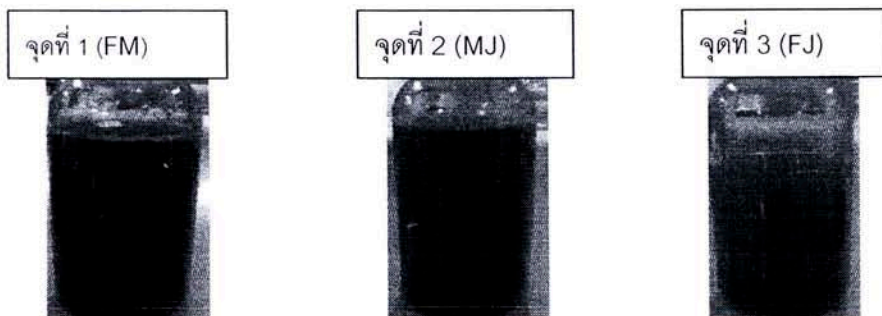


บทที่ 4

ผลการวิจัย

ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย

ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างน้ำอ้อยจากทั้ง 3 จุด คือ FM MJ และ FJ มีค่าพีเอชไม่แตกต่างกัน (5.2) และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 20 14.6 และ 14.8 องศาบริกซ์ตามลำดับ โดยน้ำอ้อย FM มีลักษณะน้ำขุ่นสีดำนี้ออกมามาก ส่วนน้ำอ้อย MJใสกว่าน้ำอ้อย FM เล็กน้อยมีสีออกน้ำตาลเข้ม ส่วนน้ำอ้อย FJ ใสที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสองตัวอย่างแรกและมีสีน้ำตาลอ่อน (ภาพ 3)



ภาพ 3 ตัวอย่างน้ำอ้อยที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างที่จุดต่างๆ ในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายของโรงงานผลิตน้ำตาลทราย จังหวัดนครสวรรค์

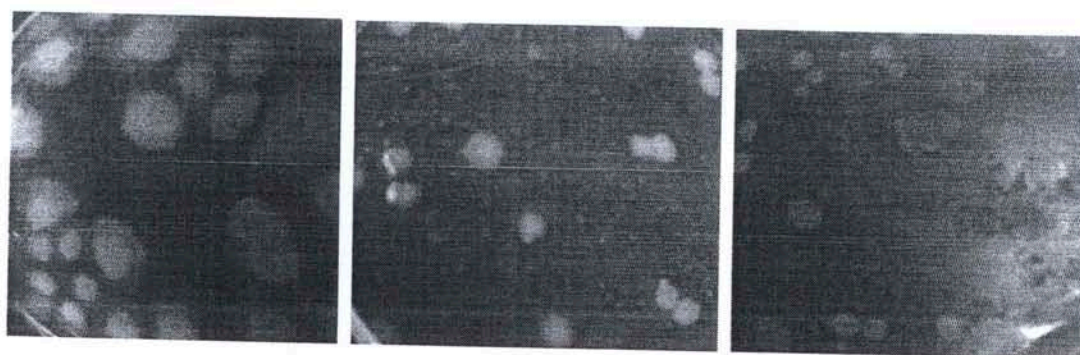
เมื่อนำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ดังแสดงในตาราง 1 จะเห็นได้ว่าน้ำอ้อย FM มีปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนสูงสุด รองลงมาคือ MJ ส่วน FJ มีปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนต่ำที่สุด เนื่องจากในกระบวนการผลิตน้ำตาล อ้อยดิบจะผ่านการแยกส่วนที่ไม่ต้องการออกและทำความสะอาดเท่าที่จำเป็นก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัดน้ำอ้อย (Juice Extraction) โดยทำการสกัดเอาน้ำหวานออกด้วยเครื่องรีดน้ำอ้อย ได้เป็นน้ำอ้อย FM จากนั้นกากอ้อยจะผ่านลูกหีบอีก 5 ชุด เพื่อทำการรีดน้ำอ้อยออกให้หมด น้ำอ้อยที่ออกจากลูกหีบแต่ละชุดจะถูกเก็บรวมไว้ในถังรวม ได้เป็นน้ำอ้อย MJ จากนั้นน้ำอ้อยที่ได้ทั้งหมดจะเข้าสู่กระบวนการกรองด้วยถังดักทราย (น้ำอ้อย FJ) แล้วจึงเข้าสู่กระบวนการต้มเคี่ยวและตกผลึกต่อไป ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าน้ำอ้อย FJ มีปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนต่ำกว่าน้ำอ้อย FM และ MJ แสดงว่าการ

กรองสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้บางส่วน จากตาราง 1 น้ำอ้อย FM MJ และ FJ มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสภาวะของน้ำอ้อยซึ่งมีความเป็นกรด (pH 5.2) และมีน้ำตาลสูง (TSS ประมาณ 15 องศาบริกซ์) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

ตาราง 1 ปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาล ณ จุดต่างๆ

แหล่งเก็บตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ (log ₁₀ cfu/ml)			
	จุลินทรีย์ทั้งหมด(TPC)	ยีสต์และราทั้งหมด(TYM)	แบคทีเรียแลคติกทั้งหมด(TLAB)	<i>Leuconostoc</i> spp. ทั้งหมด
FM	9.58	5.40	11.18	8.78
MJ	9.61	5.79	11.61	8.73
FJ	8.86	5.75	11.97	8.70

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ได้ พบว่า โคโลนีบนอาหาร PCA มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันอยู่ 4 ประเภท คือ 1) โคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาว ขอบหยัก 2) โคโลนีที่มีลักษณะกลมป้านเป็นวง 3) โคโลนีที่มีลักษณะกลมเล็ก ผิวมันวาว และ 4) โคโลนีที่มีลักษณะกลม ขาว ผิวย่น (ภาพ 4) โคโลนีของยีสต์และรามีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน 3 ประเภท คือ 1) โคโลนีที่มีลักษณะกลม สีขาวนวล 2) โคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาว ผิวย่น และ 3) โคโลนีที่มีลักษณะกลม ติดสีชมพู (ภาพ 5) โคโลนีของแบคทีเรียแลคติก พบลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน 3 ประเภท คือ 1) โคโลนีที่มีลักษณะกลม มันวาว 2) โคโลนีที่มีลักษณะยาวรี สีขาวขุ่น และ 3) โคโลนีที่มีลักษณะกลมสีเหลือง (ภาพ 6) ส่วนโคโลนีของแบคทีเรียในกลุ่ม *Leuconostoc* spp.พบลักษณะโคโลนี 3 ประเภท คือ 1) โคโลนีที่มีลักษณะกลมเหมือนหยดน้ำตาล 2) โคโลนีที่มีลักษณะกลมนูน เป็นก้อนแข็ง และ 3) โคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาวขุ่น (ภาพ 7)

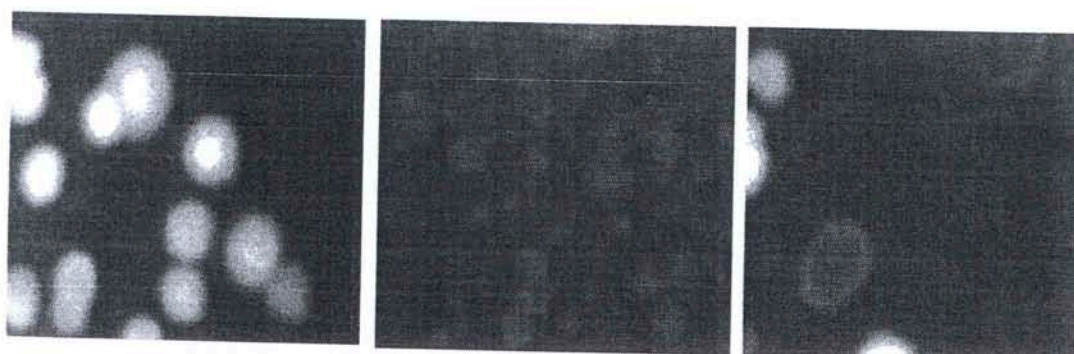


ก

ข

ค

ภาพ 4 ลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ปนเปื้อนโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง PCA; ก คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาว มีขอบหยัก; ข คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมปานเป็นวง และโคโลนีกลมเล็กมันวาว; ค คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาว ผิวขุ่น

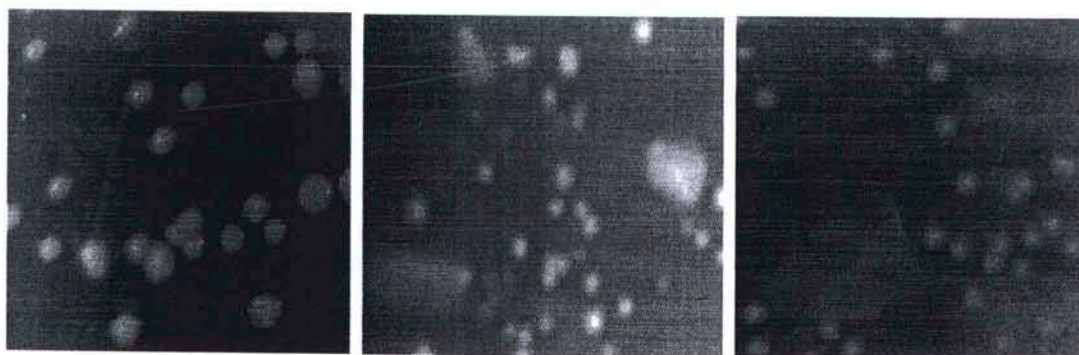


ก

ข

ค

ภาพ 5 ลักษณะโคโลนีของยีสต์และราโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง RBA; ก คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาวนวล; ข คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาว ผิวขุ่น; ค คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมติดสีชมพู



ก

ข

ค

ภาพ 6 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MRS; ก คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมน้ำมันวาว; ข คือโคโลนียาวรี สีขาวขุ่น; ค คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมสีออกเหลือง



ก

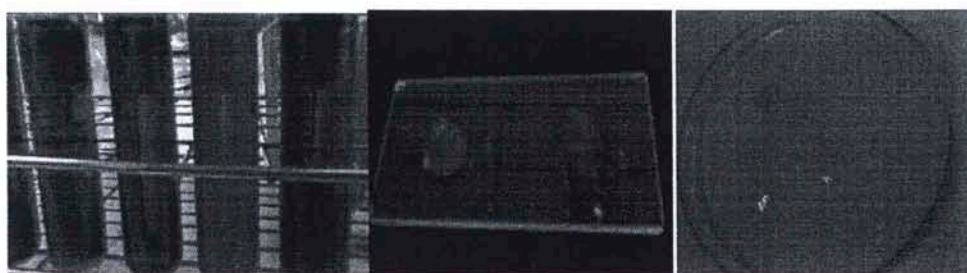
ข

ค

ภาพ 7 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียในกลุ่ม *Leuconostoc* spp. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MRS ที่มีซูโครสร้อยละ 20 และแวนโคมัยซินความเข้มข้น 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร; ก คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมเหมือนหยดน้ำตาล; ข คือโคโลนีกลมนูนเป็นก้อนแข็ง; ค คือโคโลนีที่มีลักษณะกลมสีขาวขุ่น

การคัดเลือกและทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียแลคติก

ทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะของ *Leuconostoc* spp. จากแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยใช้อาหารคัดเลือกคืออาหารแข็ง MRS ที่มีการเติมซูโครสร้อยละ 20 และแวนโคมัยซิน 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (FM1- FM5 MJ1- MJ7 และ FJ1- FJ6) (ตาราง 2) ผลการทดสอบ พบว่า ทุกโคโลนีเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างคละกันทั้งกลมและท่อน ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส ทุกโคโลนีมีการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเหลว MRS และเมื่อพิจารณาความสามารถในการเจริญเติบโตและการสร้างเอกซ์โซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide;EPS) ที่อุณหภูมิ 30 35 40 45 50 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่า จุลินทรีย์ที่แยกได้สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตได้น้อยลงเมื่ออุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และไม่พบการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 50 และ 55 องศาเซลเซียส ในส่วนของความสามารถในการสร้าง EPS พบว่า FM4 FM 5 MJ1 MJ5 และ FJ5 มีความสามารถในการสร้าง EPS ได้มากที่สุด จากข้อมูลนี้จึงทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ดังกล่าวเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ระบุสายพันธุ์โดยเทคนิค 16sRNA และนำไปศึกษาระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสต่อไป นอกจากนี้ได้ทำการส่งตัวอย่างโคโลนีรหัส MJ6 MJ7 และ FJ6 เพื่อระบุสายพันธุ์โดยเทคนิค 16sRNA ด้วย ซึ่งแม้ว่าโคโลนีดังกล่าวจะไม่มีสร้างโพลีแซคคาไรด์ หรือมีการสร้างโพลีแซคคาไรด์น้อย แต่โคโลนีเหล่านี้มีลักษณะโคโลนีและคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายกับแบคทีเรียในกลุ่มของ *Leuconostoc* spp. คือ มีรูปร่างกลม เรียงเป็นคู่ (diplococcic) ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส และมีการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเหลว MRS



ก

ข

ค

ภาพ 8 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี; ก แสดงตัวอย่างการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเหลว MRS; ข แสดงตัวอย่างการไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส; ค แสดงตัวอย่างการสร้างเอกซ์โซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide; EPS)

ตาราง 2 แสดงการเจริญเติบโตและการสร้างเอกซ์โพลิแซ็กคาไรด์ (Exopolysaccharide; EPS) ของแบคทีเรียกลุ่ม *Leuconostoc* spp. ที่อุณหภูมิต่างๆ

แหล่ง ดย.	แกรม	shape	Biochemical test		อุณหภูมิ 30 °C		อุณหภูมิ 35 °C		อุณหภูมิ 40 °C		อุณหภูมิ 45 °C		อุณหภูมิ 50 °C	
			catalase	ferment	Growth	EPS	Growth	EPS	Growth	EPS	Growth	EPS	Growth	EPS
L.														
mesenteroides														
TISTR473														
จุดที่ 1														
FM 1	บวก	กลม	-	+	++	+++	++	+++	++	+	+	-	-	-
FM 2	บวก	ท่อน	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
FM 3	บวก	ท่อน	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
FM 4	บวก	กลม	-	+	++	+++	++	+++	++	+	+	-	-	-
FM 5	บวก	ท่อน	-	+	++	+++	++	+++	++	+	+	-	-	-
จุดที่ 2														
MJ1	บวก	กลม	-	+	++	+++	++	+	++	+	+	-	-	-
MJ2	บวก	ท่อน	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
MJ3	บวก	กลม	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
MJ4	บวก	ท่อน	-	+	++	++	++	+	++	+	+	-	-	-
MJ5	บวก	ท่อน	-	+	++	+++	++	++	++	+	+	-	-	-
MJ6	บวก	ท่อน	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-

ตาราง 2 (ต่อ)

แหล่ง ดย.	แกรม	shape	Biochemical test		อุณหภูมิ 30 °C		อุณหภูมิ 35 °C		อุณหภูมิ 40 °C		อุณหภูมิ 45 °C		อุณหภูมิ 50 °C	
			catalase	ferment	Growth	EPS	Growth	EPS	Growth	EPS	Growth	EPS	Growth	EPS
MJ7	บวก	ท่อน	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
จุดที่ 3														
FJ1	บวก	กลม	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
FJ2	บวก	ท่อน	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
FJ3	บวก	กลม	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
FJ4	บวก	กลม	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-
FJ5	บวก	ท่อน	-	+	++	++	++	++	++	+	+	-	-	-
FJ6	บวก	ท่อน	-	+	++	+	++	+	++	+	+	-	-	-

หมายเหตุ: ข้อมูลตาราง 2

เครื่องหมาย +

++

+++

-

หมายถึง ให้ผลเป็นบวก หรือมีการเจริญเติบโต หรือมีการสร้าง EPS

หมายถึง มีการเจริญเติบโตได้ดี หรือมีการสร้างโพลีแซคคาไรด์ได้อาหารเหลวมีลักษณะเหนียวหนืด

หมายถึง มีการเจริญเติบโตได้มากหรือมีการสร้างโพลีแซคคาไรด์ได้มาก อาหารมีลักษณะเหนียวหนืดมาก

