บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

ประเทศไทยมีการผลิตน้ำตาลทรายสู่ตลาดทั้งในและต่างประเทศมูลค่าปีละไม่ต่ำกว่าหนึ่งร้อยล้านบาท โดยปัญหาหลักซึ่งส่งผลต่อต้นทุนการผลิตน้ำตาลทรายของโรงงาน คือการลดลงของปริมาณซูโครสในน้ำอ้อยจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ ซึ่งส่งผลให้ปริมาณผลผลิตน้ำตาลทรายที่ได้จากน้ำอ้อยมีปริมาณลดลง ถึงแม้ว่าในทางทฤษฎีการสูญเสียซูโครสในน้ำอ้อยอาจมีสาเหตุมาจากทั้งจุลินทรีย์ในกลุ่มยีสต์และแบคทีเรียแลคติก (Eggleston, 2002, p. 95; Solomon, 2000, p. 9; Yusof Shian and Osman, 2000, p. 396) แต่แบคทีเรียแลคติกจัดว่ามีบทบาทสำคัญต่ออุตสาหกรรมน้ำตาลมากกว่า เพราะนอกจากจะมีผลต่อการสูญเสียซูโครสในปริมาณที่สูงกว่าแล้ว การย่อยสลายซูโครสโดยแบคทีเรียกลุ่มนี้ยังก่อให้เกิดสารเด็กซ์แทรน (Dextran) ซึ่งมีผลทำให้กระบวนการผลิตน้ำตาลใช้เวลานานขึ้น น้ำตาลที่ได้มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐาน และได้โมลาสที่มีน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอินทรีย์ต่างๆ เจือปนในปริมาณที่สูง ซึ่งล้วนมีผลต่อต้นทุนการผลิตของโรงงาน (Solomon, 2000, pp. 5-14)

แบคทีเรียแลคติกที่สามารถเปลี่ยนซูโครสไปเป็นเด็กซ์แทรนได้จัดอยู่ในกลุ่ม Dextran-producing Lactic Acid Bacteria (DPLAB) ซึ่งประกอบไปด้วยแบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus Leuconostoc Streptococcus* และ *Weissella* (Bounaix, et al., 2010, p. 18 ; Monsan, et al., 2001; Björkroth and Holzapfel, 2006; van Hijum, et al., 2006) มีรายงานว่า *Leuconostoc* spp.เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่พบมากในอุตสาหกรรมน้ำตาลและมีความสามารถในการสร้างเด็กซ์แทรนได้สูง (Eggleston, 2002, p. 98; Eggleston and Harper, 2006; Solomon, 2000; Yusof Shinan and Osman, 2000, p. 399) *Leuconostoc* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะแถบทวีปอเมริกากลางและอเมริกาใต้ (Solomon, 2000, pp. 1-6) โดยสามารถพบได้ทั้งในไร่อ้อยและอ้อยที่ขนส่งเข้าสู่โรงงานผลิตน้ำตาล อย่างไรก็ตามในขณะนี้ในประเทศไทยยังไม่มีการระบุชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติกที่มีบทบาทในการทำให้ซูโครสในน้ำอ้อยลดลงและเกิดเด็กซ์แทรนในกระบวนการผลิตน้ำตาล *Leuconostoc* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม จัดอยู่ในกลุ่มแฟคคัลเททีฟแอนแอโรบ (Facultative anaerobe) อุณหภูมิและ พีเอช ที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส และ 6.0 - 6.9 ตามลำดับ แต่

ในสภาวะที่มีซูโครสสูงจะสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอชที่เป็นกรดและอุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส (Solomon, 2000, p. 11) ซึ่งเป็นสภาวะที่พบได้ในกระบวนการผลิตน้ำตาล เนื่องจากน้ำอ้อยมีค่า pH 5.0 – 5.5 มีซูโครสเป็นส่วนประกอบร้อยละ 15 – 20 และอุณหภูมิในกระบวนการผลิตอยู่ระหว่าง 35 - 55 องศาเซลเซียส ดังนั้นหากมีการปนเปื้อนของ *Leuconostoc spp.* ในวัตถุดิบ แบคทีเรียชนิดนี้จะสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว โดยในระหว่างการเจริญ *Leuconostoc* spp. จะสร้างเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (dextransucrase) ซึ่งกระตุ้นปฏิกิริยาการย่อย (hydrolyze) ซูโครสและสังเคราะห์เด็กซ์แทรนขึ้นมา ปริมาณของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญของจุลินทรีย์ (Barker and Ajongwen, 1991, pp. 103-107; Lappan and Fogler, 1994, pp. 856-873) โดยอัตราการสังเคราะห์เด็กซ์แทรนซูเครสจะขึ้นกับปริมาณซูโครส เมื่อซูโครสในระบบมีความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์เอนไซม์สูงตามไปด้วย (ณฐิณี สุวรรณสิงห์, 2533)

