547	6,547	5,820	727.47	27.25
		264	873	873	1,309	1,018	145.49	87.27
		288	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00

หมายเหตุ \* เทียบจาก COD เริ่มต้นในกระบวนการหมัก 8,000 mg/l



### การศึกษาความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นที่เหมาะสม

ตาราง ภาคผนวก ง-3.1 ผลของความเข้มข้นยูเรีย (U) เริ่มต้นต่อปริมาณกรดแลคติกในกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ U เริ่มต้น	การหมักกะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลคติก (g/l)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.2% (w/v)	1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		24	17.13	15.20	17.13	16.49	0.64
		48	32.00	32.00	30.60	31.53	0.47
	2	72	0.44	0.40	0.48	0.44	0.02
		96	18.20	18.20	18.20	18.20	0.00
		120	35.20	35.20	32.00	34.13	1.07
	3	144	0.40	0.45	0.45	0.43	0.02
		168	17.13	15.20	15.20	15.84	0.64
		192	32.00	30.60	30.60	31.07	0.47
	4	216	0.40	0.45	0.40	0.42	0.02
		240	15.20	17.19	15.20	15.86	0.66
		264	30.60	30.60	30.60	30.60	0.00
288		0.40	0.40	0.40	0.40	0.00	
0.4% (w/v)	1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		24	10.25	10.25	10.25	10.25	0.00
		48	18.20	20.00	20.00	19.40	0.60
	2	72	0.28	0.30	0.30	0.29	0.01
		96	12.46	12.40	10.25	11.70	0.73
		120	20.22	23.48	20.00	21.23	1.13
	3	144	0.30	0.30	0.30	0.30	0.00
		168	9.28	8.86	9.28	9.14	0.14
		192	15.20	15.20	14.28	14.89	0.31



ตาราง ภาคผนวก ง-3.1 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลคติก (g/l)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.4% (w/v)	4	216	0.25	0.28	0.28	0.27	0.01
		240	8.86	8.98	8.98	8.94	0.04
		264	8.98	8.98	9.28	9.08	0.10
		288	0.27	0.27	0.25	0.26	0.01
0.8% (w/v)	1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		24	6.28	6.28	6.40	6.32	0.04
		48	10.25	10.25	10.25	10.25	0.00
	2	72	0.03	0.04	0.04	0.04	0.00
		96	6.40	6.40	6.40	6.40	0.00
		120	14.28	14.28	14.28	14.28	0.00
	3	144	0.05	0.05	0.08	0.06	0.01
		168	6.28	6.28	6.28	6.28	0.00
		192	9.86	10.25	10.25	10.12	0.13
	4	216	0.02	0.03	0.03	0.03	0.00
		240	5.98	6.20	5.98	6.05	0.07
		264	8.20	8.20	8.20	8.20	0.00
		288	0.01	0.01	0.02	0.01	0.00



ตาราง ภาคผนวก ง-3.2 ผลของความเข้มข้นยูเรีย (U) เริ่มต้นต่อผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้นของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ U เริ่มต้น	การหมักกะซ้ำที่	ผลได้กรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้น (g/g)				
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.2% (w/v)	1	0.94	0.97	0.94	0.95	0.01
	2	0.98	0.99	0.99	0.99	0.00
	3	0.90	0.92	0.94	0.92	0.01
	4	0.84	0.85	0.82	0.84	0.01
0.4% (w/v)	1	0.56	0.57	0.57	0.57	0.00
	2	0.63	0.63	0.63	0.63	0.00
	3	0.46	0.50	0.46	0.47	0.01
	4	0.27	0.25	0.28	0.27	0.01
0.8% (w/v)	1	0.48	0.50	0.50	0.49	0.01
	2	0.56	0.56	0.52	0.55	0.01
	3	0.50	0.52	0.48	0.50	0.01
	4	0.40	0.42	0.38	0.40	0.01

ตาราง ภาคผนวก ง-3.3 ผลของความเข้มข้นยูเรีย (U) เริ่มต้นต่ออัตราการผลิตกรดแลคติกของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ U เริ่มต้น	การหมักกะซ้ำที่	อัตราการผลิตกรดแลคติกต่อวัตถุดิบแป้งตั้งต้น (g/g)				
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.2% (w/v)	1	0.64	0.68	0.64	0.65	0.01
	2	0.72	0.74	0.68	0.71	0.02
	3	0.65	0.63	0.65	0.64	0.01
	4	0.64	0.63	0.63	0.63	0.00
0.4% (w/v)	1	0.40	0.38	0.42	0.40	0.01
	2	0.42	0.42	0.48	0.44	0.02
	3	0.30	0.34	0.32	0.32	0.01
	4	0.20	0.16	0.20	0.19	0.01