หมายถึง ให้ผลเป็นลบ หรือ ไม่มีการเจริญเติบโตหรือสร้าง EPS

การระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล

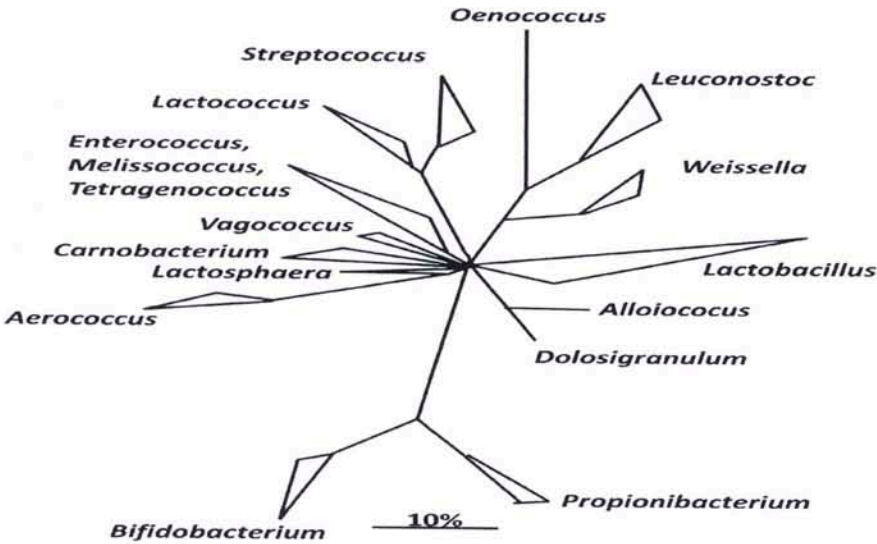
ผลการส่งตัวอย่างจุลินทรีย์ 8 โคโลนี คือ FM4 FM5 MJ1 MJ5 MJ6 MJ7 FJ5 และ FJ6 เพื่อระบุสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ชนิด 16S ribosomal RNA gene sequencing ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี พบว่า แบคทีเรียรหัส FM4 FM5 MJ1 MJ5 และ FJ5 มีความคล้ายคลึงกับ *Weissella cibaria* โดยมีความเหมือน 100 % ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์นี้เป็นแบคทีเรียในกลุ่มของแบคทีเรียแลคติก มีรูปร่างทั้งกลมและท่อน จากอนุกรมวิธานของแบคทีเรียแลคติก พบว่า *Weissella* มีลักษณะคล้าย *Leuconostoc* (leuconostoc – like bacteria) รูปร่างเชลล์เป็นรูปท่อนและกลม มีสปิซิสซึ่งเดิมอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* (Stiles and Holzapfel, 1997, pp. 16-19) (ภาพ 9) โดยในสกุลของ *Weissella* ประกอบไปด้วยกลุ่มของ heterofermentative *Leuconostoc*-like lactic acid bacteria (Collins, et al., 1993, pp. 595–603) ซึ่งมี 12 สปีชีส์ ได้แก่ *Weissella confusa* *Weissella halotolerans* *Weissella hellenica* *Weissella kandleri* *Weissella minor* *Weissella paramesenteroides* *Weissella viridescens* (Collins, et al., 1993) *Weissella thailandensis* (Tanasupawat, et al., 2000, pp. 1479–1485) *Weissella cibaria* (Björkroth, et al., 2002, pp. 141–148) *Weissella kimchii* (Choi, et al., 2002, pp. 507–511) *Weissella soli* (Magnusson, et al., 2002, pp. 831–834) และ *Weissella koreensis* (Lee, et al., 2002, p. 1260) มีรายงานว่ามีการตรวจพบ *Weissella confusa* และ *Weissella cibaria* ในอ้อย (Hammes and Vogel, 1995; Björkroth, et al., 2002, pp. 141–148) ส่วนแบคทีเรียรหัส FJ6 มีความคล้ายคลึงกับ *Lactobacillus fermentum* โดยมีความเหมือน 99.70% และแบคทีเรียรหัส MJ6 และ MJ7 มีความคล้ายคลึงกับ *Lactobacillus paracasei* subsp. *Tolerans* โดยมีความเหมือน 99.90 และ 100 % ตามลำดับ (ตาราง 3)

แบคทีเรียแลคติกสามารถผลิต Oligopolysaccharides และ homopolysaccharides จากซูโครสได้ โดยมีการรายงานว่แบคทีเรียแลคติกสกุล *Leuconostoc* *Streptococcus* *Lactobacillus* และ *Weissella* สามารถผลิตโพลีเมอร์กลูแคน (glucans) และฟรุคแทน (fructans) ได้ (Monsan, et al., 2001, pp. 675–685; Björkroth and Holzapfel, 2006, pp. 267–319; Van Hijum, et al., 2006, pp. 157–176) จากการศึกษาของ Bounaix, et al. (2010, pp. 18-26) พบว่า แบคทีเรียแลคติกสกุล *Weissella* ที่แยกได้จากแป้งหมัก (sourdoughs) ได้แก่ *Weissella cibaria* และ *Weissella confusa* มีความสามารถในการสังเคราะห์เอนไซม์เด็กแทรนซูเครสทำให้สามารถผลิต linear dextrans containing α -(1 → 6) glucose จากซูโครสได้ ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้จึงได้ทำการเลือกจุลินทรีย์ทั้ง 3 สายพันธุ์นี้ไปทำการทดลองในขั้นต่อไป

จากผลการทดลองที่ได้สามารถสังเกตได้ว่าไม่พบ *Leuconostoc mesenteroides* ในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายของโรงงานแห่งนี้ ซึ่งเป็นที่น่าแปลกใจ เนื่องจาก *Leuconostoc mesenteroides* เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการผลิตน้ำตาล (Eggleston, 2002, p. 98; Eggleston and Harper, 2006; Solomon, 2000; Yusof Shinan and Osman, 2000, p. 399) อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าการจำแนก *L. mesenteroides* TISTR 473 ในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายไม่สามารถใช้เพียงอาหารคัดเลือกและการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกลุ่ม *Leuconostoc* spp. อันประกอบด้วยการศึกษาคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยา ไม่สร้างเอนไซม์อะไมเลส สร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเหลว MRS และการทนต่อแวนโคมัยซิน 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รวมถึงความสามารถในการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสได้ และการสร้าง EPS ในอาหารที่มีซูโครสเป็นส่วนประกอบได้ นอกจากนี้แบคทีเรียที่แยกได้จากการทดลองนี้มีลักษณะที่ใกล้เคียงกับ *L. mesenteroides* มาก แต่เมื่อนำไประบุสายพันธุ์โดยเทคนิค 16s RNA gene sequencing กลับพบว่าโคไลนดังกล่าว คือ *Weissella cibaria* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความคล้ายคลึงกับ *L. mesenteroides* และสามารถสร้างเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสและ EPS ได้ แสดงว่าการใช้เพียงอาหารคัดเลือก คุณสมบัติทางชีวเคมี ความสามารถในการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส และความสามารถในการสร้าง EPS ไม่สามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มของ *Leuconostoc* spp. กับ *Weissella* spp. ออกจากกันได้ เนื่องจาก *Weissella* spp. เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับแบคทีเรียสกุล *Leuconostoc* spp. มาก ดังนั้นในการจำแนกแบคทีเรียสองสกุลออกจากกันอาจจำเป็นต้องมีวิธีการใหม่ที่สามารถระบุถึงความแตกต่างในระดับพันธุกรรมหรือการแสดงออกอื่นๆ ซึ่งเป็นอีกหัวข้อหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับผู้ที่ต้องการทราบถึงความแตกต่างของแบคทีเรียทั้งสองสกุลนี้

ตาราง 3 การจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่แยกได้

Sample Code	Method of identification	Identify as	% similarity
FM4	Partial 16S rDNA sequencing	<i>Weissella cibaria</i>	100.00%
FM5	Partial 16S rDNA sequencing	<i>Weissella cibaria</i>	100.00%
FJ5	Partial 16S rDNA sequencing	<i>Weissella cibaria</i>	100.00%
FJ6	Full 16S rDNA sequencing	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99.70%
MJ1	Partial 16S rDNA sequencing	<i>Weissella cibaria</i>	100.00%
MJ5	Partial 16S rDNA sequencing	<i>Weissella cibaria</i>	100.00%
MJ6	Full 16S rDNA sequencing	<i>Lactobacillus</i> <i>paracasei</i> subsp. <i>Tolerans</i>	99.90%
MJ7	Full 16S rDNA sequencing	<i>Lactobacillus</i> <i>paracasei</i> subsp. <i>Tolerans</i>	100.00%



ภาพ 9 แผนภาพแสดงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ของแบคทีเรียแลคติกและแบคทีเรียแกรมบวก

ที่มา: Stiles and Holzapfel, 1997, p. 6; Schleifer and Ludwig, 1995

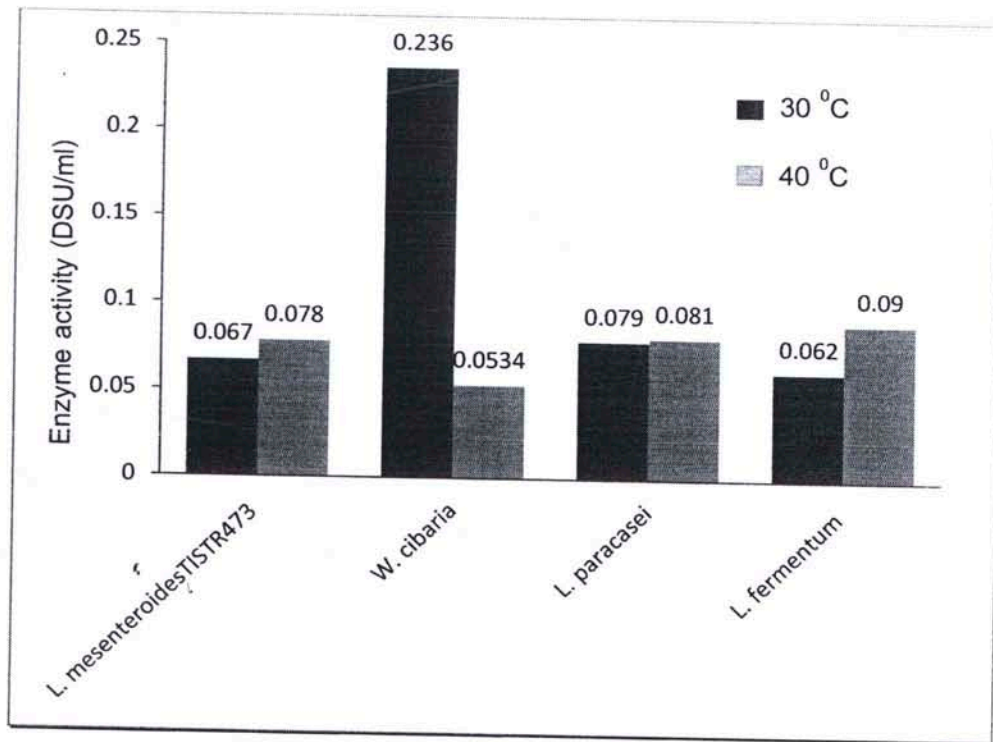
ระดับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของจุลินทรีย์ที่แยกได้

ทำการศึกษาระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของจุลินทรีย์ที่แยกได้ 3 สายพันธุ์ คือ *Weissella cibaria*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *Tolerans* และ *Lactobacillus fermentum* ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบกับ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 ซึ่งเป็นเชื้อควบคุม พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *Weissella cibaria* มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุด โดยวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสได้ 0.236 หน่วยต่อมล. (ภาพ 10) รองลงมาคือ *Lactobacillus paracasei* subsp. *Tolerans*, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 และ *Lactobacillus fermentum* โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเท่ากับ 0.079, 0.067 และ 0.062 หน่วยต่อมล. ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่าทุกสายพันธุ์มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยสามารถสังเกตได้ว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์บางสายพันธุ์มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงกว่าที่ 40 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส กล่าวคือเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีค่าประมาณ $8.00 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ในขณะที่ปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าประมาณ $6.00 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Santos, et al. (2000) และ Chaplin and Bucke (1992) ที่รายงานว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และกิจกรรมเอนไซม์โดยอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์ลดลง

ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าวจึงคัดเลือก *Weissella cibaria* ซึ่งมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุดและมีการสร้างเอ็กซ์โทโพลีแซคคาไรด์ได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ *Lactobacillus paracasei* และ *Lactobacillus fermentum* ที่แยกได้จากโรงงานผลิตน้ำตาล มาทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไปเปรียบเทียบกับ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 ซึ่งใช้เป็นเชื้อควบคุม

Weissella cibaria เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) รูปร่างเซลล์เป็นแท่งสั้น และกลมเรียงเป็นคู่ กว้าง $0.8 - 1.2 \mu\text{m}$ ยาว $1.5 - 2 \mu\text{m}$ ไม่เคลื่อนที่ มีเปปติโดไกลแคน

(Peptidoglycan) ชนิด A3 α , L-Lys-L-Ala(L-Ser)-L-Ala โคโลนีมีขนาดเล็กและมีสีขาวเทา (greyish white) ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase negative) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15, 37 และ 45 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จัดอยู่ในกลุ่มเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Heterofermentative) มีการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากการหมักกลูโคส มีการสังเคราะห์ d-lactic acid isomers และ l-lactic acid isomers มีการสร้างเมือกจากการหมักซูโครส บางสายพันธุ์ไม่เจริญใน 8% NaCl แต่ทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้ใน 6.5% NaCl สามารถหมักคาร์โบไฮเดรตดังต่อไปนี้ได้ คือ แอล-อะราบินโนส (L-Arabinose) ดีไซโลส (D-xylose) กลูโคส (glucose) ฟรุคโตส (fructose) แมนโนส (mannose) เอ็น-อะซิetylกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) อะไมดาลิน (amygdaline) อาร์บูทีน (arbutine) เอสคูลิน (aesculin) ซาลิซิน (salicin) เซลโลไบโอส (cellobiose) มอลโทส (maltose) แซคคาไรส (saccharose) และ เจนทิไบโอส (gentiobiose) จะไม่หมักสารดังต่อไปนี้ได้ คือ กลีเซอรอล (Glycerol) อิริทริทอล (erythritol) ดี-อะราบินโนส (D-arabinose) ไรโบส (ribose) ไซโรส (L-xylose) อะดอนิทอล (adonitol) เบตา-เมทิล-ดี-ไซโรไซด์ (β -methyl-D-xyloside) กาแลคโตส (galactose) ซอร์บอส (sorbitol) แรมโนส (rhamnose) ดูลซิทอล (dulcitol) อินอซิทอล (inositol) แมนนิทอล (mannitol) ซอร์บิทอล (sorbitol) แอลฟา-เมทิล-ดี-แมนโนไซด์ (α -methyl-D-mannoside) แอลฟา-เมทิล-ดี-กลูโคไซด์ (α -methyl-D-glucoside) แลคโตส (lactose) เมลิไบโอส (melibiose) ทรีฮาโลส (trehalose) อินนูลิน (inulin) เมเลซิโทส (melezitose) ราฟฟิโนส (raffinose) อะไมดอล (amidon) ไกลโคเจน (glycogen) ซิลิทอล (xylitol) ทูรานโนส (turanose) ดี-ไลโซส (D-lyxose) ดี-ตากาโทส (D-tagatose) ดี-ฟูโคส (D-fucose) แอล-ฟูโคส (L-fucose) ดี-อะราบิทอล (D-arabitol) แอล-อะราบิทอล (L-arabitol) กลูโคเนต (gluconate) 2-คีโตกลูโคเนต (2-ketogluconate) และ 5-คีโตกลูโคเนต (5-ketogluconate) มี DNA base ratio เท่ากับ 44 - 45 mol% G-C (thermal denaturation method) *Weissella cibaria* สามารถแยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารหมัก (fermented food) เช่น แป้งหมัก (sourdough) ปลาซัม (Srionnual, et al., 2007, p. 2247) และตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับทางคลินิกทั่วไป (Clinical Samples) ที่ได้จากมนุษย์และสัตว์ (Björkroth, et al., 2002, p. 147)



ภาพ 10 ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียสของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้โดยทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อยที่ไม่มีการปรับค่าพีเอช

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหารเหลว MRS และในน้ำอ้อย

1. การเจริญเติบโตของ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 ในอาหารเหลว MRS และในน้ำอ้อย

