# บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการคัดแยกจุลินทรีย์จากแหล่งดินและน้ำเสียที่เก็บจากบริเวณที่คาดว่ามีการสะสมของไขมันและกลีเซอรอล จำนวน 198 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถใช้กลีเซอรอลและมีการผลิตกรด (สร้างโซนใส) ได้ 37 และ 12 ไอโซเลท เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ตามลำดับ

ตัวอย่างน้ำเสียจากถังขยะบริเวณข้างร้านอิสรัตน์ ซอยเกกี1 (สจล.) สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนและสร้างโซนใสได้จำนวนมากที่สุด โดยคัดแยกได้ทั้งหมด 10 ไอโซเลท (8 ไอโซเลท เจริญในสภาวะที่มีอากาศ และ 2 ไอโซเลท เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ)

จากการตรวจสอบการผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศพบจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้อย่างน้อย 2.8 กรัมต่อลิตร เพียง 2 ไอโซเลทเท่านั้น ได้แก่ ไอโซเลท Y26 และ Y33 ในขณะที่ไม่พบจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้อย่างน้อย 2.8 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีอากาศ

ไอโซเลท Y26 ซึ่งคัดแยกได้จากน้ำเสียจากถังขยะบริเวณร้านบะหมี่หมูแดง เกกี1 (สจล.) สามารถผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้สูงกว่า 2.8 กรัมต่อลิตร ทั้งในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า โดยผลิตได้สูงสุด $3.4 \pm 0.4$ กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่า นอกจากนี้ไอโซเลท Y26 ยังสามารถผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้สูงกว่าที่มีรายงานในปัจจุบัน ดังนั้นจึงคัดเลือกไอโซเลท Y26 เพื่อนำไปทำการศึกษาต่อไป

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานทั่วไปของไอโซเลท Y26 พบว่ามีลักษณะโคโลนีสีขาว กลม เล็ก ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว มีเมือกเหนียว การย้อมแกรมติดสีแดงของ Safanin จึงจัดเป็นจุลินทรีย์แกรมลบ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น และมีการจัดเรียงตัวอยู่กันเป็นคู่ ขนาดเซลล์เท่ากับ 1.5 ไมครอน และไม่มีการสร้างสปอร์

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rRNA ของแบคทีเรียชนิดอื่น โดยใช้ฐานข้อมูลจาก National Center of Biotechnology Information databases (NCBI databases) ด้วยโปรแกรม BLAST พบว่าไอโซเลท Y26 มีความคล้ายคลึงกับ *Klebsiella neumonia* ร้อยละ 99 ดังนั้นจึงเรียกไอโซเลท Y26 ว่า *Klebsiella neumonia* Y26

จากการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิต 3-hydroxypropionic acid ของ *K. neumonia* Y26 เมื่อใช้ความขุ่นของเซลล์เริ่มต้นที่ $OD_{600nm}$ เท่ากับ 0.8 และทำการเพาะเลี้ยงที่สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า *K. neumonia* Y26 มีการผลิต 3-hydroxypropionic acid พร้อมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยมีการผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้สูงสุดในช่วง stationary phase เท่ากับ 2.7 $\pm$ 0.3 กรัมต่อลิตร และแนวโน้มของปริมาณ 3-hydroxypropionic acid ค่อนข้างคงที่ภายหลังจากการเจริญในช่วง stationary phase ผ่านไปแล้ว

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อการผลิต 3-hydroxypropionic acid พบว่า *K. neumonia* Y26 มีแนวโน้มในการผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้สูงขึ้นเมื่อใช้กลีเซอรอลที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเพิ่มขึ้น โดยสามารถผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้สูงสุด เมื่อใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 80 กรัมต่อลิตร ทั้งที่เจริญในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า โดยผลิตได้ 4.5 $\pm$ 0.7 และ 7.9 $\pm$ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยการเพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่าสามารถผลิต 3-hydroxypropionic acid ได้สูงกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาวะนิ่งคิดเป็นร้อยละ 176

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาปริมาณที่เหลืออยู่ของกลีเซอรอลหลังจากการหมัก เพื่อหาค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

ควรศึกษาปัจจัยอื่นที่อาจมีผลต่อการผลิต 3-hydroxypropionic acid เช่น ปริมาณเซลล์เริ่มต้น ชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจน และพีเอช เป็นต้น

ควรศึกษาการเพาะเลี้ยงในถังหมักเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงใน shake-flask