ตาราง ภาคผนวก ง-3.3 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะซ้าที่	อัตราการผลิตกรดแลคติกต่อวัตถุดิบแห้งตั้งต้น (g/g)				
		ซ้าที่ 1	ซ้าที่ 2	ซ้าที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.8% (w/v)	1	0.21	0.20	0.21	0.21	0.00
	2	0.28	0.30	0.32	0.30	0.01
	3	0.21	0.21	0.22	0.21	0.00
	4	0.20	0.18	0.14	0.17	0.02

ตาราง ภาคผนวก ง-3.4 ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณแป้งในกระบวนการหมักแบบกะซ้า เพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L.*

*plantarum* MSUL 702

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะซ้าที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแป้ง (g/l)				
			ซ้าที่ 1	ซ้าที่ 2	ซ้าที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.2% (w/v)	1	0	33.33	33.35	33.33	33.34	0.01
		24	3.48	3.52	3.50	3.50	0.02
		48	0.03	0.04	0.04	0.04	0.01
	2	72	34.00	34.02	34.02	34.01	0.01
		96	2.54	2.58	2.54	2.55	0.02
		120	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01
	3	144	34.00	34.00	34.00	34.00	0.00
		168	4.50	4.56	4.58	4.55	0.04
		192	0.01	0.02	0.04	0.02	0.02
		4	216	36.67	36.67	36.70	36.68
	240		5.25	5.25	5.29	5.26	0.02
	264		0.50	0.52	0.56	0.53	0.03
288	36.67		36.67	36.72	36.69	0.03	



ตาราง ภาคผนวก ง-3.4 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะขี้ที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแป้ง (g/l)					
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
0.4% (w/v)	1	0	33.33	33.33	33.33	33.33	0.00	
		24	25.04	25.02	25.02	25.03	0.01	
		48	2.54	2.56	2.53	2.54	0.02	
	2	72	38.46	38.50	38.48	38.48	0.02	
		96	24.42	24.46	24.48	24.45	0.03	
		120	1.54	1.54	1.58	1.55	0.02	
	3	144	36.67	36.70	36.72	36.70	0.03	
		168	28.68	28.65	28.70	28.68	0.03	
		192	5.26	5.24	5.27	5.26	0.02	
	4	216	38.48	38.40	38.55	38.48	0.08	
		240	22.29	22.23	22.30	22.27	0.04	
		264	4.56	4.50	4.52	4.53	0.03	
		288	42.04	42.00	42.02	42.02	0.02	
	0.8% (w/v)	1	0	33.33	33.33	33.33	33.33	0.00
			24	28.04	28.00	28.04	28.03	0.02
			48	14.68	14.65	14.67	14.67	0.02
2		72	42.05	42.02	42.02	42.03	0.02	
		96	33.38	33.32	33.35	33.35	0.03	
		120	25.04	25.02	25.02	25.03	0.01	
3		144	48.68	48.62	48.65	48.65	0.03	
		168	36.67	36.65	36.67	36.66	0.01	
		192	28.04	28.00	28.06	28.03	0.03	
4		216	48.69	48.60	48.70	48.66	0.06	
		240	35.02	34.96	35.06	35.01	0.05	
		264	28.02	28.00	28.03	28.02	0.02	
		288	48.69	48.63	48.65	48.66	0.03	



ตาราง ภาคผนวก ง-3.5 ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียใน  
กระบวนการหมักแบบกะซ่ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะซ่ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml)					
			ซ่ำที่ 1	ซ่ำที่ 2	ซ่ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
0.2% (w/v)	1	0	8.31	8.31	8.31	8.31	0.00	
		24	9.28	9.22	9.26	9.25	0.02	
		48	10.25	10.25	9.26	9.92	0.33	
	2	72	8.30	8.33	8.35	8.33	0.01	
		96	9.28	9.28	9.33	9.30	0.02	
		120	10.28	11.11	11.11	10.83	0.28	
	3	144	8.28	8.30	8.25	8.28	0.01	
		168	9.28	9.26	9.26	9.27	0.01	
		192	9.83	10.2	9.80	9.94	0.13	
	4	216	8.28	8.26	8.31	8.28	0.01	
		240	8.30	8.31	8.28	8.30	0.01	
		264	8.98	8.90	8.90	8.93	0.03	
		288	8.28	8.30	8.25	8.28	0.01	
	0.4% (w/v)	1	0	8.31	8.30	8.30	8.31	0.00
			24	8.52	8.52	8.52	8.52	0.00
			48	8.90	8.90	9.28	8.90	0.13
2		72	8.30	8.30	8.30	8.30	0.00	
		96	8.58	8.63	8.63	8.58	0.02	
		120	9.28	9.30	9.30	9.28	0.01	
3		144	7.98	7.95	7.98	7.98	0.01	
		168	8.30	8.52	8.30	8.30	0.07	
		192	8.90	8.63	8.63	8.72	0.09	