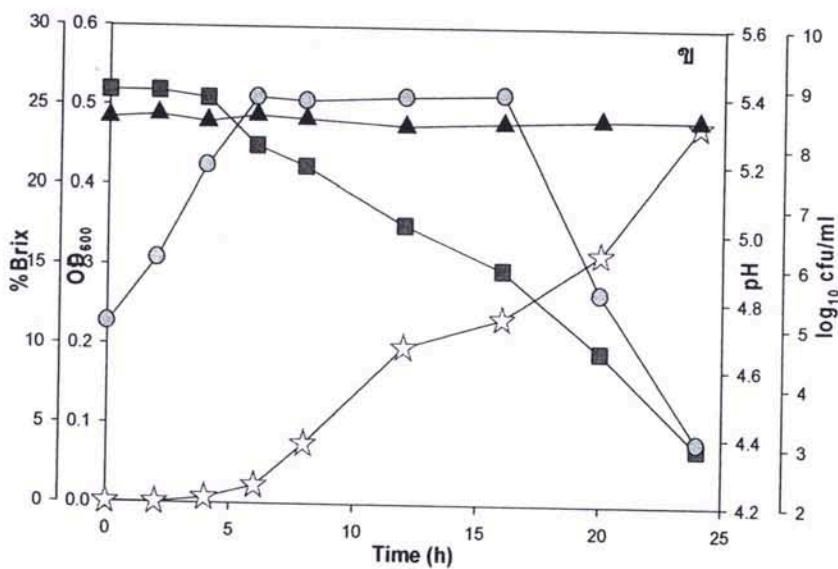
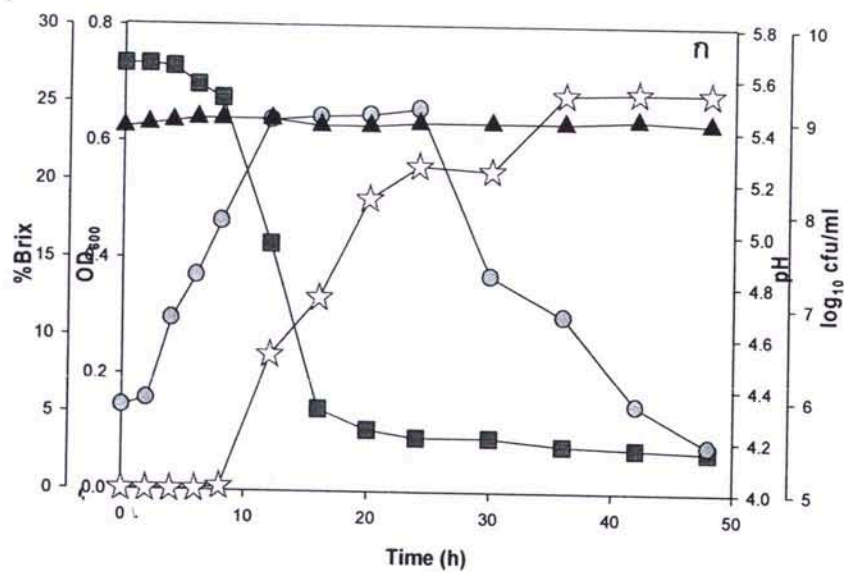
เมื่อทำการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 (เชื้อควบคุม) ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS โดยเพิ่มซูโครสร้อยละ 20 ไม่มีการควบคุมพีเอชในอาหารเหลว มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5.0 - 6.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพ 11ก) พบว่า *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถเจริญเติบโตได้ดี มีช่วง log phase ในชั่วโมงที่ 2-12 หลังจากนั้นจะเข้าสู่ช่วง stationary phase ในชั่วโมงที่ 12 - 24 มีปริมาณเชื้อสูงสุดโดยเฉลี่ยประมาณ $9.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ หลังจากชั่วโมงที่ 24 จะเข้าสู่ช่วง Death phases ซึ่งปริมาณเชื้อมีการลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเชื้อเหลือรอดประมาณ $5.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ในส่วนของค่าพีเอชในอาหารเหลวมีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง log phase ซึ่งลดลงจาก pH 5.65 มาอยู่ในระดับที่ pH 4 ในช่วงชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นจะเข้าสู่ช่วง stationary phase ค่าพีเอชมีการลดลงเล็กน้อยจนเกือบคงที่ ที่ pH 4 จนครบระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ 48 ชั่วโมง โดยการลดลงของพีเอชในอาหารเหลวเกิดจากการที่ *L. mesenteroides* TISTR 473 เป็นแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติก โดยกรดแลคติกที่แบคทีเรียสร้างขึ้นทำให้ค่าพีเอชในอาหารเหลวลดลง

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. mesenteroides* TISTR 473 ในอาหารเหลว MRS โดยเพิ่มซูโครสร้อยละ 20 ไม่มีการควบคุมพีเอชในอาหารเหลว บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5.0 - 6.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ (ภาพ 11ข) พบว่า *L. mesenteroides* TISTR 473 ยังคงสามารถเจริญได้ดี มีช่วง log phase อยู่ในชั่วโมงที่ 1-6 มีปริมาณเชื้อสูงสุดประมาณ $8.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ เข้าสู่ช่วง stationary phase ที่ชั่วโมงที่ 8 - 16 หลังจากชั่วโมงที่ 16 - 24 จะเข้าสู่ช่วง death phase และหลังจากชั่วโมงที่ 24 - 48 จะพบไม่มีการเจริญของ *L. mesenteroides* TISTR 473 โดยปริมาณเชื้อที่เหลือรอดในชั่วโมงที่ 24 คือประมาณ $3.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ในส่วนของค่าพีเอชในอาหารเหลวมีการลดลงอย่างรวดเร็วจาก pH 5.4 มาอยู่ในระดับ pH 4 ส่วนปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักทั้งการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้เฉลี่ยประมาณ 24 เปอร์เซ็นต์

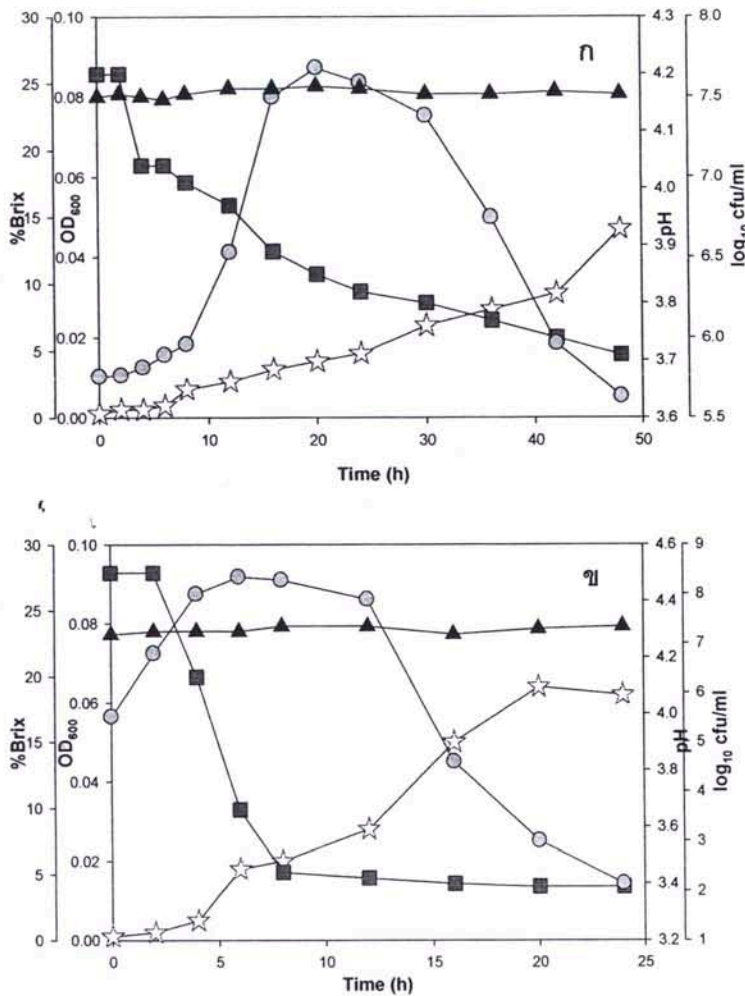
การเจริญเติบโตของเชื้อ *L. mesenteroides* TISTR473 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อย บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่มีการควบคุมพีเอชโดยมีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5 - 6 \log_{10}\text{cfu/ml}$ (ภาพ 12ก) พบว่า ในชั่วโมงที่ 0 - 8 *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถเจริญ

เติบโตได้ดี โดยจะค่อยๆ เพิ่มจำนวนมากขึ้น มีช่วง log phase ในชั่วโมงที่ 8 - 16 มีปริมาณเชื้อสูงสุดประมาณ $7.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ เข้าสู่ช่วง stationary phase ในชั่วโมงที่ 16 - 30 หลังจากนั้นเข้าสู่ช่วง death phase ในชั่วโมงที่ 30 โดยปริมาณจุลินทรีย์มีการลดลงอย่างรวดเร็ว ในชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณเชื้อเหลือรอดประมาณ $5.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ในส่วนของค่าพีเอชในน้ำอ้อยมีการลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยลดลงจาก pH 4.2 จนถึงในระดับ pH 3.7

การเจริญเติบโตของ *L. mesenteroides* TISTR 473 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อยบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีการควบคุมพีเอชโดยมีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ 5 - 6 $\log_{10} \text{cfu/ml}$ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพ 12ข) พบว่า *L. mesenteroides* TISTR 473 มีช่วง log phase อยู่ในชั่วโมงที่ 6 - 8 โดยมีปริมาณเชื้อสูงสุดประมาณ $8.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ หลังจากชั่วโมงที่ 12 *L. mesenteroides* TISTR 473 มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณเชื้อต่ำสุดที่ประมาณ $2.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ และหลังจากชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไปไม่พบการเจริญของเชื้อ *L. mesenteroides* TISTR 473 ในส่วนของค่าพีเอชในน้ำอ้อยมีการลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 2 - 8 จากค่า pH 4.4 ลดลงมาเหลือ pH 3.4 และหลังจากชั่วโมงที่ 8 มีการเปลี่ยนแปลงของพีเอชเพียงเล็กน้อยตลอดช่วงการเพาะเลี้ยง ส่วนของปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักตลอดช่วงการเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้เฉลี่ยประมาณ 24 เปอร์เซ็นต์ ทั้งการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส



ภาพ 11 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ก); ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ข); OD_{600} (☆) pH (■) $\log_{10}$ cfu/ml (○) และ %Brix (▲)



ภาพ 12 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR473 ในน้ำอ้อยที่
อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ก) และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ข); OD₆₀₀
(—☆—) pH (—■—) log₁₀ cfu/ml (—●—) และ %Brix (—▲—)

2. การเจริญเติบโตของ *Weissella cibaria* ในอาหารเหลว MRS และในน้ำอ้อย

การเจริญเติบโตของ *Weissella cibaria* ในอาหาร MRS ที่เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 บม
ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่มีการควบคุมค่าพีเอชในอาหารเหลว มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ
5 – 6 log₁₀cfu/ml ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพ 13ก) พบว่า *W. cibaria* สามารถ
เจริญเติบโตได้ดี โดยมีการเจริญเติบโตสูงสุดที่ 16 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเชื้อสูงสุดประมาณ 9.0
log₁₀cfu/ml มีช่วง log phase อยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 2 - 8 หลังจากชั่วโมงที่ 12-24 จะเข้าสู่ช่วง

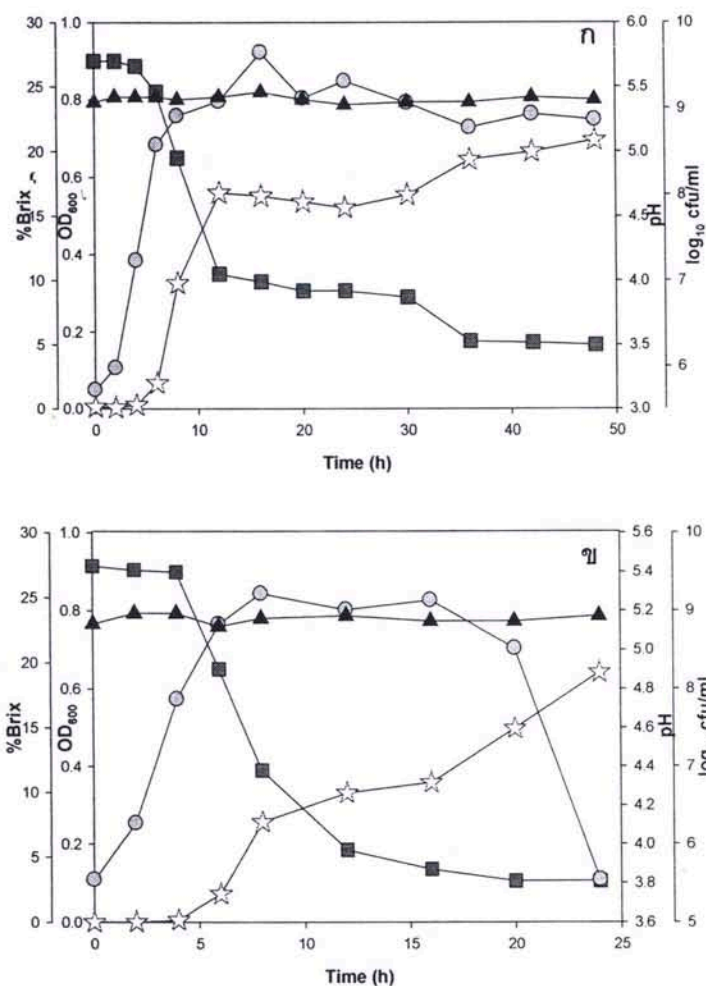
stationary phase หลังจากชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอดประมาณ $8.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ในส่วนของค่าพีเอชในอาหารเหลวมีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง log phase ซึ่งลดลงจาก pH 5.7 มาอยู่ในระดับที่ pH 4 ในชั่วโมงที่ 12 หลังจากเข้าสู่ช่วง stationary phase ค่าพีเอชมีการลดลงเล็กน้อยจนครบระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ 48 ชั่วโมง

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *W. cibaria* ในอาหาร MRS ที่เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 ไม่มีการควบคุมค่าพีเอชโดยมีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5.0 - 6.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพ 13ข) พบว่า *W. cibaria* มีช่วง log phase อยู่ในชั่วโมงที่ 1 - 6 มีการเจริญเติบโตสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 8 โดยมีปริมาณเชื้อประมาณ $9.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ จากนั้นเข้าสู่ช่วง stationary phase ที่ชั่วโมงที่ 8 - 16 หลังจากชั่วโมงที่ 16 - 24 จะเข้าสู่ช่วง death phase และไม่พบการเจริญของเชื้อ *W. cibaria* หลังจากชั่วโมงที่ 24 - 48 ส่วนค่าพีเอชในอาหารเหลวมีการลดลงอย่างรวดเร็วจาก pH 5.4 มาอยู่ในระดับ pH 3.8 หลังจากชั่วโมงที่ 4 จนถึงชั่วโมงที่ 16 หลังจากนั้นพีเอชจะค่อยๆ ลดลงจนครบระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ในส่วนของปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยจนเกือบจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงระยะเวลาในการหมัก โดยมีปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้เฉลี่ยเท่ากับ 24 เปอร์เซ็นต์ ทั้งการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส

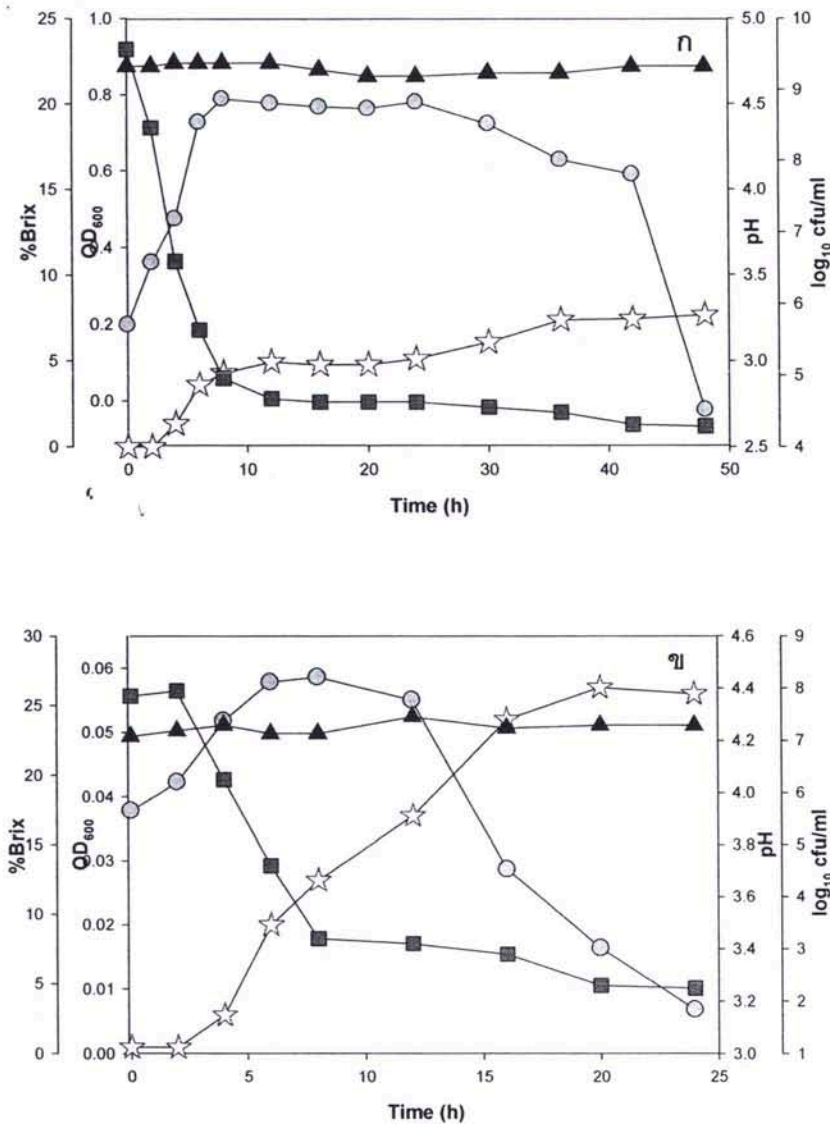
การเจริญเติบโตของ *W. cibaria* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อย ไม่มีการควบคุมพีเอชในน้ำอ้อย ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5 - 6 \log_{10}\text{cfu/ml}$ (ภาพ 14ก) พบว่า *W. cibaria* สามารถเติบโตได้ดี มีช่วง log phase อยู่ในชั่วโมงที่ 1 - 6 จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีการเจริญสูงสุดที่ 12 - 20 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเชื้อสูงสุดประมาณ $8.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ จากนั้นเข้าสู่ช่วง stationary phase ในชั่วโมงที่ 12 - 24 และหลังจากชั่วโมงที่ 30 จะเข้าสู่ช่วง death phase โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็วและในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเชื้อเหลือรอดประมาณ $4.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ในส่วนของค่าพีเอชในน้ำอ้อยมีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง Log phase และตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 เป็นต้นไปจนถึงชั่วโมงสุดท้ายของกระบวนการหมักพีเอชจะค่อยๆ ลดลง

