

งานวิจัยนี้ศึกษาปริมาณและการจัดจำแนกเบื้องต้นของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในน้ำอ้อยและกากน้ำตาลและการแยกแบคทีเรียแลคติกจากน้ำอ้อย รวมถึงศึกษาการเจริญและกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ปนเปื้อนของแบคทีเรียแลคติกเมื่อเลี้ยงร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ในกระบวนการผลิตเซลล์ยีสต์ จากผลการแยกจุลินทรีย์ปนเปื้อนในน้ำอ้อยพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนมีจำนวนเพิ่มขึ้นใน 24 ชั่วโมงของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และมีแนวโน้มลดลงในชั่วโมงที่ 24 และ 32 โดยจุลินทรีย์ที่พบที่ 24 และ 32 ชั่วโมงนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาลักษณะกับแบคทีเรียแลคติก ส่วนจุลินทรีย์ที่พบปนเปื้อนในกากน้ำตาลพบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาลักษณะกับ *Bacillus* เมื่อแยกแบคทีเรียแลคติกจากน้ำอ้อยพบแบคทีเรียแลคติกจำนวน 6 ไอโซเลท เมื่อทดสอบการใช้คาร์โบไฮเดรตซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล 49 ชนิดของแบคทีเรียแลคติกพบว่าเป็น *Lactobacillus pentosus* 2 ไอโซเลท *L. plantarum* 2 ไอโซเลท *L. coprophilus* 1 ไอโซเลท และ *Leu. mesenteroides* 1 ไอโซเลท เมื่อนำแบคทีเรียแลคติก 6 ไอโซเลทมาทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่แยกจากน้ำอ้อย กากน้ำตาลและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (*Escherichia coli* ATCC25922, *Listeria innocua* ATCC33090T, *Staphylococcus aureus* ATCC12600, *Bacillus cereus* ATCC6633 และ *Salmonella anatum* SO86105) โดยวิธีทดสอบบนอาหารแข็ง (agar spot method) พบว่า แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากน้ำอ้อยให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ปนเปื้อน ทั้งในสถานะที่ไม่จำกัดและจำกัดการสร้างกรดและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์อื่นของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวด้วยวิธี agar well diffusion พบว่า แบคทีเรียแลคติกให้ผลการยับยั้งจากกรดและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นส่วนใหญ่

จากผลการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30 แบบเขย่า โดยใช้อาหารน้ำอ้อยที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การใช้อาหารน้ำอ้อยร่วมกับยูเรีย 1 กรัมต่อลิตรให้น้ำหนักเซลล์แห้งและผลได้ของเซลล์สูงกว่าเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 7 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน และเมื่อเลี้ยง *S. cerevisiae* M30 ร่วมกับแบคทีเรียแลคติก LF2 (*L. plantarum*) โดยใช้อาหารน้ำอ้อยที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อในสถานะการหมักแบบเดียวกัน พบว่า น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากอาหารน้ำอ้อยทั้งสองสถานะมีค่าน้อยกว่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้เมื่อเลี้ยง *S. cerevisiae* M30 เพียงอย่างเดียว จากผลการทดลองเลี้ยง *S. cerevisiae* M30 ร่วมกับแบคทีเรียแลคติกในอาหารน้ำอ้อยที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและมีการเติมเชื้อตั้งต้นของแบคทีเรียปนเปื้อนที่แยกได้จากน้ำอ้อย พบว่าจำนวนของแบคทีเรียปนเปื้อนที่เติมลงไปมีแนวโน้มลดลงในสถานะการหมักแบบ batch culture แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในสถานะการหมักแบบ cyclic fed batch culture และพบว่าจำนวนแบคทีเรียปนเปื้อนมีแนวโน้มลดลงเช่นกันในสถานะที่เลี้ยงร่วมกับ *S. cerevisiae* M30 โดยไม่มีแบคทีเรียแลคติกเจริญร่วมด้วย อย่างไรก็ตามพบว่ามีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่นนอกเหนือจากที่เติมลงไปเจริญเติบโตในสถานะการเลี้ยง *S. cerevisiae* M30 ในอาหารน้ำอ้อยที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่มีแบคทีเรียแลคติก

Quantification and classification of contaminating microorganisms in cane juice and molasses was studied. The number of contaminating microorganisms in cane juice increased during 24 hours of storage at room temperature and decreased between 24 and 32 hours. The microorganisms found at 24 and 32 hours had physiological characteristics similar to lactic acid bacteria (LAB). There were 6 isolates of LAB found in cane juice, which are *Lactobacillus pentosus* (2 isolates), *L. plantarum* (2 isolates), *L. coprophilus* and *Leuconostoc mesenteroides*. These LAB inhibited the contaminating microorganisms isolated from cane juice and molasses. In addition, these LAB were capable of inhibiting the bacterial pathogens including *E.coli* ATCC25922, *Listeria innocua* ATCC33090^T, *Staphylococcus aureus* ATCC12600, *Bacillus cereus* ATCC6633 and *Salmonella anatum* SO86105. When tested under conditions that the effects of organic acids and hydrogen peroxide were eliminated, LAB could produce other antimicrobial substances which inhibited the contaminating microorganisms in cane juice and molasses. Antibacterial substance production in liquid culture was tested using agar diffusion assay with contaminating microorganisms in cane juice and molasses as bacterial indicators. The results showed a lower degree of antimicrobial activity when compared with the agar spot method. In addition, the antimicrobial activity was mainly a result of acids and hydrogenperoxide.

In shake flask experiments, cultivation of *S. cerevisiae* M30 in cane juice based medium (20 g/l sugar) using 1 g/l urea as nitrogen source resulted in a higher cell dry weight when compared with 7 g/l ammonium sulfate. The biomass concentrations obtained in the mixed culture of *S. cerevisiae* M30 and LAB (*L. plantarum* LF2) in sterile and non-sterile cane juice based medium were lower than those obtained in the pure yeast culture. Cultivation of *S. cerevisiae* M30 and LAB in non-sterile cane juice based medium with the addition of contaminating bacteria isolated from cane juice showed that the number of contaminating bacteria decreased in batch culture but increased in cyclic fed-batch culture. The number of contaminating bacteria also decreased when *S. cerevisiae* M30 was cultivated with and without the addition of LAB. However, there were other contaminating bacteria found during cultivation when the non-sterile **medium** was used without the addition of LAB.