ตาราง ภาคผนวก ง-3.5 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.4% (w/v)	4	216	7.30	7.23	7.33	7.29	0.03
		240	7.98	7.98	7.95	7.97	0.01
		264	8.20	8.20	7.98	8.13	0.07
		288	7.28	7.28	7.28	7.28	0.00
0.8% (w/v)	1	0	8.30	8.30	8.30	8.30	0.00
		24	8.32	8.30	8.30	8.31	0.01
		48	8.38	8.40	8.40	8.39	0.01
	2	72	8.30	8.32	8.30	8.31	0.01
		96	8.38	8.38	8.38	8.38	0.00
		120	8.62	8.59	8.68	8.63	0.03
	3	144	7.65	7.48	7.60	7.58	0.05
		168	7.98	8.00	7.96	7.98	0.01
		192	8.20	8.2	7.98	8.13	0.07
	4	216	6.95	6.86	6.86	6.89	0.03
		240	6.98	6.98	6.98	6.98	0.00
		264	7.20	7.28	7.28	7.25	0.03
		288	6.86	6.72	6.86	6.81	0.05



ตาราง ภาคผนวก ง-3.6 ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อปริมาณชีวมวลเซลล์ในกระบวนการหมัก  
แบบกะซ้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วย  
เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะซ้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณชีวมวลเซลล์ (mg/l)					
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
0.2% (w/v)	1	0	2,100	2,000	2,000	2,033	33.33	
		24	3,300	2,600	3,300	3,067	233.33	
		48	3,800	3,300	3,000	3,367	233.33	
	2	72	2,200	2,500	2,200	2,300	100.00	
		96	3,000	3,800	3,500	3,433	233.33	
		120	3,800	4,000	4,000	3,933	66.67	
	3	144	2,200	2,200	2,300	2,233	33.33	
		168	3,000	3,300	3,300	3,200	100.00	
		192	3,700	3,800	3,800	3,767	33.33	
	4	216	2,200	2,200	2,200	2,200	0.00	
		240	3,300	3,100	3,400	3,267	88.19	
		264	3,300	3,400	3,400	3,367	33.33	
		288	2,000	2,000	2,200	2,067	66.67	
	0.4% (w/v)	1	0	2,000	2,000	2,000	2,000	0.00
			24	2,500	2,600	2,800	2,633	88.19
			48	3,000	2,800	3,000	2,933	66.67
2		72	2,200	2,200	2,200	2,200	0.00	
		96	2,800	2,800	2,800	2,800	0.00	
		120	3,400	3,200	3,400	3,333	66.67	
3		144	2,000	2,200	2,000	2,067	66.67	
		168	3,000	2,800	2,800	2,867	66.67	
		192	3,200	3,200	3,000	3,133	66.67	



ตาราง ภาคผนวก ง-3.6 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณชีวมวลเซลล์ (mg/l)				
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.4% (w/v)	4	216	2,000	2,000	1,800	1,933	66.67
		240	2,200	2,200	2,200	2,200	0.00
		264	2,800	3,000	2,600	2,800	115.47
		288	1,800	1,800	1,800	1,800	0.00
0.8% (w/v)	1	0	2,000	2,000	2,000	2,000	0.00
		24	2,200	2,200	2,200	2,200	0.00
		48	2,600	2,600	2,200	2,467	133.33
	2	72	2,000	2,000	2,200	2,067	66.67
		96	2,200	2,200	2,200	2,200	0.00
		120	2,600	2,600	2,400	2,533	66.67
	3	144	2,000	2,000	2,000	2,000	0.00
		168	2,200	2,200	2,400	2,267	66.67
		192	2,400	2,400	2,200	2,333	66.67
	4	216	1,800	1,800	1,800	1,800	0.00
		240	2,000	2,000	2,000	2,000	0.00
		264	2,200	2,000	2,200	2,133	66.67
		288	1,600	1,600	1,800	1,667	66.67



ตาราง ภาคผนวก ง-3.7 ผลของความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นต่อความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก  
และประสิทธิภาพการกำจัด COD ในกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรด  
แลคติกจาก น้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum*  
MSUL 702

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะช้ำที่	เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (mg/l)					การกำจัด COD (%) *	
			ช้ำที่ 1	ช้ำที่ 2	ช้ำที่ 3	เฉลี่ย	S.D.		
0.2% (w/v)	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		24	4,365	4,365	4,365	4,365	0.00	45.44	
		48	873	873	873	873	0.00	89.09	
	2	72	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		96	3,575	3,575	3,575	3,575	0.00	55.31	
		120	143	143	143	143	0.00	98.21	
	3	144	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		168	5,817	5,817	3,575	5,070	747.33	36.63	
		192	143	143	579	288	145.33	96.40	
	4	216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		240	4,365	4,365	6,547	5,092	727.47	36.35	
		264	873	1,309	1,309	1,164	145.49	85.45	
		288	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
	0.4% (w/v)	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
			24	6,547	6,547	4,365	5,820	727.47	27.25
			48	4,365	4,365	1,309	3,346	1018.45	58.17
2		72	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		96	5,817	5,817	3,575	5,070	747.33	36.63	
		120	579	3,575	3,575	2,576	998.67	67.80	
3		144	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00	
		168	5,817	5,817	5,817	5,817	0.00	27.29	
		192	3,575	3,575	3,575	3,575	0.00	55.31	

