บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

กระบวนการผลิตกรดแลกติกในขวดเขย่าแบบไม่ต่อเนื่อง

การคัดเลือกชนิดของด่างที่ใช้ในการควบคุมพีเอช

พบปัญหาของการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตได้แก่ การตกตะกอนของแคลเซียมแลกเตทและคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำของแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนรูปร่างของเชื้อรา อีกทั้งการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงในถังหมักก็ปฏิบัติได้ยาก จึงเลือกใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในการควบคุมพีเอช

การคัดเลือกเส้นใยที่เหมาะสม

พบว่า การหมักแบบเซลล์ตรึงโดยใช้ผ้าฝ้ายชนิดที่ถัก สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงสุด ลักษณะของเซลล์ถูกตรึงแบบแผ่น (Sheet) การตรึงเซลล์นั้นสามารถช่วยเพิ่มอัตราการผลิตกรดแลกติก น้ำหนักเซลล์และช่วยในการควบคุมลักษณะสัณฐานของเชื้อราได้

กระบวนการผลิตกรดแลกติกในถังหมัก 5 ลิตร

การหมักกรดแลกติกแบบเซลล์แขวนลอยในถังกวน

พบว่า รอบการกวน 300 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด พบปัญหาเรื่องสัณฐานของเชื้อรา เซลล์มีการเจริญแบบกลุ่มก้อน (Clump) ที่บริเวณด้านบนและด้านล่างของถังหมัก เกิดการจำกัดการถ่ายออกซิเจนและอาหาร (Oxygen and substrate transfer limitation) ภายในเซลล์ การกวนเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อระบบการหมักในถังหมัก เมื่อเพิ่มการกวนทำให้การถ่ายเทออกซิเจนภายในถังหมักดีขึ้น แต่ที่รอบการกวนสูงจะส่งผลให้แรงเฉือนสูงทำให้เซลล์ถูกตัดเป็นชิ้นเล็กๆ (Fragmentation) จึงสูญเสียเซลล์ในการเปลี่ยนถ่ายอาหาร ทำให้การผลิตกรดแลกติกลดลงและเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศ พบว่า อัตราการผลิตกรดแลกติกเพิ่มขึ้นส่วนอัตราการผลิตเอทานอลลดลง

การหมักกรดแลกติกแบบเซลล์ตรึงในถังหมักแบบเบดสถิต

ค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจนภายในถังหมักแบบเบดสถิตมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการหมักแบบเซลล์แขวนลอยในถังกวนที่สภาวะเดียวกันถึง 4 เท่า การหมักในถังหมักแบบเบดสถิตช่วยเพิ่มการถ่ายเทออกซิเจนและอาหารภายในถังหมัก และช่วยเพิ่มการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีภายในเซลล์ ช่วยควบคุมลักษณะสัณฐานของเชื้อรา และช่วยเพิ่มอัตราการผลิตกรดแลกติก ที่รอบการกวน 700 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศเท่ากับ 0.50 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด โดยผลิตเอทานอลและผลิตภัณฑ์อื่นต่ำกว่าการหมักแบบเซลล์แขวนลอยในถังกวนที่สภาวะเดียวกัน

วิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างของ *R. oryzae*

รอบการกวนมีผลทำให้เกิดกิ่งเล็กๆ (Fragmentation) ภายในสาย ที่สภาวะอัตราการกวน 700 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที เส้นใยของเชื้อราเกิดกิ่งเล็กๆขึ้นภายในสายจำนวนมาก การเกิดกิ่งเล็กๆขึ้นภายในสายใยรา ทำให้สามารถผลิตกรดแลกติกได้เพิ่มขึ้น แสดงว่า อัตราการให้อากาศมีผลต่อลักษณะสัณฐานของเชื้อราและการผลิตกรดแลกติก

ศึกษาแอกติวิตีของแลกเตทดีไฮโดรจีเนส

การหมักแบบเซลล์แขวนลอยในถังกวนที่อัตราการกวน 700 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ค่าแอกติวิตีจำเพาะของแลกเตทดีไฮโดรจีเนสที่ 72 ชั่วโมง มีค่าสูงที่สุด และค่าแอกติวิตีจำเพาะของแลกเตทดีไฮโดรจีเนส ในอาหารเพื่อการเจริญมีค่าต่ำ การหมักแบบเซลล์แขวนลอยในถังกวน มีค่าแอกติวิตีจำเพาะของแลกเตทดีไฮโดรจีเนสสูงกว่าการหมักในถังหมักแบบเบดสถิต ปริมาณของมิลลิกรัมโปรตีนต่อน้ำหนักกับปริมาณของกรดแลกติกมีความสัมพันธ์กัน ค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจนมีผลต่อการผลิตกรดแลกติกและค่าแอกติวิตีจำเพาะของแลกเตทดีไฮโดรจีเนสมีค่าลดลงเมื่อปริมาณของกลูโคสหมด

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกโดยเซลล์ตรึงบนผ้าฝ้ายชนิดที่ถักในถังหมักแบบเบดสถิต โดยการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch fermentation) มีปัญหาเรื่องอาหาร เนื่องจากเป็นการหมักในระบบปิดที่มีสารอาหารเริ่มต้นปริมาณจำกัด ในระบบจะไม่มีการเติมสารอาหารใดๆเพิ่มลงไปอีก ดังนั้นจึงควรทดลองใช้การหมักในระบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) เพื่อลดปัญหาการขาดอาหารของเชื้อ

2. ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่สามารถหาได้จากท้องถิ่นได้แก่ กากน้ำตาลและมันสำปะหลังเป็นต้น ส่วนใหญ่ใช้ในรูปของวัตถุดิบที่ไม่มีการแปรรูป ดังนั้นการนำแป้งมันสำปะหลังมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกรดแลกติกที่มีราคาสูงและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง จึงเป็นอีกทางเลือกในการเพิ่มมูลค่าของแป้งมันสำปะหลังและลดการนำเข้ากรดแลกติกจากต่างประเทศ

3. การปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อรา *R. oryzae* NRRL 395 เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตกรดแลกติก เช่น การเหนี่ยวนำให้เชื้อราเกิดการกลายพันธุ์และทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูง รวมถึงศึกษาด้านการดัดแปลงพันธุกรรมของเชื้อรา เพื่อควบคุมให้ยีน *ldh* สามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงขึ้น โดยควบคุมการเจริญของเชื้อราและการผลิตผลิตภัณฑ์อื่น เป็นต้น