การเจริญเติบโตของเชื้อ *W. cibaria* ในน้ำอ้อย ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีการควบคุมพีเอชในน้ำอ้อย มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5 - 6 \log_{10}\text{cfu/ml}$ โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพ 14ข) พบว่า *W. cibaria* ยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยมีปริมาณเชื้อสูงสุดประมาณ $8.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ในชั่วโมงที่ 6 - 8 และหลังจากชั่วโมงที่ 12 *W. cibaria* มี

ปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว โดยมีปริมาณเชื้อต่ำสุดที่ประมาณ $1.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ในช่วงเวลาที่ 24 และหลังจากช่วงเวลาที่ 24 เป็นต้นไปไม่พบการเจริญของเชื้อ *W. cibaria* ในส่วนของค่าพีเอชในน้ำอ้อยมีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาที่ 2-8 โดยลดลงจาก pH 4 ลงมาในระดับ pH 3.4 และหลังจากช่วงเวลาที่ 12 ค่าพีเอชจะค่อยๆ ลดลงจนครบระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ในส่วนของปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก โดยมีปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้โดยได้เฉลี่ยประมาณ 23 เปอร์เซ็นต์ ทั้งการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส



ภาพ 13 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Weissella cibaria*; เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ก); ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ข); OD₆₀₀ (☆) pH (●) และ %Brix (▲) (■) log₁₀ cfu/ml (○) และ %Brix (▲)



ภาพ 14 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Weissella cibaria*; เพาะเลี้ยงในน้ำอ้อย ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ก) และเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ข); OD₆₀₀ (☆) pH (■) log₁₀ cfu/ml (○) และ %Brix (▲)

จากการเพาะเลี้ยง *L. mesenteroides* TISTR 473 และ *W. cibaria* ในอาหารเลี้ยงเชื้อลำไยรูป MRS เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อย โดยไม่มีการควบคุมพีเอช ซึ่งแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองมีปริมาณของแข็งที่สามารถละลายได้ (%Brix) ไม่แตกต่างกัน พบว่า ที่อุณหภูมิเดียวกัน จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งใน

อาหารสำเร็จรูป MRS ที่เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 และในน้ำอ้อย โดยมีปริมาณเชื้อสูงสุดที่ประมาณ $8.0 - 9.0 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ทั้งที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่ม *Leuconostoc* spp. ในกระบวนการผลิตน้ำตาล (ตาราง 2) ซึ่งมีปริมาณการปนเปื้อนสูงสุดโดยเฉลี่ยประมาณ $8.7 \log_{10}\text{cfu/ml}$ โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตได้ดีจนถึงชั่วโมงที่ 24 และยังคงสามารถเจริญได้จนถึงชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตได้ดีจนถึงชั่วโมงที่ 12 แต่หลังจากนั้นจุลินทรีย์จะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว และหลังจาก 24 ชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือรอดอยู่น้อยมากหรือไม่พบการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เลย จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นั่นคืออุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ โดยจุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการทดลองในส่วนนี้จะไม่มีการควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งในอาหารสำเร็จรูป MRS เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 ที่นำมาเลี้ยงเชื้อในแต่ละครั้งจะมีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่า ๆ กัน คือประมาณ 5.4 - 5.6 ในขณะที่ค่าพีเอชของน้ำอ้อยที่นำมาทำการทดลองแต่ละครั้งจะมีค่าพีเอชไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมและฤดูกาลของการปลูกอ้อยในช่วงเวลานั้นๆ ซึ่งจากสิ่งที่สังเกตได้ในระหว่างการทดลองจะพบว่า การเลี้ยงจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ในอาหารสำเร็จรูป MRS ที่เพิ่มซูโครสร้อยละ 20 เมื่อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตมากขึ้น อาหารเหลวจะมีลักษณะเหนียวหนืดมากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งเกิดจากการสร้างเอกซ์โซโพลิแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide) ของจุลินทรีย์ ในขณะที่การเลี้ยงจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ในน้ำอ้อยนั้น ในบางครั้งจะพบอาหารเหลวที่มีลักษณะเหนียวหนืด แต่ในบางครั้งก็ไม่พบลักษณะเหนียวหนืดของอาหารเหลว แต่จุลินทรีย์ยังคงมีการเจริญเติบโตได้ดีไม่แตกต่างกัน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำอ้อยมีค่าไม่แตกต่างกันในแต่ละครั้งที่ทำการทดลอง แต่สิ่งที่แตกต่างกันคือ ค่าพีเอชในน้ำอ้อยที่นำมาเพาะเลี้ยงในแต่ละครั้ง โดยถ้าในน้ำอ้อยที่นำมาทำการทดลองมีค่าพีเอชเริ่มต้นมากกว่า pH 5 ขึ้นไป อาหารเหลวจะมีลักษณะเหนียวหนืดมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อจุลินทรีย์เจริญเติบโตมากขึ้น แต่ถ้าในน้ำอ้อยที่นำมาทำการทดลองมีค่าพีเอชเริ่มต้นน้อยกว่า pH 5 เมื่อจุลินทรีย์เจริญเติบโตมากขึ้น อาหารเหลวก็ยังคงไม่พบลักษณะเหนียวหนืด

ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงว่าค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์มีผลต่อการสร้างเอกซ์โซโพลิแซคคาไรด์ของจุลินทรีย์ โดยจากการศึกษาของ Santos, et al. (2000, pp. 179-180) พบว่าอุณหภูมิและพีเอชมีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเด็กซ์แทรนของเชื้อ *Leuconostoc*

mesenteroides NRRL B512(f) โดยที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเด็กซ์แทรน และ pH 6.7 เป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุด แต่ที่ pH 5.5 เป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการสร้างเด็กซ์แทรนมากที่สุด และเมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ทั้ง *L. mesenteroides* TISTR 473 และ *W. cibaria* สามารถเจริญได้ดีจนถึงชั่วโมงที่ 24 ทั้งที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส และหลังจากชั่วโมงที่ 24 ไปปริมาณมาณจุลินทรีย์มีการลดลง ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงจะใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพียง 24 ชั่วโมงและทำการควบคุมพีเอชของน้ำอ้อยที่นำมาทำการศึกษา โดยปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง pH 5.0 - 5.5 เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างเด็กซ์แทรนของ *L. mesenteroides* TISTR 473 และ *W. Cibaria* มากที่สุด

ผลของอุณหภูมิต่อการเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณซูโครส ปริมาณเด็กซ์แทรนและปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR473 ในน้ำอ้อย

1. ผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของ *W. cibaria* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อยที่ปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 5.0 – 5.5 และให้อากาศโดยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) ปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ $5 - 6 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดีและมีการเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงชั่วโมงที่ 0 – 8 เข้าสู่ช่วง stationary phase ในชั่วโมงที่ 8 และมีปริมาณเชื้อคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 24 โดยมีปริมาณเชื้อสูงสุดเท่ากับ $9.23 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ซึ่งเพิ่มขึ้น $3.70 \log_{10}\text{cfu/ml}$ และมีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.79 (ภาพ 15ก)

ที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *W. cibaria* ยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยมีช่วง log phase อยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 0 - 8 หลังจากนั้นจึงเข้าสู่ช่วง stationary phase และในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุด $8.68 \log_{10}\text{cfu/ml}$ โดยเพิ่มขึ้น $3.17 \log_{10}\text{cfu/ml}$ และมีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.57

ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 6 โดยมีปริมาณเชื้อ $9.70 \log_{10}\text{cfu/ml}$ หลังจากนั้นจุลินทรีย์มีการลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ $1.39 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ในชั่วโมงสุดท้ายลดลงจากปริมาณเชื้อตั้งต้นถึง $4.51 \log_{10}\text{cfu/ml}$ และเมื่อพิจารณาสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เมื่อเวลา 24 ชั่วโมงพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.2

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของ *L. mesenteroides* TISTR 473 ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงเดียวกันกับ *W. cibaria* พบว่า *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีการเพิ่มปริมาณอย่างต่อเนื่องในช่วง log phase ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 8 หลังจากชั่วโมงที่ 8 ปริมาณเชื้อเริ่มคงที่เป็นช่วง stationary phase จนถึงชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณเชื้อสูงสุดเท่ากับ $9.00 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ซึ่งเพิ่มขึ้น $3.08 \log_{10}\text{cfu/ml}$ และมีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.52 (ภาพ 15ข)

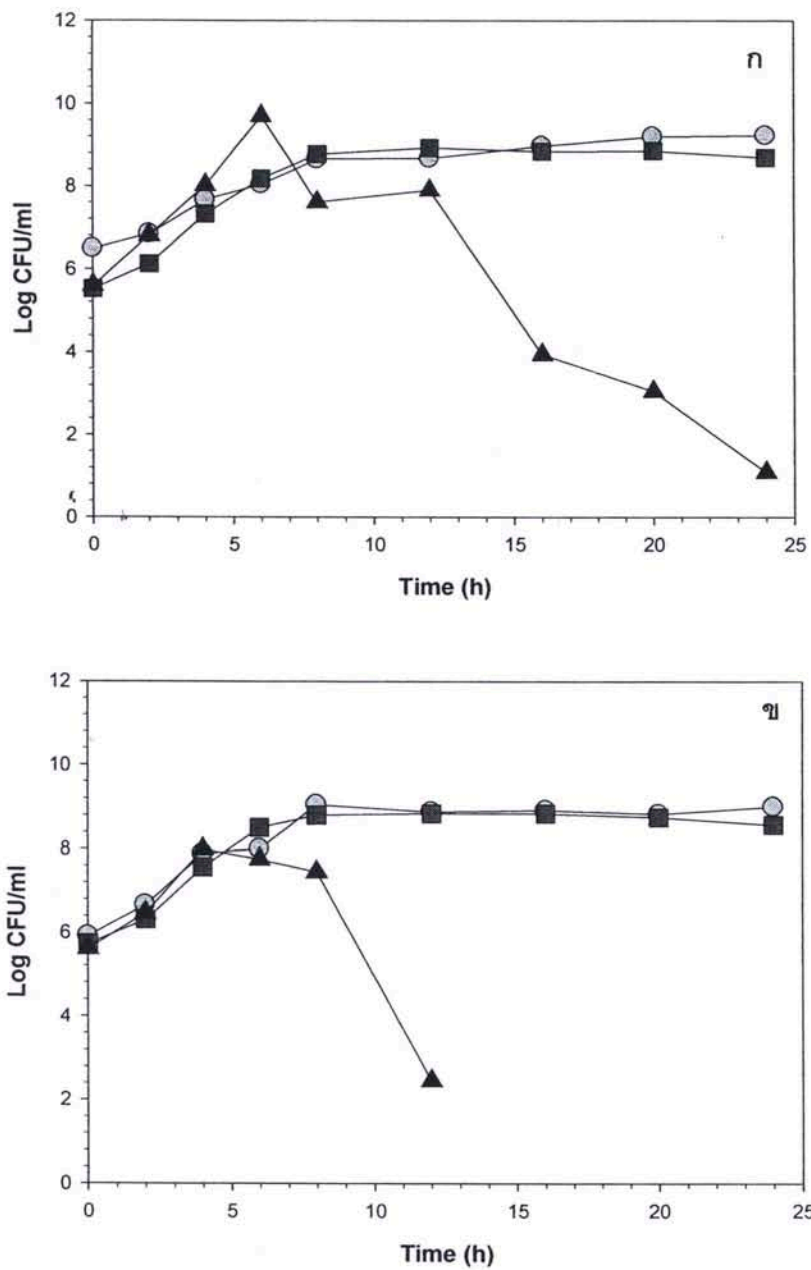
ส่วนที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *L. mesenteroides* TISTR 473 ยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ดี ในช่วงชั่วโมงที่ 0 – 6 มีการเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเข้าสู่ช่วง stationary phase ในชั่วโมงที่ 8 โดยมีปริมาณเชื้อคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 24 และมีปริมาณเชื้อสูงสุดเท่ากับ $8.57 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ซึ่งเพิ่มขึ้น $2.84 \log_{10}\text{cfu/ml}$ และมีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.50

ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 6 โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ $7.75 \log_{10}\text{cfu/ml}$ หลังจากนั้นจุลินทรีย์มีการลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ $2.46 \log_{10}\text{cfu/ml}$ ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 12 ลดลงจากปริมาณเชื้อตั้งต้นถึง $3.15 \log_{10}\text{cfu/ml}$ และไม่พบการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หลังชั่วโมงที่ 16 โดยเมื่อพิจารณาสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เมื่อเวลา 12 ชั่วโมงพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.44

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญเติบโตของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 ซึ่งเป็นเชื้อควบคุมเนื่องจากเป็นเชื้อที่มีรายงานว่ามีการที่ปนเปื้อนในอุตสาหกรรมน้ำตาลและสามารถสร้างเด็กซ์แทรนได้ จากผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการเจริญในน้ำอ้อยที่คล้ายคลึงกัน นั่นคือสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้งคู่เจริญได้ในช่วง

0 – 6 ชั่วโมงแรก จากนั้นเจริญได้น้อยลง *W. cibaria* มีปริมาณลดลงเรื่อยๆ จนถึงชั่วโมงที่ 24 แต่ไม่พบการเจริญของ *L. mesenteroides* TISTR 473 หลังจากชั่วโมงที่ 16 (ภาพ 15ข) เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) (ตาราง 4) พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส *W. cibaria* มีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.79 ± 0.00 1.57 ± 0.14 และ 0.2 ± 0.03 ตามลำดับ ส่วน *L. mesenteroides* TISTR 473 มีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียสเท่ากับ 1.52 ± 0.00 1.50 ± 0.11 และ 0.44 ± 0.06 ตามลำดับ

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อยับยั้งการเติบโตของของ *W. cibaria* ที่สุดคือที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Santos, et al. (2000, pp. 177-188) ที่ทำการศึกษาสภาวะการหมักที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส ปัจจัยที่ทำการศึกษได้แก่ผลของอุณหภูมิ พีเอช ความเข้มข้นของซูโครสเริ่มต้น และการให้อากาศต่อการผลิตของเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส โดยใช้ *L. mesenteroides* NRRL-B 512(F) และจากการทดลองพบว่า *L. mesenteroides* NRRL-B 512(F) สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิในช่วง 20 – 30 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้น โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลง



ภาพ 15 รูปแบบการเจริญเติบโตของ *Weissella cibaria* (ก) และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่อุณหภูมิ 20 (—○—) 30 (—■—) และ 40 (—▲—) องศาเซลเซียส

ตาราง 4 สัดส่วนการเพิ่มปริมาณของ และ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides*TISTR473 ที่อุณหภูมิต่างๆ

Strain	สัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (logN/N ₀)		
	20 ^o C	30 ^o C	40 ^o C
<i>W. cibaria</i>	1.79±0.00 ^a	1.57±0.14 ^b	0.24±0.03 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR 473	1.52±0.00 ^a	1.50±0.11 ^a	0.44±0.06 ^b

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กอธิบายในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ผลของอุณหภูมิต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *Weissella cibaria* และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473

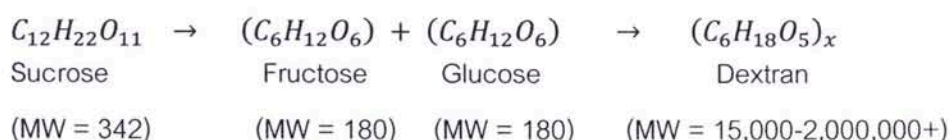
ทำการเพาะเลี้ยง *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ให้อากาศโดยการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที โดยมีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5 – 6 log₁₀cfu/ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษาระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส พบว่า *W. cibaria* มีกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุดที่ 20 องศาเซลเซียส (p<0.05) โดยมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 2.89 DSU/ml รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส โดยมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 0.77 DSU/ml และ 0.12 DSU/ml ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสพบว่า *W. cibaria* มีอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.12 DSUml⁻¹h⁻¹ 0.03 DSUml⁻¹h⁻¹ และ 0.005 DSUml⁻¹h⁻¹ ตามลำดับ (ตาราง 5)

จากการศึกษาระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส *L. mesenteroides* TISTR 473 มีกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุด เท่ากับ 1.94 DSU/ml รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส โดยมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 0.74 DSU/ml และ 0.02 DSU/ml ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส

L. mesenteroides TISTR 473 มีอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส เท่ากับ 0.08 DSUml⁻¹h⁻¹ 0.03 DSUml⁻¹h⁻¹ และ 0.001 DSUml⁻¹h⁻¹ ตามลำดับ

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่า จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสคล้ายคลึงกัน (ภาพ 16) โดยมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และต่ำที่สุดที่ 40 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิที่ 20 และ 40 องศาเซลเซียส *W. cibaria* มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงกว่า *L. mesenteroides* TISTR 473 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

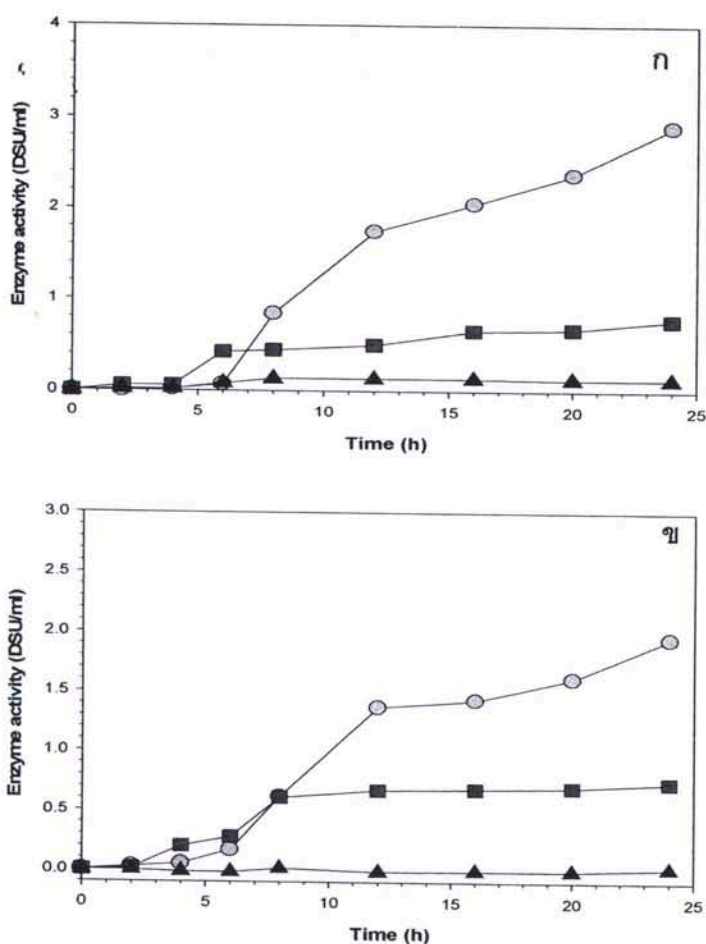
แบคทีเรียที่พบในสกุล *Leuconostoc* spp. สายพันธุ์ *L. mesenteroides* และ *L. dextranicum* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสได้เมื่อเจริญบนอาหารที่มีซูโครสสูง โดยเชื้อแบคทีเรียจะใช้ซูโครสในการเจริญเติบโตและเพิ่มเซลล์ ในขณะเดียวกันในแต่ละเซลล์ยังได้ผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสขึ้น โดยซูโครสเป็นสารตั้งต้นเพียงชนิดเดียวที่กระตุ้นให้เกิดการผลิตเอนไซม์นี้ เอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสจะทำหน้าที่ย้ายหมู่กลูโคซิล (transglucosylation) จากโมเลกุลของน้ำตาลซูโครส เกิดเป็นเด็กซ์แทรนและปลดปล่อยส่วนของฟรุกโตสออกมา ดังสมการ (James and Chung, 1993)



ในขณะนี้ยังมีรายงานน้อยมากในเรื่องของการแยกเชื้อ *W. cibaria* ได้จากน้ำอ้อย แต่จากการศึกษาของ Bounaix, et al. (2010, pp. 18 – 26) พบว่า *W. cibaria* ที่แยกได้จากแป้งหมัก (sourdoughs) มีความสามารถในการสังเคราะห์เอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสจากซูโครสได้ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่หาก *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดี และเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ อาจส่งผลให้มีการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมากขึ้นได้เช่นกัน Santos, et al. (2000, pp. 177-188) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าของอุณหภูมิ พีเอช ความเข้มข้นของซูโครสเริ่มต้น และการให้อากาศต่อการผลิตของเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส ของ *L. mesenteroides* NRRL-B 512 (F) พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส โดยอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นมีผล

ทำให้ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดลองนี้ โดยที่ อุณหภูมิต่ำ (20 และ 30 องศาเซลเซียส) จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตได้ดีและมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูง ในขณะที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส) จุลินทรีย์ทั้งคู่มีการเจริญเติบโตได้น้อยและมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสต่ำ

ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR473 ในการยับยั้งการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสคือ 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียสเชื้อทั้งคู่ยังคงมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่สูงมาก



ภาพ 16 ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *Weissella cibaria* (ก) และ ของ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่อุณหภูมิ 20 (—○—) 30 (—■—) และ 40 (—▲—) องศาเซลเซียส

ตาราง 5 ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสและอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 ใน น้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส

Strain	อุณหภูมิ		
	20 ⁰ C	30 ⁰ C	40 ⁰ C
<i>W. cibaria</i>			
ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSU/ml)(24 h)	2.89±0.01 ^{aA}	0.77±0.01 ^{bA}	0.12±0.00 ^{cA}
อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSUml ⁻¹ h ⁻¹)	0.12±0.00 ^{aC}	0.03±0.00 ^{bB}	0.005±0.00 ^{cC}
<i>L. mesenteroides</i> TISTR 473			
ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSU/ml)(24 h)	1.94±0.00 ^{aB}	0.73±0.02 ^{bA}	0.02±0.00 ^{cB}
อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSUml ⁻¹ h ⁻¹)	0.08±0.01 ^{aD}	0.03±0.00 ^{bB}	0.001±0.00 ^{cD}

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ในแนวตั้งที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณจุลินทรีย์ของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปริมาณจุลินทรีย์ของ *W. cibaria* โดยทำการเพาะเลี้ยง จุลินทรีย์ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ให้ อากาศโดยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) ปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 $\log_{10}$ cfu/ml ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ปริมาณ จุลินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากชั่วโมงที่ 8 (ภาพ 17ก) ในชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้น ประมาณ 154.69 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเหลือประมาณ 67.09 กรัมต่อลิตร คำนวณอัตราการใช้จุลินทรีย์ได้เท่ากับ 3.65 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์อย่างรวดเร็วเช่นกันแต่ต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 20 องศา เซลเซียส โดยมีอัตราการใช้จุลินทรีย์เท่ากับ 1.97 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศา เซลเซียส การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์เกิดขึ้นน้อยมากในระหว่างการเพาะเลี้ยง มีอัตราการใช้ จุลินทรีย์เท่ากับ 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปริมาณจุลินทรีย์ของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบ ว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่อุณหภูมิ 20 องศา เซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นประมาณ 157.07กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเหลือประมาณ 72.23 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการใช้จุลินทรีย์ได้เท่ากับ 3.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นประมาณ 169.00กรัม ต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเหลือประมาณ 95.65 กรัมต่อลิตร มี อัตราการใช้จุลินทรีย์เท่ากับ 3.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส การ เปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย โดยมีอัตราการใช้จุลินทรีย์เท่ากับ 0.02 กรัมต่อลิตรต่อ ชั่วโมง

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่อปริมาณจุลินทรีย์ของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบการใช้จุลินทรีย์คล้ายคลึง กัน โดยที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีอัตราการใช้จุลินทรีย์สูงสุด รองลงมาคือ 30 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีอัตราการใช้จุลินทรีย์ต่ำที่สุด ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบอัตราการ ใช้จุลินทรีย์ (ตาราง 6) พบว่าที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส *W. cibaria* มีอัตราการใช้ จุลินทรีย์เท่ากับ 3.65 ± 0.18 1.97 ± 0.34 และ 0.10 ± 0.03 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *L. mesenteroides* TISTR 473 มีอัตราการใช้จุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.54 ± 0.16 3.06 ± 0.32 และ 0.02 ± 0.00 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

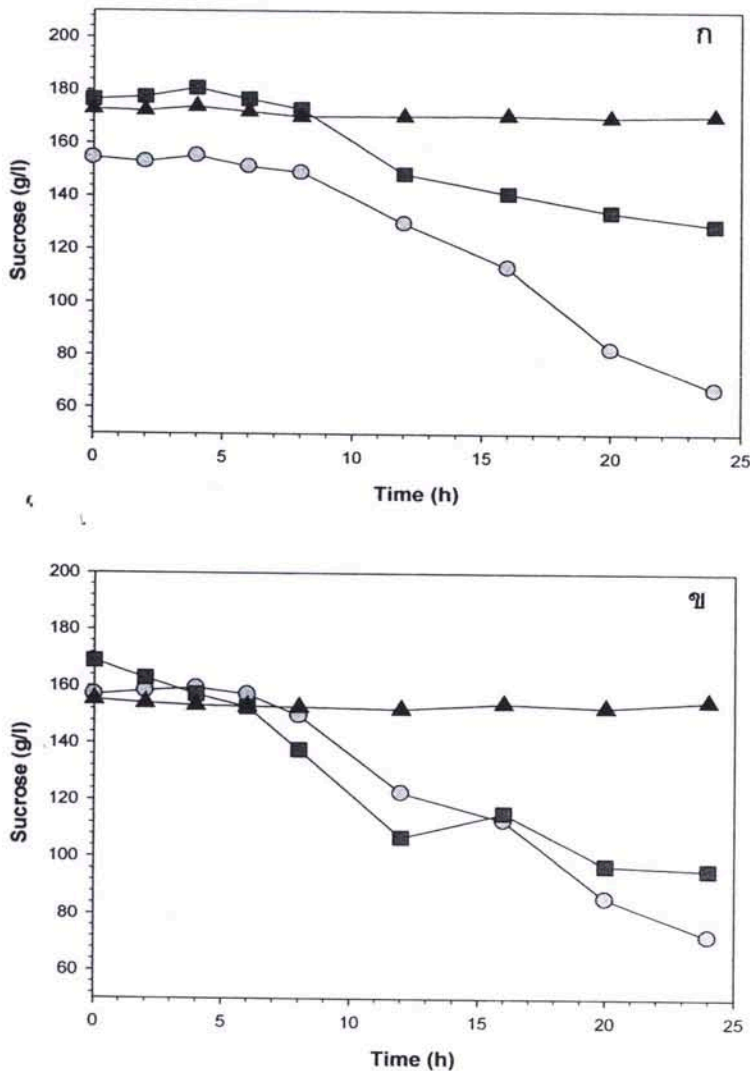
ผลการลดลงของปริมาณซูโครสที่ได้สอดคล้องกับข้อมูลการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ โดยเมื่อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีย่อมส่งผลทำให้เกิดการสูญเสียซูโครสมากขึ้น ในอาหารที่มีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน จุลินทรีย์จะใช้ซูโครสในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน เซลล์ จากผลการทดลองในตอนที 6.1 ซึ่งเห็นว่า *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ที่สภาวะดังกล่าวมีการลดลงของ ปริมาณซูโครสมากเช่นกัน ส่วนที่ 40 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้งคู่เจริญเติบโตได้น้อย ทำให้ ปริมาณซูโครสลดลงเพียงเล็กน้อย

ข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่า *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 ทำให้ ซูโครสมีปริมาณลดลงมากที่สุดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 30 องศาเซลเซียส และ ที่ 40 องศาเซลเซียส มีการลดลงของปริมาณซูโครสน้อยที่สุด สามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่สามารถลดการสูญเสียซูโครสในน้ำอ้อยเนื่องจาก *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 ได้ดีที่สุด

ตาราง 6 อัตราการใช้ซูโครสของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส

Strain	อัตราการใช้ซูโครส (g/l/h)		
	20°C	30°C	40°C
<i>W. cibaria</i>	3.65±0.18 ^a	1.97±0.34 ^b	0.10±0.03 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR 473	3.54±0.16 ^a	3.06±0.32 ^b	0.02±0.00 ^c

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%



ภาพ 17 ปริมาณซูโครสที่เหลืออยู่ของ *Weissella cibaria* (ก) และ ของ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่อุณหภูมิ 20 (—○—) 30 (—■—) และ 40 (—▲—) องศาเซลเซียส

4. ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473

ทำการเพาะเลี้ยง *W. cibaria* ในน้ำอ้อยที่ปรับพีเอช (5.0 – 5.5) มีการให้อากาศโดยการเขย่า (200 รอบ ต่อนาที) ปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 $\log_{10}$ cfu/ml ทำการบ่มจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษา

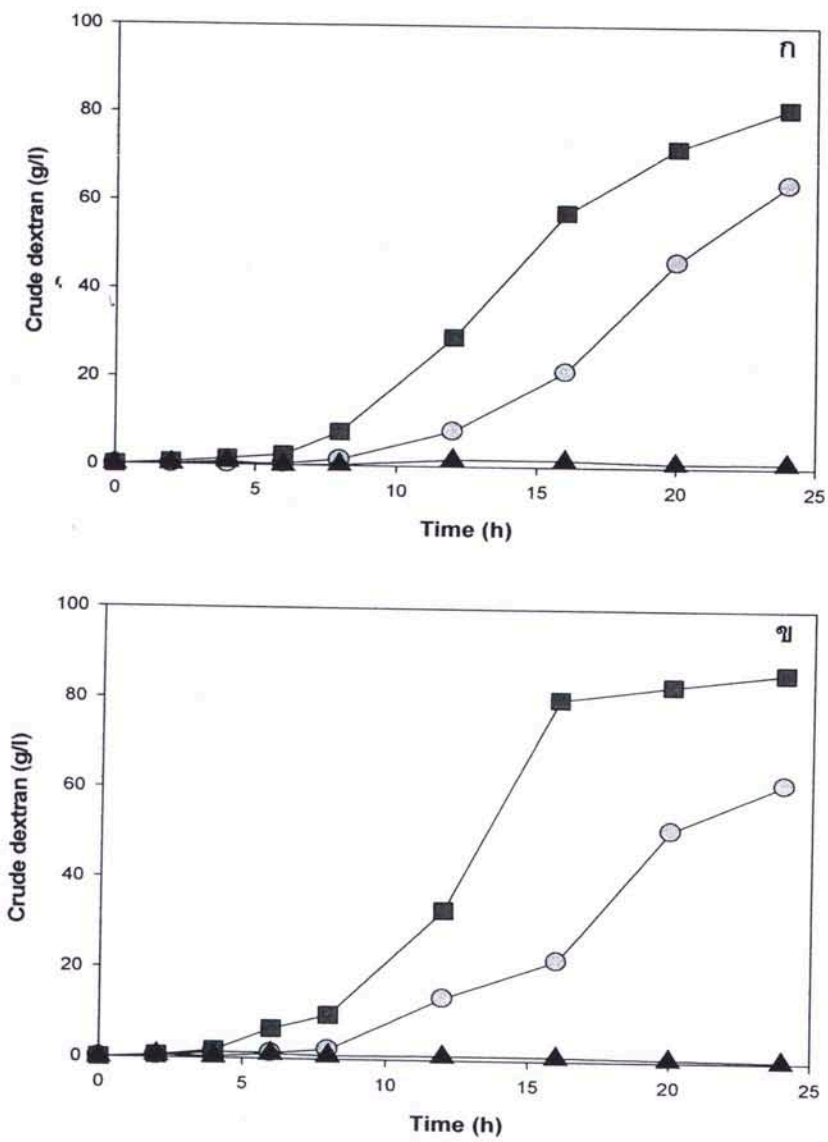
ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเด็กซ์แทรน พบว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาที่ 0 – 6 พบการเกิดเด็กซ์แทรนในปริมาณต่ำ แต่หลังจากเพาะเลี้ยง 8 ชั่วโมง จึงเริ่มมีการเกิดเด็กซ์แทรน อย่างชัดเจนและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงชั่วโมงที่ 24 (ภาพ 18ก) โดยปริมาณเด็กซ์แทรนที่เกิดขึ้นมีค่าเท่ากับ 64.4 และ 81.5 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนเท่ากับ 2.68 และ 3.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีการผลิตเด็กซ์แทรนน้อยมากตลอดช่วงที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาณเด็กซ์แทรนที่เกิดขึ้นเท่ากับ 1.08 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรน 0.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากผลการทดลองจะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการผลิตเด็กซ์แทรนที่สูงกว่าที่ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่สอดคล้องกับการเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การใช้ซูโครสและการผลิตฟรุกโตสที่มีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากปริมาณเด็กซ์แทรนที่วัดได้เป็นเพียงการวัด Crude dextran ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเอทานอลซึ่งเป็นเพียงวิธีการวัดหาปริมาณเด็กซ์แทรนเบื้องต้น ในขณะที่การวัดปริมาณซูโครสและฟรุกโตสเป็นการวิเคราะห์ปริมาณที่แท้จริงที่วิเคราะห์ด้วย HPLC