หมายเหตุ \* เทียบจาก COD เริ่มต้นในกระบวนการหมัก 8,000 mg/l



ตาราง ภาคผนวก ง-3.7 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	การหมัก กะซ้าที่	เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้น COD ของน้ำหมัก (mg/l)					การกำจัด COD (%) *
			ซ้าที่ 1	ซ้าที่ 2	ซ้าที่ 3	เฉลี่ย	S.D.	
0.4% (w/v)	4	216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		240	5,817	5,817	5,817	5,817	0.00	27.29
		264	3,575	3,575	3,575	3,575	0.00	55.31
		288	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
0.8% (w/v)	1	0	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		24	8,002	6,547	6,547	7,032	484.98	12.10
		48	4,365	4,365	4,365	4,365	0.00	45.44
	2	72	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		96	7,272	7,272	5,815	6,786	485.67	15.17
		120	3,575	3,575	3,575	3,575	0.00	55.31
	3	144	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		168	7,272	7,272	7,272	7,272	0.00	9.10
		192	5,817	5,817	3,575	5,070	747.33	36.63
	4	216	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00
		240	8,000	7,272	7,272	7,515	242.67	6.07
		264	7,272	7,272	7,272	7,272	0.00	9.10
		288	8,000	8,000	8,000	8,000	0.00	0.00

หมายเหตุ \* เทียบจาก COD เริ่มต้นในกระบวนการหมัก 8,000 mg/l



ภาคผนวก จ  
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ



## การศึกษา DO ที่เหมาะสม

ตาราง ภาคผนวก จ-1.1 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของแต่ละกะซ้ำ  
ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วย เชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO  
ของการหมักที่แตกต่างกัน

DO	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1.0 - 1.5	กะซ้ำที่ 1	กะซ้ำที่ 2	.21967*	.06171	.046	.0041	.4352
		กะซ้ำที่ 3	.88800*	.06171	.000	.6725	1.1035
		กะซ้ำที่ 4	11.48067*	.06171	.000	11.2651	11.6962
	กะซ้ำที่ 2	กะซ้ำที่ 1	-.21967*	.06171	.046	-.4352	-.0041
		กะซ้ำที่ 3	.66833*	.06171	.000	.4528	.8839
		กะซ้ำที่ 4	11.26100*	.06171	.000	11.0455	11.4765
	กะซ้ำที่ 3	กะซ้ำที่ 1	-.88800*	.06171	.000	-1.1035	-.6725
		กะซ้ำที่ 2	-.66833*	.06171	.000	-.8839	-.4528
		กะซ้ำที่ 4	10.59267*	.06171	.000	10.3771	10.8082
	กะซ้ำที่ 4	กะซ้ำที่ 1	-11.48067*	.06171	.000	-11.6962	-11.2651
		กะซ้ำที่ 2	-11.26100*	.06171	.000	-11.4765	-11.0455
		กะซ้ำที่ 3	-10.59267*	.06171	.000	-10.8082	-10.3771
≤ 0.5	กะซ้ำที่ 1	กะซ้ำที่ 2	-.62133*	.08598	.001	-.9216	-.3210
		กะซ้ำที่ 3	-1.44267*	.08598	.000	-1.7430	-1.1424
		กะซ้ำที่ 4	5.03333*	.08598	.000	4.7330	5.3336
	กะซ้ำที่ 2	กะซ้ำที่ 1	.62133*	.08598	.001	.3210	.9216
		กะซ้ำที่ 3	-.82133*	.08598	.000	-1.1216	-.5210
		กะซ้ำที่ 4	5.65467*	.08598	.000	5.3544	5.9550
	กะซ้ำที่ 3	กะซ้ำที่ 1	1.44267*	.08598	.000	1.1424	1.7430
		กะซ้ำที่ 2	.82133*	.08598	.000	.5210	1.1216
		กะซ้ำที่ 4	6.47600*	.08598	.000	6.1757	6.7763
	กะซ้ำที่ 4	กะซ้ำที่ 1	-5.03333*	.08598	.000	-5.3336	-4.7330
		กะซ้ำที่ 2	-5.65467*	.08598	.000	-5.9550	-5.3544
		กะซ้ำที่ 3	-6.47600*	.08598	.000	-6.7763	-6.1757



ตาราง ภาคผนวก จ-1.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO ของการหมักที่แตกต่างกัน

(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
DO 1.0 – 1.5	DO ≤ 0.5	14.7486	2.0547	.0000	10.5774	.5754
DO ≤ 0.5	DO 1.0 – 1.5	10.6442	2.0547	.0000	6.5037	.5758

ตารางภาคผนวก จ-1.3 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของแต่ละกะช้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO ของการหมักที่แตกต่างกัน