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียที่พบได้ตามดินเกาะตามส่วนต่างๆ ของพืชปนเปื้อนทั่วไปในธรรมชาติ การปนเปื้อนของวัตถุดิบจึงเกิดขึ้นได้ง่าย ส่งผลให้การทำวัตถุดิบให้ปลอดเชื้อมีค่าใช้จ่ายสูงและเป็นไปได้ยากในทางปฏิบัติ แนวทางที่มีความเป็นไปได้คือการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกในระหว่างกระบวนการผลิต โดยใช้อุณหภูมิและสารชีวฆาต (biocides) มีการรายงานว่า อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *L. mesenteroides* NRRL B512(f) และการทำงานของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสในอาหารเหลว MRS (Santos, et al., 2000, pp. 177-188) โดย *L. mesenteroides* NRRL B512(f) เจริญได้ดีที่สุดที่ 35 องศาเซลเซียส แต่ไม่พบการเจริญของเชื้อดังกล่าวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสลดลง แต่การให้ความร้อนโดยการต้มน้ำอ้อยให้เดือดนาน 1 นาที ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและการเกิดเด็กซ์แทรนได้ (Eggleston, 2002, p. 97) นอกจากนี้การศึกษาผลของการใช้สารชีวฆาตในการลดการสูญเสียซูโครสในน้ำอ้อย พบว่าการใช้โซเดียมเอไซด์ร้อยละ 0.08 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ดี แต่สารชนิดนี้มีความเป็นพิษสูงไม่เหมาะกับการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (Eggleston, 2002, p. 97) มีสารชีวฆาตอีกหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งจุลินทรีย์ในสภาวะที่เป็นกรด ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ และมีราคาถูก จึงได้รับความสนใจจากอุตสาหกรรมอาหาร เช่น Hexamethylenetetramine (Lück and Jager, 1997, pp. 235-236) แต่ข้อมูลด้านการใช้ในอุตสาหกรรมน้ำตาลยังมีจำกัด

จากข้อมูลเบื้องต้นพบว่าในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียแลคติกในช่วงการหีบอ้อย และการกรองในปริมาณสูง (7-8 $\log_{10}$cfu/ml) แบคทีเรียที่พบเป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีความสามารถในการเจริญและย่อยซูโครสได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และตรวจพบผลิตภัณฑ์เป็นฟรุกโตส (กีรวัฒน์ ชื่นจิตต์ นิติยา บุดทะยา และอรอินทุ์ ประไชโย, 2553) ข้อมูลที่ได้ทำให้ทราบว่าเชื้อที่แยกได้มีความสามารถในการทำให้ผลผลิตของซูโครสลดลงที่อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจส่งผลต่อผลผลิตของโรงงานได้ ส่วนแนวทางในการควบคุมการสูญเสียซูโครสนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปถึงชนิดและปริมาณของแบคทีเรียที่มีผลต่อการสูญเสียซูโครสในน้ำอ้อย และอัตราการสูญเสียซูโครสเนื่องจากการเจริญของเชื้อเหล่านี้ในน้ำอ้อย การสูญเสียซูโครสเนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่มีกลไกซับซ้อน มีปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องหลายขั้นตอน การวางแผนการทดลองเพื่อกำหนดสภาวะที่เหมาะสมในการกำหนดอัตราการสูญเสียซูโครส จึงไม่สามารถทำได้โดยง่าย อย่างไรก็ตามการประมาณอัตราการสูญเสียซูโครสอาจทำได้โดยการประมาณอัตราการใช้ซูโครสเพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกและจากกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นพร้อมกับการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปฏิกิริยาเหล่านี้ สามารถนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ในการทำนายปริมาณการสูญเสียซูโครสจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกได้ แบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยระบบสมการเชิงอนุพันธ์ที่ใช้ทำนายถึงอัตราการผลิตเด็กซ์แทรนของ *L. mesenteroides* ในอาหารเหลว MRS (Santos, et al., 2000, pp. 182-188) มีความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ดี จึงเป็นแนวทางพื้นฐานที่เหมาะสมในการพัฒนาเพื่อประยุกต์ใช้ต่อไป

งานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียแลคติกที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายที่มีผลต่อการสูญเสียซูโครส โดยศึกษาระดับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของเชื้อที่แยกได้ จากนั้นทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่ออัตราการเติบโตของจุลินทรีย์ อัตราการผลิตเอนไซม์ อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดฟรุกโตสในน้ำอ้อย และพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของอัตราต่างๆ ที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารชีวฆาต เพื่อให้สามารถทำนายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในน้ำอ้อยที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์และหาสภาวะของอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่เหมาะสมที่สามารถลดการสูญเสียซูโครสในกระบวนการผลิตน้ำตาลได้

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อหาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียแลคติกที่มีผลต่อการสูญเสียซูโครสในกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย

2. เพื่อศึกษาระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของจุลินทรีย์ที่แยกได้

3. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่ออัตราการเติบโต อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและอัตราการเกิดฟรุกโตสในน้ำอ้อย

4. เพื่อพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายการเปลี่ยนแปลงของการเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การใช้ซูโครส การเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิในน้ำอ้อยที่เกิดจากแบคทีเรียแลคติก

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสายพันธุ์และปริมาณของแบคทีเรียแลคติกที่มีผลต่อการสูญเสียซูโครสในกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย

2. ทราบถึงระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของจุลินทรีย์ที่แยกได้

3. ทราบถึงผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่ออัตราการเติบโต อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและอัตราการเกิดฟรุกโตสในน้ำอ้อย

4. ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการทำนายการสูญเสียซูโครสที่เกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำอ้อยที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิ

ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรียแลคติกในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายของโรงงานแห่งหนึ่ง จากนั้นศึกษาระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของเชื้อที่แยกได้ ศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่ออัตราการเติบโต อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและอัตราการเกิดฟรุกโตสในน้ำอ้อยของเชื้อที่แยกได้ นำข้อมูลที่ได้มาใช้ในพัฒนาแบบจำลองที่เหมาะสมสำหรับการสูญเสียซูโครสในน้ำอ้อยโดยมีอุณหภูมิเป็นตัวแปร