การศึกษามวลของอุณหภูมิต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส มีการเกิดเด็กซ์แทรนได้ดีและมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ จนถึงชั่วโมงที่ 24 (ภาพ 18ข) โดยปริมาณเด็กซ์แทรนที่เกิดขึ้นมีค่าเท่ากับ 61.45 และ 86.15 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนเท่ากับ 2.56 และ 3.59 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีการผลิตเด็กซ์แทรนเพียงเล็กน้อย โดยมีปริมาณเด็กซ์แทรนในช่วงเวลาที่ 24 เท่ากับ 0.35 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรน 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนสูงที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนต่ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ตาราง 7)

กลไกการเกิดเด็กซ์แทรน เกิดจาก *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 เจริญในอาหารที่มีซูโครสสูง เชื่อเหลือ่นี่จะใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ ในขณะเดียวกันแต่ละเซลล์มีการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสขึ้น โดยเอนไซม์นี้จะเข้าไปกระตุ้นปฏิกิริยาการย่อยซูโครสที่เหลืออยู่ และก่อให้เกิดการผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสออกมา

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการผลิตเด็กซ์แทรนสำหรับ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 คือที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่ 20 และ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีการผลิตเด็กซ์แทรนได้ในปริมาณสูง



ภาพ 18 ปริมาณเด็กซ์แทรนของ *Weissella cibaria* (ก) และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่อุณหภูมิ 20 (—○—) 30 (—■—) และ 40 (—▲—) องศาเซลเซียส

ตาราง 7 อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส

Strain	อัตราการเกิดเด็กซ์แทรน (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)		
	20 ^o C	30 ^o C	40 ^o C
<i>W. cibaria</i>	2.68±0.03 ^b	3.39±0.04 ^a	0.04±0.00 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR 473	2.56±0.05 ^b	3.59±0.01 ^a	0.01±0.04 ^c

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงในน้ำอ้อย (5.0 – 5.5) ให้อากาศโดยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) มีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 log₁₀cfu/ml เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีการเกิดฟรุกโตสเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 8 ชั่วโมง (ภาพ 19ก) โดยในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงที่ 0 ประมาณ 48.98 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 2.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นเท่ากับ 12.20 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.51 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยในชั่วโมง 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงแรกประมาณ 2.78 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.12 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

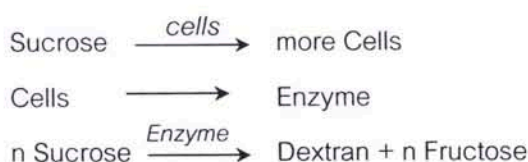
การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปริมาณฟรุกโตสของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในชั่วโมงที่ 0 – 6 มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟรุกโตสเกิดขึ้นน้อยมาก แต่หลังจากเพาะเลี้ยง 8 ชั่วโมง เริ่มมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟรุกโตสอย่างชัดเจนและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงที่ 0 ประมาณ 55.12 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 2.30 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนที่อุณหภูมิ



30 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาที่ 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นเท่ากับ 10.69 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.45 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นน้อยมาก โดยในช่วง 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากช่วงเวลาที่ 0 ประมาณ 0.90 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่อปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบการเกิดฟรุกโตสคล้ายคลึงกัน คือที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีอัตราการเกิดฟรุกโตสสูงที่สุด ($p < 0.05$) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการเกิดฟรุกโตสสูงรองลงมา และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีอัตราการเกิดฟรุกโตสต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเกิดฟรุกโตส (ตาราง 8) พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส *W. cibaria* มีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 2.04 ± 0.07 0.51 ± 0.04 และ 0.12 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *L. mesenteroides* TISTR 473 มีอัตราการเกิดฟรุกโตสที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 2.30 ± 0.06 0.45 ± 0.07 และ 0.04 ± 0.00 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟรุกโตสเกิดจากการที่จุลินทรีย์ใช้ซูโครสเพื่อการเจริญเติบโต และสังเคราะห์เอนไซม์ดีกซ์แทรนซูเครสขึ้น จากนั้นเอนไซม์ดีกซ์แทรนซูเครสจะเข้าไปย่อยซูโครสที่เหลืออยู่ และก่อให้เกิดการผลิตดีกซ์แทรนและปลดปล่อยฟรุกโตสออกมา สามารถเขียนให้อยู่ในรูปสมการเคมีดังนี้

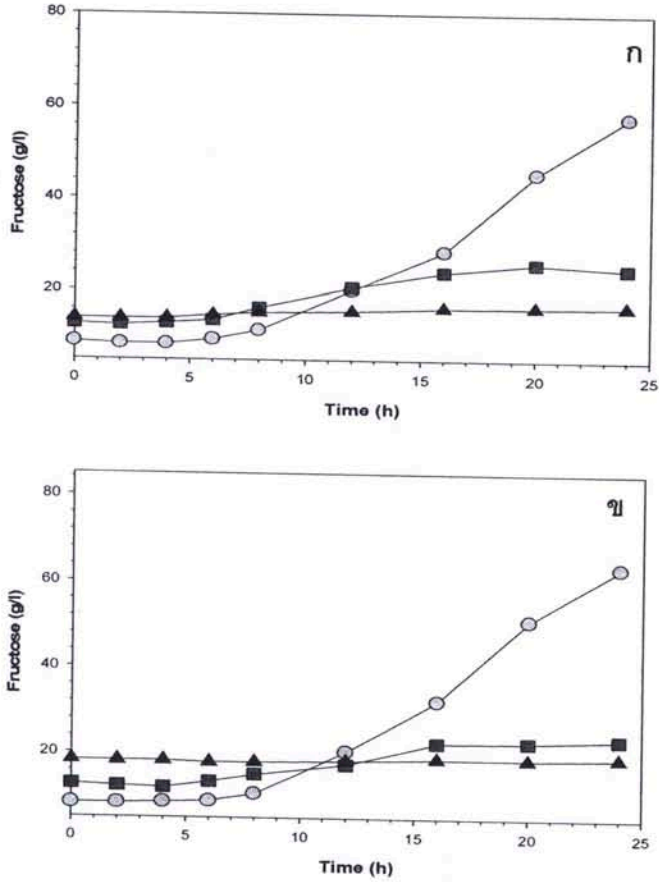


ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการยับยั้งการสร้างฟรุกโตสโดย *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 คือที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่ 20 และ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้งคู่มีอัตราการเกิดฟรุกโตสในปริมาณสูง

ตาราง 8 อัตราการเกิดฟรุกโตสของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส

Strain	อัตราการเกิดฟรุกโตส (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)		
	20 ⁰ C	30 ⁰ C	40 ⁰ C
<i>W. cibaria</i>	2.04±0.07 ^a	0.51±0.04 ^b	0.12±0.01 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR473	2.30±0.06 ^a	0.45±0.07 ^b	0.04±0.00 ^c

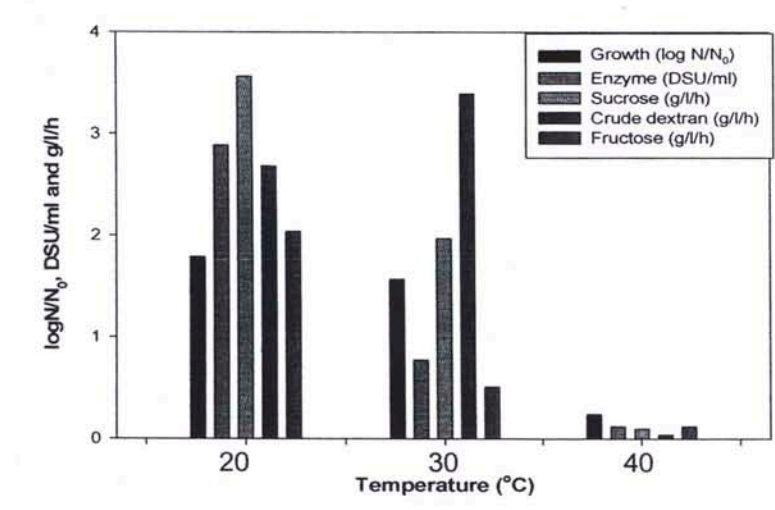
หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 19 ปริมาณฟรุกโตสของ *Weissella cibaria* (ก) และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่อุณหภูมิ 20 (—○—) 30 (—■—) และ 40 (—▲—) องศาเซลเซียส

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณซูโครส ปริมาณเด็กซ์แทรนและปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* ในน้ำอ้อย จากภาพ 20 แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ดี มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครสสูง อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสในปริมาณสูง ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 40 องศาเซลเซียส ความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดลดลง ส่งผลให้ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสต่ำลงด้วย แสดงว่าอุณหภูมามีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสลดลง ส่งผลทำให้มีอัตราการใช้ซูโครสและอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนรวมถึงฟรุกโตสต่ำ และสามารถสรุปได้ว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการลดการสูญเสียซูโครสเนื่องจาก *W. cibaria* ที่จำแนกได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย

ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิทั่วไปในกระบวนการผลิตน้ำตาลช่วงแรก (การสกัดน้ำอ้อยและการกรอง) และผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ทั้ง *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถเจริญเติบโตได้ดี มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูง มีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสในปริมาณสูง ดังนั้นจึงทำการเลือกสภาวะอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเพื่อทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป



ภาพ 20 การเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณซูโครส ปริมาณเด็กซ์แทรนและปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* ในน้ำอ้อยที่อุณหภูมิต่างๆ

ผลของสารชีวฆาตต่อการเติบโต ระดับกิจกรรม เอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณ ซูโครส ปริมาณเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส ของ *Weissella cibaria* และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 ในน้ำอ้อย

1. ผลของสารชีวฆาตต่อการเติบโตของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473

การศึกษาผลของสารชีวฆาตต่อการเจริญเติบโตของ *W. cibaria* ทำการเพาะเลี้ยง จุลินทรีย์ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.0) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อ ตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 $\log_{10}$ cfu/ml ให้อากาศโดยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) เติมสาร ชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0.5 และ 10 ppm พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดี มีการเพิ่มปริมาณอย่างต่อเนื่องในช่วงเวลาที่ 0 – 8 และใน ช่วงเวลาที่ 8 เริ่มเข้าสู่ช่วง stationary phase ซึ่งเป็นช่วงที่จุลินทรีย์มีอัตราการเกิดเท่ากับอัตราการ ตาย ทำให้ในช่วงนี้มีปริมาณจุลินทรีย์ค่อนข้างคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 24 โดยมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้าย เท่ากับ 8.68 $\log_{10}$ cfu/ml ซึ่งเพิ่มขึ้น 3.17 $\log_{10}$ cfu/ml และมีค่าสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณ จุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.57 (ภาพ 21ก)

ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่ 5 ppm ในช่วงแรกตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 8 จุลินทรีย์มีการลดปริมาณลงเล็กน้อย ซึ่งเกิดจากสารชีวฆาตที่มีคุณสมบัติในการฆ่าจุลินทรีย์หรือมี ผลทำให้เซลล์จุลินทรีย์บางส่วนได้รับความเสียหายจึงทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในช่วงแรกลดลงและ หลังจากทำการเพาะเลี้ยงได้ 12 ชั่วโมง จุลินทรีย์เริ่มเพิ่มปริมาณมากขึ้น อาจเนื่องมาจากการที่ จุลินทรีย์เหลือรอดมีการปรับตัวเพื่อให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่รุนแรงเพื่อที่จะสามารถเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นได้ โดย *W. cibaria* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อยที่มีการเติมสารชีว ฆาตความเข้มข้น 5 ppm มีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดเท่ากับ 7.48 $\log_{10}$ cfu/ml ซึ่งเพิ่มขึ้นประมาณ 2.00 $\log_{10}$ cfu/ml และมีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.36

ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm *W. cibaria* มีช่วงการปรับตัวนาน กว่าที่ 5 ppm กล่าวคือ ในช่วงแรกของการเจริญชั่วโมงที่ 0 – 12 ปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลง แต่หลังจาก 16 ชั่วโมง จุลินทรีย์เริ่มเพิ่มปริมาณมากขึ้น โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ในชั่วโมง 24 เท่ากับ 6.23 $\log_{10}$ cfu/ml โดยเพิ่มขึ้น 1.67 $\log_{10}$ cfu/ml และมีค่าสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณ จุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.14

การศึกษาผลของสารชีวฆาตต่อการเจริญเติบโตของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถ

เจริญเติบโตได้ดีและมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ ในช่วงเวลาที่ 0 – 8 หลังจากช่วงเวลาที่ 8 ปริมาณจุลินทรีย์ค่อนข้างคงที่จนถึงช่วงเวลาที่ 24 โดยมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายเท่ากับ $8.57 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ ซึ่งเพิ่มขึ้น $2.84 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ และมีค่าสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.50 (ภาพ 21ข)

ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่ 5 ppm ในช่วงแรกตั้งแต่ช่วงเวลาที่ 0 – 8 จุลินทรีย์มีการลดปริมาณลงประมาณ $2.54 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ แต่หลังจากช่วงเวลาที่ 8 จุลินทรีย์มีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายเท่ากับ $7.33 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ ซึ่งเพิ่มขึ้น $1.69 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ และมีค่าสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.30

ในขณะที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm ปริมาณของ *L. mesenteroides* TISTR 473 มีแนวโน้มลดลงในช่วงช่วงเวลาที่ 0 – 6 และในช่วงเวลาที่ 8 – 12 ปริมาณจุลินทรีย์ค่อนข้างคงที่ซึ่งเป็นช่วงที่จุลินทรีย์มีการปรับตัว หลังจากช่วงเวลาที่ 12 จุลินทรีย์เริ่มเพิ่มปริมาณมากขึ้น โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ในช่วง 24 เท่ากับ $6.04 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ โดยเพิ่มขึ้น $0.81 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ และมีค่าสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) เท่ากับ 1.16

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของสารชีวฆาตต่อการเจริญเติบโตของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบในการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน (ภาพ 21) นั่นคือ ที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ดีและมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ 5 และ 10 ppm ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง จุลินทรีย์มีแนวโน้มลดปริมาณลงและเมื่อทำการเพาะเลี้ยงประมาณ 12 – 16 ชั่วโมง พบว่าจุลินทรีย์มีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงช่วงเวลาที่ 24 แต่มีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ($\log N/N_0$) ต่ำกว่าที่ 0 ppm

สารชีวฆาตที่นำมาใช้ในการทดลองนี้มีชื่อทางการค้า คือ Hexamine และมีชื่อทางเคมีคือ Hexamethylenetetramine ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$) มีคุณสมบัติที่สามารถละลายน้ำได้ดี มีความเสถียร (Stable) ที่สภาวะปกติ สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง จัดอยู่ในกลุ่มไม่เป็นพิษ (non-toxic) ถ้าใช้ในปริมาณต่ำมนุษย์สามารถต้านฤทธิ์ (tolerate) ของ Hexamethylenetetramine ได้หลายกรัมต่อวันโดยไม่เกิดภาวะแทรกซ้อน กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของ Hexamethylene tetramine ได้แก่การก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenic substance) ในแบคทีเรีย แต่ไม่มีผลกระทบต่อมนุษย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของ Hexamethylene tetramine จะขึ้นอยู่กับกลไกการปลดปล่อยกลุ่ม formaldehyde จาก Hexamethylenetetramine ในตัวกลางที่เป็นกรด