DO	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
1.0 - 1.5	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	-32.76667*	.04397	.000	-32.9202	-32.6131
		กะช้ำที่ 3	-.09333	.04397	.286	-.2469	.0602
		กะช้ำที่ 4	9.01000*	.04397	.000	8.8564	9.1636
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	32.76667*	.04397	.000	32.6131	32.9202
		กะช้ำที่ 3	32.67333*	.04397	.000	32.5198	32.8269
		กะช้ำที่ 4	41.77667*	.04397	.000	41.6231	41.9302
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	.09333	.04397	.286	-.0602	.2469
		กะช้ำที่ 2	-32.67333*	.04397	.000	-32.8269	-32.5198
		กะช้ำที่ 4	9.10333*	.04397	.000	8.9498	9.2569
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-9.01000*	.04397	.000	-9.1636	-8.8564
		กะช้ำที่ 2	-41.77667*	.04397	.000	-41.9302	-41.6231
		กะช้ำที่ 3	-9.10333*	.04397	.000	-9.2569	-8.9498





ตาราง ภาคผนวก จ-1.3 (ต่อ)

DO	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
≤ 0.5	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	1.74667*	.03742	.000	1.6160	1.8773
		กะช้ำที่ 3	1.76000*	.03742	.000	1.6293	1.8907
		กะช้ำที่ 4	1.79333*	.03742	.000	1.6627	1.9240
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	-1.74667*	.03742	.000	-1.8773	-1.6160
		กะช้ำที่ 3	.01333	.03742	.988	-.1173	.1440
		กะช้ำที่ 4	.04667	.03742	.681	-.0840	.1773
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	-1.76000*	.03742	.000	-1.8907	-1.6293
		กะช้ำที่ 2	-.01333	.03742	.988	-.1440	.1173
		กะช้ำที่ 4	.03333	.03742	.849	-.0973	.1640
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-1.79333*	.03742	.000	-1.9240	-1.6627
		กะช้ำที่ 2	-.04667	.03742	.681	-.1773	.0840
		กะช้ำที่ 3	-.03333	.03742	.849	-.1640	.0973

ตาราง ภาคผนวก จ-1.4 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของ  
กระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า DO ของ  
การหมักที่แตกต่างกัน

(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
DO 1.0 – 1.5	DO ≤ 0.5	18.8646	3.2712	.0000	12.2423	25.4869
DO ≤ 0.5	DO 1.0 – 1.5	36.7869	5.9800	.0000	24.6810	48.8928



### การศึกษา pH เริ่มต้นที่เหมาะสม

ตารางภาคผนวก จ-2.1 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของแต่ละกะช้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า pH เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

ที่ pH เริ่มต้น	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
5.0	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	-1.86500*	.07605	.000	-2.1089	-1.6211
		กะช้ำที่ 3	10.85833*	.07605	.000	10.6144	11.1022
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	1.86500*	.07605	.000	1.6211	2.1089
		กะช้ำที่ 3	12.72333*	.07605	.000	12.4794	12.9672
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	-10.85833*	.07605	.000	-11.1022	-10.6144
		กะช้ำที่ 2	-12.72333*	.07605	.000	-12.9672	-12.4794
5.5	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	.80433*	.06387	.000	.5813	1.0274
		กะช้ำที่ 3	1.31000*	.06387	.000	1.0869	1.5331
		กะช้ำที่ 4	1.57800*	.06387	.000	1.3549	1.8011
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	-.80433*	.06387	.000	-1.0274	-.5813
		กะช้ำที่ 3	.50567*	.06387	.000	.2826	.7287
		กะช้ำที่ 4	.77367*	.06387	.000	.5506	.9967
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	-1.31000*	.06387	.000	-1.5331	-1.0869
		กะช้ำที่ 2	-.50567*	.06387	.000	-.7287	-.2826
		กะช้ำที่ 4	.26800*	.06387	.020	.0449	.4911
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-1.57800*	.06387	.000	-1.8011	-1.3549
		กะช้ำที่ 2	-.77367*	.06387	.000	-.9967	-.5506
		กะช้ำที่ 3	-.26800*	.06387	.020	-.4911	-.0449



ตาราง ภาคผนวก จ-2.1 (ต่อ)

ที่ pH เริ่มต้น	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
6.5	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	.21967	.07354	.097	-.0372	.4765
		กะช้ำที่ 3	.86933 *	.07354	.000	.6125	1.1262
		กะช้ำที่ 4	3.77700 *	.07354	.000	3.5201	4.0339
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	-.21967	.07354	.097	-.4765	.0372
		กะช้ำที่ 3	.64967 *	.07354	.000	.3928	.9065
		กะช้ำที่ 4	3.55733 *	.07354	.000	3.3005	3.8142
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	-.86933 *	.07354	.000	-1.1262	-.6125
		กะช้ำที่ 2	-.64967 *	.07354	.000	-.9065	-.3928
		กะช้ำที่ 4	2.90767 *	.07354	.000	2.6508	3.1645
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-3.77700 *	.07354	.000	-4.0339	-3.5201
		กะช้ำที่ 2	-3.55733 *	.07354	.000	-3.8142	-3.3005
		กะช้ำที่ 3	-2.90767 *	.07354	.000	-3.1645	-2.6508

ตาราง ภาคผนวก จ-2.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า pH เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

(I) Interaction	(J) Interaction	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
pH 5.0	pH 5.0	1.724	2.3203	.759	-4.0311	7.4786
	pH 6.5	-.1313	2.3203	.998	-5.8862	5.6235
pH 5.0	pH 5.0	-1.724	2.3203	.759	-7.4786	4.0311
	pH 6.5	-1.855	2.3203	.727	-7.6099	3.8998
pH 6.5	pH 5.0	.1313	2.3203	.998	-5.6235	5.8862
	pH 5.0	1.855	2.3203	.727	-3.8998	7.6099



ตาราง ภาคผนวก จ-2.3 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของแต่ละกะเช้าในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า pH เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

ที่ pH เริ่มต้น	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
5.0	กะเช้าที่ 1	กะเช้าที่ 2	-21.23333 *	.02524	.000	-21.3143	-21.1524
		กะเช้าที่ 3	-4.23667 *	.02524	.000	-4.3176	-4.1557
	กะเช้าที่ 2	กะเช้าที่ 1	21.23333 *	.02524	.000	21.1524	21.3143
		กะเช้าที่ 3	16.99667 *	.02524	.000	16.9157	17.0776
	กะเช้าที่ 3	กะเช้าที่ 1	4.23667 *	.02524	.000	4.1557	4.3176
		กะเช้าที่ 2	-16.99667 *	.02524	.000	-17.0776	-16.9157
5.5	กะเช้าที่ 1	กะเช้าที่ 2	-.00667	.01472	.975	-.0581	.0447
		กะเช้าที่ 3	8.95333 *	.01472	.000	8.9019	9.0047
		กะเช้าที่ 4	-.02667	.01472	.406	-.0781	.0247
	กะเช้าที่ 2	กะเช้าที่ 1	.00667	.01472	.975	-.0447	.0581
		กะเช้าที่ 3	8.96000 *	.01472	.000	8.9086	9.0114
		กะเช้าที่ 4	-.02000	.01472	.624	-.0714	.0314
	กะเช้าที่ 3	กะเช้าที่ 1	-8.95333 *	.01472	.000	-9.0047	-8.9019
		กะเช้าที่ 2	-8.96000 *	.01472	.000	-9.0114	-8.9086
		กะเช้าที่ 4	-8.98000 *	.01472	.000	-9.0314	-8.9286
	กะเช้าที่ 4	กะเช้าที่ 1	.02667	.01472	.406	-.0247	.0781
		กะเช้าที่ 2	.02000	.01472	.624	-.0314	.0714
		กะเช้าที่ 3	8.98000 *	.01472	.000	8.9286	9.0314
6.5	กะเช้าที่ 1	กะเช้าที่ 2	1.74667 *	.03742	.000	1.6160	1.8773
		กะเช้าที่ 3	1.76000 *	.03742	.000	1.6293	1.8907
		กะเช้าที่ 4	1.79333 *	.03742	.000	1.6627	1.9240
	กะเช้าที่ 2	กะเช้าที่ 1	-1.74667 *	.03742	.000	-1.8773	-1.6160
		กะเช้าที่ 3	.01333	.03742	.988	-.1173	.1440
		กะเช้าที่ 4	.04667	.03742	.681	-.0840	.1773
	กะเช้าที่ 3	กะเช้าที่ 1	-1.76000 *	.03742	.000	-1.8907	-1.6293
		กะเช้าที่ 2	-.01333	.03742	.988	-.1440	.1173
		กะเช้าที่ 4	.03333	.03742	.849	-.0973	.1640
	กะเช้าที่ 4	กะเช้าที่ 1	-1.79333 *	.03742	.000	-1.9240	-1.6627
		กะเช้าที่ 2	-.04667	.03742	.681	-.1773	.0840
		กะเช้าที่ 3	-.03333	.03742	.849	-.1640	.0973



ตาราง ภาคผนวก จ-2.4 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของ  
กระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่า pH  
เริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

(I) Interaction	(J) Interaction	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
pH 5.0	pH 5.5	4.60769	7.76091	.839	-14.6414	23.8568
	pH 6.5	-3.96231	7.76091	.878	-23.2114	15.2868
pH 5.5	pH 5.0	-4.60769	7.76091	.839	-23.8568	14.6414
	pH 6.5	-8.57000	7.76091	.545	-27.8191	10.6791
pH 6.5	pH 5.0	3.96231	7.76091	.878	-15.2868	23.2114
	pH 5.5	8.57000	7.76091	.545	-10.6791	27.8191



### การศึกษาความเข้มข้นยูเรีย (U) เริ่มต้นที่เหมาะสม

ตาราง ภาคผนวก จ-3.1 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของแต่ละกะซ้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