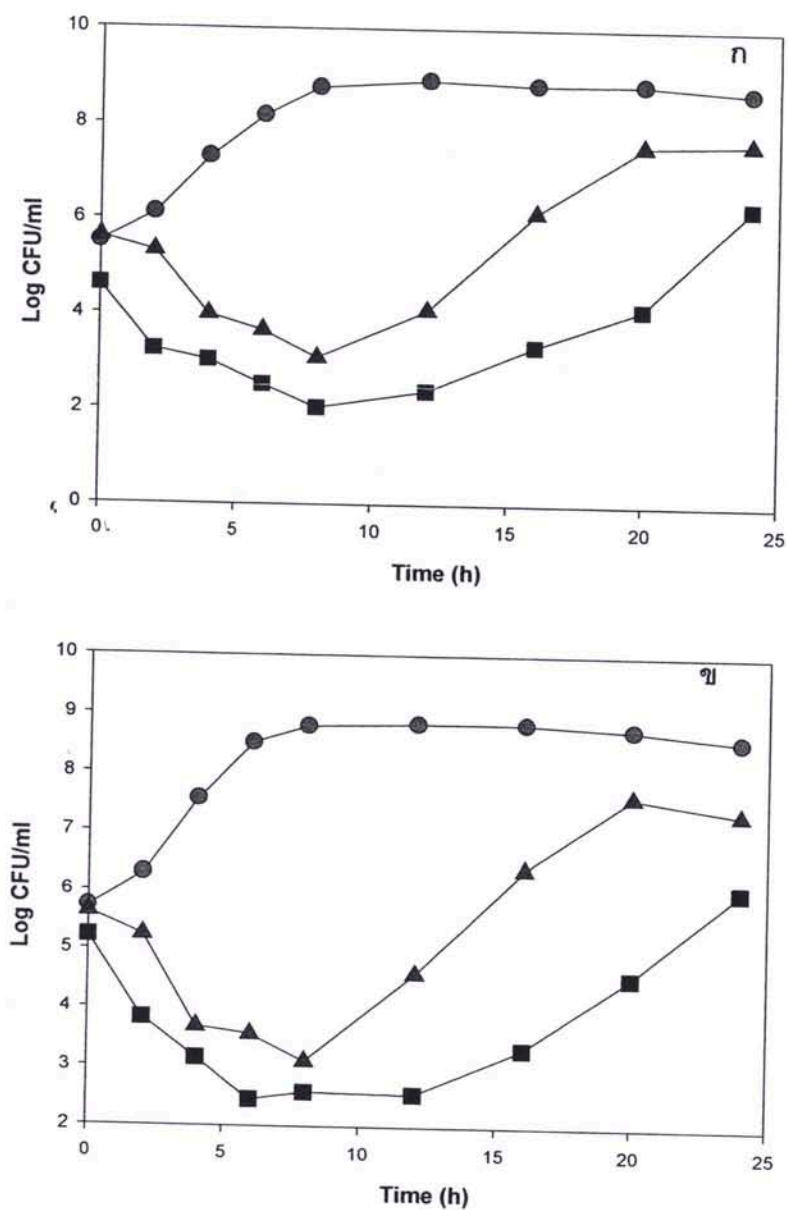
(acid medium) หากตัวกลางมีความเป็นกรดสูงจะมีผลทำให้การยับยั้งจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยในกระบวนการผลิตน้ำตาลมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.0 – 5.0 ซึ่งช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของสารชีวฆาตชนิดนี้ การฆ่าเชื้อของ formaldehyde และ Hexamethylenetetramine ขึ้นอยู่กับการทำปฏิกิริยากับโปรตีนในเซลล์จุลินทรีย์และยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดย formaldehyde มีกลไกการออกฤทธิ์ฆ่าจุลินทรีย์ด้วยการทำให้โปรตีนตกตะกอนโดยวิธี alkylation สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวก แกรมลบ รวมทั้งเชื้อวัณโรค เชื้อรา และไวรัสได้ มีการใช้ Hexamethylenetetramine ความเข้มข้นสูงในเชิงพาณิชย์เพื่อใช้ในการถนอมอาหาร โดย Hexamethylenetetramine สามารถฆ่าจุลินทรีย์จำพวก แบคทีเรีย ยีสต์และราได้ (Lück and Jager, 1997, pp. 235-236)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่เหมาะสมสำหรับการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ได้ดีที่สุดคือที่ ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm รองลงมาคือที่ 5 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ดีตลอดช่วงการเพาะเลี้ยง

ตาราง 9 สัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (log N/N0) ของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่ สารชีวฆาตความเข้มข้น 0 2.5 5 และ 10 ppm

Strain	สัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น(log N/N0)		
	0 ppm	5 ppm	10 ppm
<i>W. cibaria</i>	1.57±0.14 ^a	1.36±0.07 ^b	1.14±0.00 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR473	1.50±0.16 ^a	1.30±0.08 ^b	1.16±0.00 ^c

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 21 รูปแบบการเจริญเติบโตของ *Weissella cibaria* (ก) และ ของ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่ความเข้มข้นของสารชีวชาติที่ 0 (—●—) 5 (—▲—) และ 10 (—■—) ppm

2. ผลของสารชีวฆาตต่อระดับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473

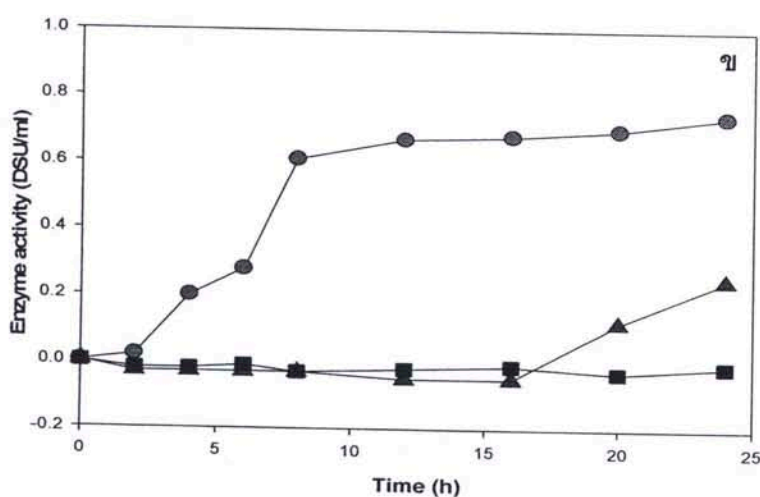
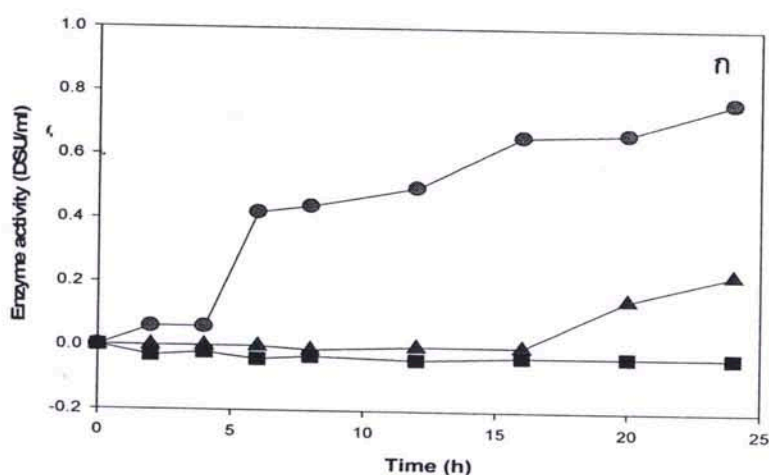
ทำการเพาะเลี้ยง *W. cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้อากาศโดยการเขย่า (ที่ 200 รอบต่อนาที) เติมสารชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm มีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 $\log_{10}$ cfu/ml ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษาผลของสารชีวฆาตต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm *W. cibaria* มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงที่สุด โดยในชั่วโมงที่ 0 – 4 มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสในปริมาณน้อยมากแต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังจากทำการเพาะเลี้ยงผ่านไป 6 ชั่วโมง (ภาพ 22ก) และในชั่วโมงที่ 24 มีระดับกิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดเท่ากับ 0.77 DSU/ml และมีอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเท่ากับ 0.03 $\text{DSUml}^{-1}\text{h}^{-1}$ ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm ในช่วงชั่วโมงที่ 0 – 12 จะไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสจนกระทั่งในชั่วโมง 16 จึงเริ่มมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงขึ้น โดยในชั่วโมงที่ 24 มีกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเท่ากับ 0.23 DSU/ml และมีอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเท่ากับ 0.01 $\text{DSUml}^{-1}\text{h}^{-1}$ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm ไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสตลอดช่วงที่ทำการเพาะเลี้ยง

การศึกษาผลของสารชีวฆาตต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่า *L. mesenteroides* TISTR 473 มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm โดยใน 2 ชั่วโมงแรกยังมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสในปริมาณน้อย (ภาพ 22ข) แต่หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 4 ชั่วโมง จึงเริ่มมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยในชั่วโมงที่ 24 มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเท่ากับ 0.74 DSU/ml และมีอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเท่ากับ 0.03 $\text{DSUml}^{-1}\text{h}^{-1}$ ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm ไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสในช่วงชั่วโมงที่ 0 – 12 แต่หลังจากชั่วโมงที่ 12 จึงเริ่มมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงอย่างเห็นได้ชัดและมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุดเท่ากับ 0.25 DSU/ml มีอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเท่ากับ 0.01 $\text{DSUml}^{-1}\text{h}^{-1}$ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm ไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสตลอดช่วงที่ทำการเพาะเลี้ยง

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของสารชีวฆาตต่ออัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) นั่นคือ มีการผลิต

เอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสได้ดีที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 0 ppm สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสได้น้อยลงเมื่อความเข้มข้นของสารชีวมาตเพิ่มขึ้นและไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 10 ppm

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 10 ppm เป็นระดับความเข้มข้นของสารชีวมาตที่เหมาะสมสำหรับยับยั้งการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมากที่สุด รองลงมาคือ 5 ppm ซึ่งมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ความเข้มข้นของสารชีวมาต 0 ppm มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงที่สุด



ภาพ 22 ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *Weissella cibaria* (ก) และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่ความเข้มข้นของสารชีวมาตที่ 0 ppm (—●—) 5ppm (—▲—) และ 10 (—■—) ppm

ตาราง 10 ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสและอัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR 473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่สารชีวมาตความเข้มข้น 0 5 และ 10 ppm

Strain	ความเข้มข้นของสารชีวมาต		
	0 ppm	5 ppm	10 ppm
<i>W. cibaria</i>			
ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSU/ml)(24 h)	0.77±0.01 ^a	0.23±0.0 ^b	0.00±0.00 ^d
อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSUml ⁻¹ h ⁻¹)	0.03±0.00 ^a	0.01±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR473			
ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSU/ml)(24 h)	0.73±0.01 ^a	0.25±0.01 ^b	0.00±0.00 ^d
อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส (DSUml ⁻¹ h ⁻¹)	0.03±0.01 ^a	0.01±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. ผลของสารชีวมาตต่อปริมาณซูโครสของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR473

การศึกษาผลของสารชีวมาตต่อปริมาณซูโครสของ *W. cibaria* โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมสารชีวมาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีการให้อากาศโดยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) มีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 log₁₀cfu/ml พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 0 ppm มีการลดลงของปริมาณซูโครสมากที่สุด จากปริมาณซูโครสตั้งต้นประมาณ 176.52 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง มีปริมาณซูโครสเหลือประมาณ 129.29 กรัมต่อลิตร โดยมีการสูญเสียซูโครสไปประมาณ 47.23 กรัมต่อลิตรและมีอัตราการใช้ซูโครสเท่ากับ

1.97 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ภาพ 23ก) ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm มีปริมาณชูโครสลดลงเพียงเล็กน้อย เมื่อทำการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมงมีการสูญเสียชูโครสประมาณ 10.34 กรัมต่อลิตรและมีอัตราการใช้ชูโครสเท่ากับ 0.43 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm มีการลดลงของปริมาณชูโครสน้อยมากโดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมงมีการสูญเสียชูโครสประมาณ 2.85 กรัมต่อลิตรและมีอัตราการใช้ชูโครสเท่ากับ 0.12 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตาราง 11)

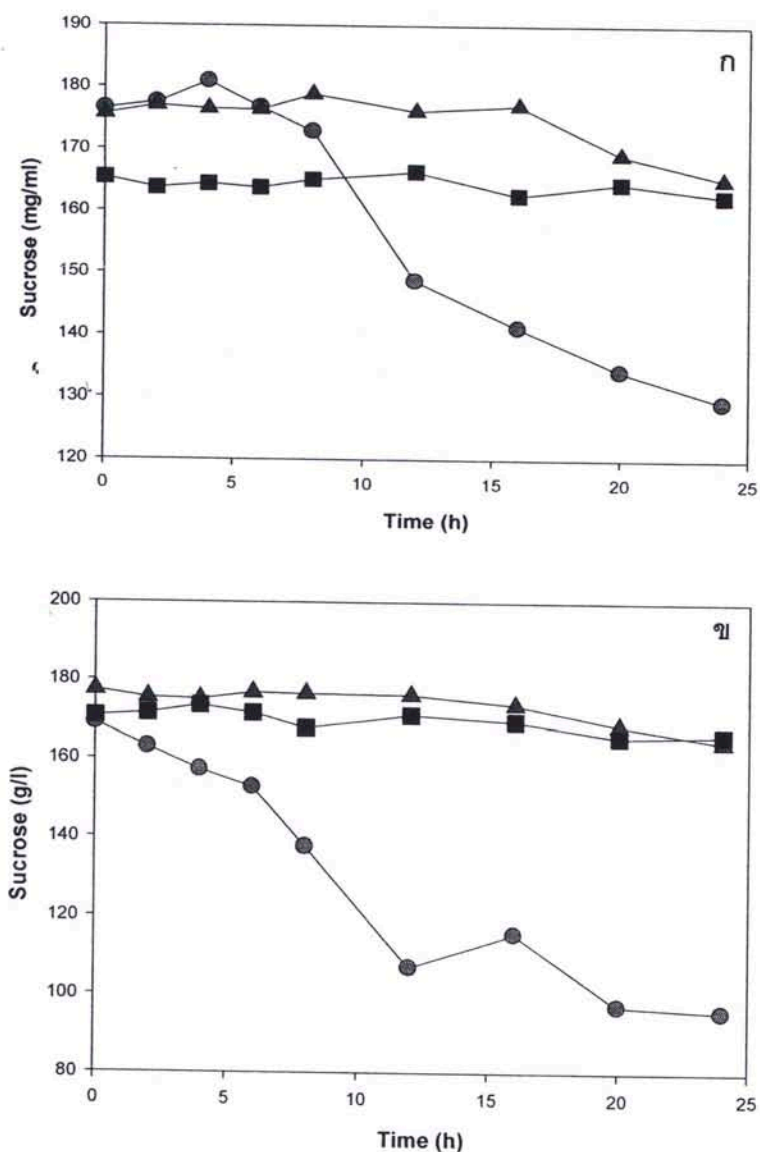
การศึกษาลดลงของสารชีวฆาตต่อปริมาณชูโครสของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm ปริมาณชูโครสลดลงอย่างรวดเร็ว (ภาพ 23ข) โดยในชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณชูโครสดั้งต้นประมาณ 169.00 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง ปริมาณชูโครสหลงเหลืออยู่ประมาณ 95.65 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการใช้ชูโครสเท่ากับ 3.06 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm มีการลดลงของปริมาณชูโครสเพียงเล็กน้อย โดยมีอัตราการใช้ชูโครสเท่ากับ 0.54 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm การเปลี่ยนแปลงปริมาณชูโครสเกิดขึ้นน้อยมากในระหว่างทำการเพาะเลี้ยงและมีอัตราการใช้ชูโครสเท่ากับ 0.19 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ภาพ 23ข)

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของสารชีวฆาตต่อปริมาณชูโครสของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบการสูญเสียชูโครสคล้ายคลึงกัน โดยมีการลดลงของปริมาณชูโครสอย่างเห็นได้ชัดที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm ในขณะที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 และ 10 ppm มีการลดลงของปริมาณชูโครสเพียงเล็กน้อยตลอดช่วงการเพาะเลี้ยง

การลดลงของปริมาณชูโครสจะสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีจะมีผลทำให้เกิดการสูญเสียชูโครสในปริมาณสูง เนื่องจากในอาหารที่มีชูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนจุลินทรีย์จะใช้ชูโครสดังกล่าวในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ นอกจากนี้เอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นยังใช้ชูโครสเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเด็กซ์แทรนอีกด้วย

ผลการทดลองที่ได้ชี้ให้เห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm เหมาะสมที่สุดสำหรับการลดการสูญเสียชูโครสเนื่องจาก *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 รองมาคือที่ 5 ppm เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 และ 10 ppm มีการลดลงของปริมาณชูโครสเพียงเล็กน้อย ขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีการ

ลดลงของปริมาณซูโครสมากที่สุด เนื่องจากจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถนำซูโครสไปใช้ในการเจริญเติบโตได้มาก เป็นผลทำให้เกิดการสูญเสียซูโครสในปริมาณสูง



ภาพ 23 ปริมาณซูโครสของ *Weissella cibaria* (ก) และ ของ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่ 0 (—●—) 5 (—▲—) และ 10 (—■—) ppm

ตาราง 11 อัตราการใช้ซูโครสของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่สารชีวมาตเข้มข้น 0 5 และ 10 ppm

Strain	อัตราการใช้ซูโครส (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)		
	0 ppm	5 ppm	10 ppm
<i>W. cibaria</i>	1.97±0.34 ^a	0.43±0.13 ^b	0.12±0.07 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR473	3.06±0.25 ^a	0.54±0.18 ^b	0.19±0.05 ^c