ที่ U เริ่มต้น	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
0.2% (w/v)	กะซ้ำที่ 1	กะซ้ำที่ 2	.76333	2.14386	.988	-6.7244	8.2511
		กะซ้ำที่ 3	.51667	2.14386	.996	-6.9711	8.0044
		กะซ้ำที่ 4	1.03000	2.14386	.971	-6.4577	8.5177
	กะซ้ำที่ 2	กะซ้ำที่ 1	-.76333	2.14386	.988	-8.2511	6.7244
		กะซ้ำที่ 3	-.24667	2.14386	1.000	-7.7344	7.2411
		กะซ้ำที่ 4	.26667	2.14386	.999	-7.2211	7.7544
	กะซ้ำที่ 3	กะซ้ำที่ 1	-.51667	2.14386	.996	-8.0044	6.9711
		กะซ้ำที่ 2	.24667	2.14386	1.000	-7.2411	7.7344
		กะซ้ำที่ 4	.51333	2.14386	.996	-6.9744	8.0011
	กะซ้ำที่ 4	กะซ้ำที่ 1	-1.03000	2.14386	.971	-8.5177	6.4577
		กะซ้ำที่ 2	-.26667	2.14386	.999	-7.7544	7.2211
		กะซ้ำที่ 3	-.51333	2.14386	.996	-8.0011	6.9744
0.4% (w/v)	กะซ้ำที่ 1	กะซ้ำที่ 2	-2.18000	.90776	.204	-5.3505	.9905
		กะซ้ำที่ 3	4.14000*	.90776	.013	.9695	7.3105
		กะซ้ำที่ 4	9.96667*	.90776	.000	6.7962	13.1371
	กะซ้ำที่ 2	กะซ้ำที่ 1	2.18000	.90776	.204	-.9905	5.3505
		กะซ้ำที่ 3	6.32000*	.90776	.001	3.1495	9.4905
		กะซ้ำที่ 4	12.14667*	.90776	.000	8.9762	15.3171
	กะซ้ำที่ 3	กะซ้ำที่ 1	-4.14000*	.90776	.013	-7.3105	-.9695
		กะซ้ำที่ 2	-6.32000*	.90776	.001	-9.4905	-3.1495
		กะซ้ำที่ 4	5.82667*	.90776	.002	2.6562	8.9971
	กะซ้ำที่ 4	กะซ้ำที่ 1	-9.96667*	.90776	.000	-13.1371	-6.7962
		กะซ้ำที่ 2	-12.14667*	.90776	.000	-15.3171	-8.9762
		กะซ้ำที่ 3	-5.82667*	.90776	.002	-8.9971	-2.6562



ตาราง ภาคผนวก จ-3.1 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
0.8% (w/v)	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	-4.04667*	.08913	.000	-4.3580	-3.7354
		กะช้ำที่ 3	.12667	.08913	.592	-.1846	.4380
		กะช้ำที่ 4	2.02000*	.08913	.000	1.7087	2.3313
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	4.04667*	.08913	.000	3.7354	4.3580
		กะช้ำที่ 3	4.17333*	.08913	.000	3.8620	4.4846
		กะช้ำที่ 4	6.06667*	.08913	.000	5.7554	6.3780
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	-.12667	.08913	.592	-.4380	.1846
		กะช้ำที่ 2	-4.17333*	.08913	.000	-4.4846	-3.8620
		กะช้ำที่ 4	1.89333*	.08913	.000	1.5820	2.2046
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-2.02000*	.08913	.000	-2.3313	-1.7087
		กะช้ำที่ 2	-6.06667*	.08913	.000	-6.3780	-5.7554
		กะช้ำที่ 3	-1.89333*	.08913	.000	-2.2046	-1.5820

ตาราง ภาคผนวก จ-3.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณกรดแลคติกแบบ Scheffe Test ของกระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังสังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

(I) Interaction	(J) Interaction	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
U 0.2% (w/v)	U 0.4% (w/v)	6.8964*	2.0770	.005	1.7450	12.0477
	U 0.8% (w/v)	9.7984*	2.0770	.000	4.6471	14.9498
U 0.4% (w/v)	U 0.2% (w/v)	-6.8964*	2.0770	.005	-12.0477	-1.7450
	U 0.8% (w/v)	2.9021	2.0770	.380	-2.2493	8.0534
U 0.8% (w/v)	U 0.2% (w/v)	-9.7984*	2.0770	.000	-14.9498	-4.6471
	U 0.4% (w/v)	-2.9021	2.0770	.380	-8.0534	2.2493



ตาราง ภาคผนวก จ-3.3 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของแต่ละกะ ช้ำในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง สังกเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่าความเข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

ที่ U เริ่มต้น	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
0.2% (w/v)	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	-8.87667*	.05558	.000	-9.0708	-8.6826
		กะช้ำที่ 3	-7.26000*	.05558	.000	-7.4541	-7.0659
		กะช้ำที่ 4	3.62000*	.05558	.000	3.4259	3.8141
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	8.87667*	.05558	.000	8.6826	9.0708
		กะช้ำที่ 3	1.61667*	.05558	.000	1.4226	1.8108
		กะช้ำที่ 4	12.49667*	.05558	.000	12.3026	12.6908
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	7.26000*	.05558	.000	7.0659	7.4541
		กะช้ำที่ 2	-1.61667*	.05558	.000	-1.8108	-1.4226
		กะช้ำที่ 4	10.88000*	.05558	.000	10.6859	11.0741
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-3.62000*	.05558	.000	-3.8141	-3.4259
		กะช้ำที่ 2	-12.49667*	.05558	.000	-12.6908	-12.3026
		กะช้ำที่ 3	-10.88000*	.05558	.000	-11.0741	-10.6859
0.4% (w/v)	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	-9.57000*	.09168	.000	-9.8902	-9.2498
		กะช้ำที่ 3	2.96000*	.09168	.000	2.6398	3.2802
		กะช้ำที่ 4	2.87667*	.09168	.000	2.5565	3.1969
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	9.57000*	.09168	.000	9.2498	9.8902
		กะช้ำที่ 3	12.53000*	.09168	.000	12.2098	12.8502
		กะช้ำที่ 4	12.44667*	.09168	.000	12.1265	12.7669
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	-2.96000*	.09168	.000	-3.2802	-2.6398
		กะช้ำที่ 2	-12.53000*	.09168	.000	-12.8502	-12.2098
		กะช้ำที่ 4	-.08333	.09168	.842	-.4035	.2369
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-2.87667*	.09168	.000	-3.1969	-2.5565
		กะช้ำที่ 2	-12.44667*	.09168	.000	-12.7669	-12.1265
		กะช้ำที่ 3	.08333	.09168	.842	-.2369	.4035





ตาราง ภาคผนวก จ-3.3 (ต่อ)

ที่ U เริ่มต้น	(I) Interac- tion	(J) Interac- tion	Mean Diffe- rence	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
0.8% (w/v)	กะช้ำที่ 1	กะช้ำที่ 2	-9.71000*	.18020	.000	-10.3394	-9.0806
		กะช้ำที่ 3	9.04667*	.18020	.000	8.4173	9.6760
		กะช้ำที่ 4	36.39000*	.18020	.000	35.7606	37.0194
	กะช้ำที่ 2	กะช้ำที่ 1	9.71000*	.18020	.000	9.0806	10.3394
		กะช้ำที่ 3	18.75667*	.18020	.000	18.1273	19.3860
		กะช้ำที่ 4	46.10000*	.18020	.000	45.4706	46.7294
	กะช้ำที่ 3	กะช้ำที่ 1	-9.04667*	.18020	.000	-9.6760	-8.4173
		กะช้ำที่ 2	-18.75667*	.18020	.000	-19.3860	-18.1273
		กะช้ำที่ 4	27.34333*	.18020	.000	26.7140	27.9727
	กะช้ำที่ 4	กะช้ำที่ 1	-36.39000*	.18020	.000	-37.0194	-35.7606
		กะช้ำที่ 2	-46.10000*	.18020	.000	-46.7294	-45.4706
		กะช้ำที่ 3	-27.34333*	.18020	.000	-27.9727	-26.7140

ตาราง ภาคผนวก จ-3.4 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด COD แบบ Scheffe Test ของ  
กระบวนการหมักแบบกะช้ำเพื่อผลิตกรดแลคติกจากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลัง  
สังเคราะห์ด้วยเชื้อ *L. plantarum* MSUL 702 เมื่อมีการควบคุมค่าความ  
เข้มข้นยูเรียเริ่มต้นของการหมักที่แตกต่างกัน

(I) Interaction	(J) Interaction	Mean Differenc e	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
U 0.2% (w/v)	U 0.4% (w/v)	14.44769	6.52718	.091	-1.7414	30.6368
	U 0.8% (w/v)	27.22692*	6.52718	.000	11.0378	43.4161
U 0.4% (w/v)	U 0.2% (w/v)	-14.44769	6.52718	.091	-30.6368	1.7414
	U 0.8% (w/v)	12.77923	6.52718	.152	-3.4099	28.9684
U 0.8% (w/v)	U 0.2% (w/v)	-27.22692*	6.52718	.000	-43.4161	-11.0378
	U 0.4% (w/v)	-12.77923	6.52718	.152	-28.9684	3.4099





ประวัติย่อผู้วิจัย



## ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นามสกุล	นางสาวสิริรัตน์ ตอสูงเนิน
วัน เดือน ปีเกิด	วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2531
จังหวัด และประเทศที่เกิด	จังหวัดชัยภูมิ ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2549 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนกาญจนาภิเษกวิทยาลัย จังหวัดชัยภูมิ พ.ศ. 2553 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2557 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	บ้านเลขที่ 171/2 หมู่ 1 ตำบลบ้านชนวน อำเภอบำเหน็จณรงค์ จังหวัดชัยภูมิ 32000