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. ผลของสารชีวมาตต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *W. Cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473

การศึกษาผลของสารชีวมาตต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้อากาศโดยการเขย่า (shaker) ที่ 200 รอบต่อนาที มีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 log₁₀cfu/ml ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 0 ppm ในชั่วโมงที่ 0 – 6 มีการผลิตเด็กซ์แทรนในปริมาณน้อยมากแต่หลังจากชั่วโมงที่ 8 จึงเริ่มมีการผลิตเด็กซ์แทรนในปริมาณมากขึ้นโดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (ภาพ 24ก) และในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณเด็กซ์แทรนสูงสุดเท่ากับ 81.45 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนเท่ากับ 3.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 5 ppm มีการเกิดเด็กซ์แทรนในปริมาณน้อยตลอดช่วงที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาณเด็กซ์แทรนสูงสุดเท่ากับ 4.55 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนเท่ากับ 0.19 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ในขณะที่ไม่พบการเกิดเด็กซ์แทรนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 10 ppm ตลอดระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 10 ppm นี้ไม่มีการสังเคราะห์เอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเกิดขึ้น จึงทำให้ไม่มีการผลิตเด็กซ์แทรนในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 10 ppm

การศึกษาผลของสารชีวมาตต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 0 ppm มีการเกิดเด็กซ์แทรนได้ดีที่สุด เมื่อทำการ

เพาะเลี้ยง 8 ชั่วโมง จึงเริ่มมีการเกิดเด็กซ์แทรนอย่างเห็นได้ชัดและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึง ชั่วโมงที่ 24 (ภาพ 24ข) มีปริมาณเด็กซ์แทรนสูงสุด เท่ากับ 86.15 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนเท่ากับ 3.59 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm มีการเกิดเด็กซ์แทรนในปริมาณน้อยมากตลอดช่วงการเพาะเลี้ยง โดยปริมาณเด็กซ์แทรนสูงสุดเท่ากับ 2.40 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนเท่ากับ 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่ไม่พบการเกิดเด็กซ์แทรนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm ตลอดระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของสารชีวฆาตต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะการเกิดเด็กซ์แทรนไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนสูงที่สุด การเกิดเด็กซ์แทรนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (ภาพ 24 ก, ข) ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm มีการเกิดเด็กซ์แทรนได้น้อยมากและไม่พบการเกิดเด็กซ์แทรนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm

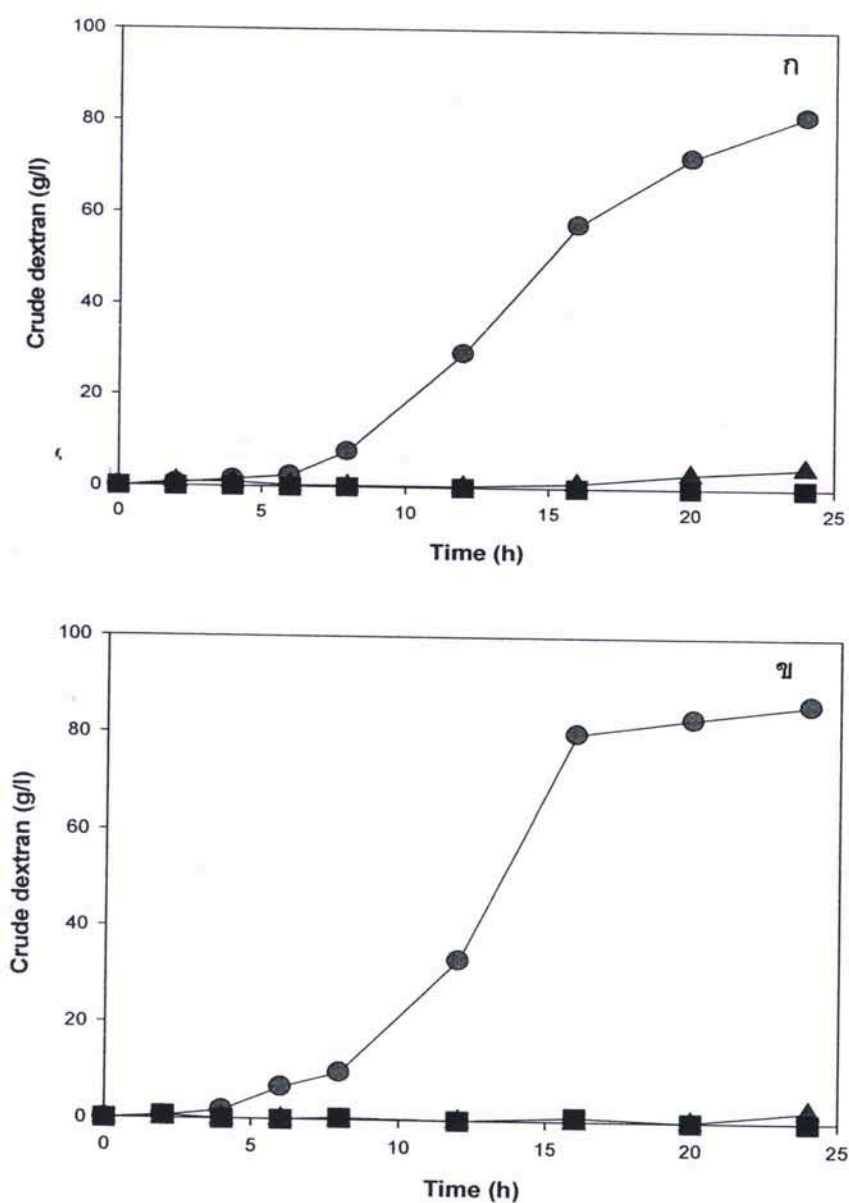
ผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่เหมาะสมสำหรับการยับยั้งการผลิตเด็กซ์แทรนสำหรับ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 ที่สุดคือที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm รองมาคือที่ 5 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีการผลิตเด็กซ์แทรนได้ดีที่สุด

ตาราง 12 อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่สารชีวฆาตความเข้มข้น 0 5 และ 10 ppm

Strain	อัตราการเกิดเด็กซ์แทรน (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)		
	0 ppm	5 ppm	10 ppm
<i>W. cibaria</i>	3.39±0.00 ^a	0.19±0.01 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>L. mesenteroides</i> TISTR473	3.59±0.00 ^a	0.10±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%





ภาพ 24 ปริมาณเด็กซ์แทรนของ *Weissella cibaria* (ก) และของ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่ความเข้มข้นของสารชีวमतที่ 0 (●) 5 (▲) และ 10 (■) ppm

5. ผลของสารชีวฆาตต่อปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR473

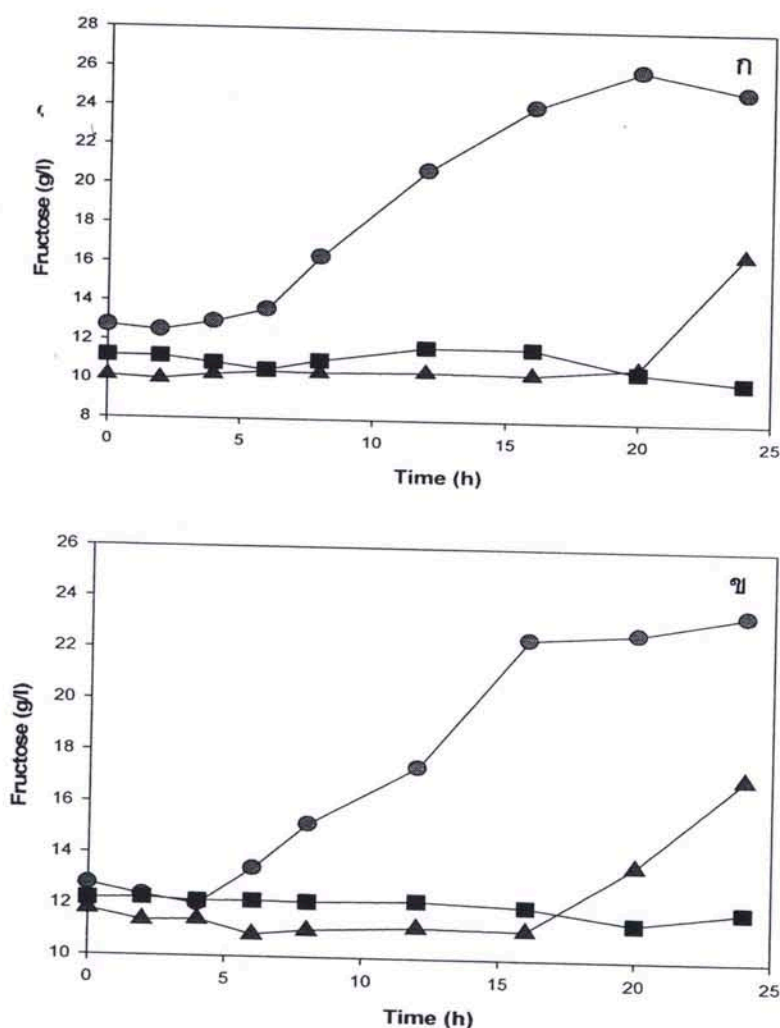
การศึกษาผลของสารชีวฆาตต่อปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมสารชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm ให้อากาศโดยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) มีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 log₁₀cfu/ml พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากทำการเพาะเลี้ยงได้ 6 ชั่วโมง โดยในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากปริมาณตั้งต้นประมาณ 12.20 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.51 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm ในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 – 20 ปริมาณฟรุกโตสมีการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยแต่หลังจากชั่วโมงที่ 20 จึงมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟรุกโตสอย่างเห็นได้ชัด (ภาพ 25ก) โดยมีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากปริมาณตั้งต้นเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงประมาณ 6.49 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.27 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm จะไม่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟรุกโตสตลอดการเพาะเลี้ยง

การศึกษาผลของสารชีวฆาตต่อปริมาณฟรุกโตสของ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีการเกิดฟรุกโตสสูงที่สุด โดยในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากปริมาณตั้งต้นประมาณ 10.69 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.45 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm ไม่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟรุกโตสในชั่วโมงที่ 0 – 16 แต่หลังจากชั่วโมงที่ 16 ไปแล้วจึงเริ่มมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟรุกโตสอย่างเห็นได้ชัด (ภาพ 25ข) โดยมีปริมาณฟรุกโตสเพิ่มขึ้นจากปริมาณตั้งต้นประมาณ 5.32 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเกิดฟรุกโตสเท่ากับ 0.22 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm จะไม่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟรุกโตสตลอดการเพาะเลี้ยง

จากการเปรียบเทียบผลของสารชีวฆาตต่อปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* กับ *L. mesenteroides* TISTR 473 พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบการเพิ่มปริมาณฟรุกโตสคล้ายคลึงกัน โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีการเกิดฟรุกโตสสูงที่สุด ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm มีการเกิดฟรุกโตสเพียงเล็กน้อยและพบว่าไม่มีการเกิดฟรุกโตสที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเกิดฟรุกโตส พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 5 และ 10 ppm *W. cibaria* มีอัตราการเกิดฟรุกโตส เท่ากับ 0.51 ± 0.04 0.27 ± 0.07 และ 0.00 ± 0.02 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *L. mesenteroides*

TISTR 473 มีอัตราการเกิดฟรุกโตสที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0.5 และ 10 ppm เท่ากับ 0.45 ± 0.03 0.22 ± 0.03 และ 0.00 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ (ตาราง 13)

ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm เหมาะสมต่อการยับยั้งการเกิดฟรุกโตสสำหรับ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 มากที่สุดโดยไม่พบการเกิดฟรุกโตสตลอดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือ 5 ppm มีการเกิดฟรุกโตสได้เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีการเกิดฟรุกโตสได้ในปริมาณสูง



ภาพ 25 ปริมาณฟรุกโตสของ *Weissella cibaria* (ก) และ ของ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 (ข) ในน้ำอ้อย (pH 5.0-5.5) ที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่ 0 (●) 5 (▲) และ 10 (■) ppm

ตาราง 13 อัตราการเกิดฟรุกโตสของ *Weissella cibaria* และ *Leucunostoc mesenteroides* TISTR473 ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่สารชีวมาตความเข้มข้น 0 5 และ 10 ppm

Strain	อัตราการเกิดฟรุกโตส (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)		
	0 ppm	5 ppm	10 ppm
<i>W. cibaria</i>	0.51±0.04 ^a	0.27±0.07 ^b	0.00±0.02 ^d
<i>L. mesenteroides</i> TISTR 473	0.45±0.03 ^a	0.22±0.03 ^b	0.00±0.01 ^d

หมายเหตุ: ลักษณะตัวพิมพ์เล็กที่ในแนวนอนต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของสารชีวมาตที่ 10 ppm มีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการลดการสูญเสียโครสเนื่องจาก *W. cibaria* ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาตที่ 10 ppm สามารถยับยั้งการเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสได้ดีที่สุด ส่งผลทำให้มีการสูญเสียโครสในปริมาณต่ำ รองมาคือที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 5 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 0 ppm *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดี มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูง ส่งผลทำให้มีอัตราการใช้โครสที่สูง และ มีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสในปริมาณ จึงมีผลทำให้ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวมาต 0 ppm เกิดการสูญเสียโครสในปริมาณสูงที่สุด

ผลของอุณหภูมิและสารชีวมาตต่อการเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณซูโครส และปริมาณเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส ในน้ำอ้อยของ *Weissella cibaria*

ผลการทดลองจากตอนที่ 1 และ 2 แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและสารชีวมาตต่างมีผลต่อการเจริญ ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณซูโครส ปริมาณเด็กซ์แทรนและปริมาณฟรุกโตส ของ *W. cibaria* เมื่อเลี้ยงในน้ำอ้อย แต่ข้อมูลดังกล่าวไม่สามารถบอกได้ว่าปัจจัยทั้งสองมีผลร่วมกันหรือไม่ อย่างไร ดังนั้นเพื่อให้ทราบถึงอิทธิพลของทั้งสองปัจจัยต่อดัวแปรที่ทำการศึกษา (การเจริญ ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณซูโครส ปริมาณเด็กซ์

แทรนและปริมาณฟรุกโตส) จึงได้วางแผนการทดลองแบบ factorial design โดยมีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ 3 ระดับ (20 30 และ 40 องศาเซลเซียส) และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 3 ระดับ (0 5 และ 10 ppm)

1. ผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อการเติบโตของ *Weissella cibaria*

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อการเติบโตของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm โดยทำการเพาะเลี้ยงในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ให้อากาศด้วยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) ปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 $\log_{10}$ cfu/ml ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm โดยมีปริมาณเชื้อสูงสุดเท่ากับ 9.23 และ 8.68 $\log_{10}$ cfu/ml ตามลำดับ (ตาราง 14) และเจริญเติบโตได้น้อยลงเมื่ออุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm ในชั่วโมงที่ 0 – 6 ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในชั่วโมงที่ 8 ที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มคงที่เข้าสู่ช่วง stationary phase ในขณะที่ 40 องศาเซลเซียส เชื้อมีการลดปริมาณลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้

เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm ในชั่วโมงที่ 0 – 8 ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณจุลินทรีย์มีการลดลงเพียงเล็กน้อยหรือค่อนข้างคงที่ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการที่สารชีวฆาตไปทำการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยการปลดปล่อยกลุ่ม formaldehyde จาก Hexamethylenetetramine ในตัวกลางที่เป็นกรด (acid medium) โดย formaldehyde จะทำปฏิกิริยากับโปรตีนในเซลล์จุลินทรีย์ด้วยการทำให้โปรตีนตกตะกอน ทำให้จุลินทรีย์มีช่วงระยะเวลาการปรับตัวนานขึ้น (lag phase) และหลังจากชั่วโมงที่ 8 จุลินทรีย์จึงเริ่มเพิ่มปริมาณมากขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เหลือรอดมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่รุนแรงเพื่อให้สามารถเติบโตและเพิ่มปริมาณในสภาพแวดล้อมดังกล่าวได้

ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm ที่ทุกอุณหภูมิจุลินทรีย์มีปริมาณลดลงในช่วงแรก จากนั้นจึงเริ่มมีการเพิ่มปริมาณมากขึ้น ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการที่จุลินทรีย์บางส่วนถูกยับยั้งด้วยสารชีวฆาตในขณะที่จุลินทรีย์ส่วนที่เหลือรอดมีความสามารถในการทนต่อสารชีวฆาตได้และสามารถซ่อมแซมตัวเองจากการบาดเจ็บและเพิ่มจำนวนขึ้น

อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ระดับความเข้มข้นของสารชีว
 ฆาตที่ 5 และ 10 ppm สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้มากกว่าที่ 0 ppm และที่ 40 องศาเซลเซียส
 ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่ 5 และ 10 ppm สามารถควบคุมการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ได้
 โดยในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณจุลินทรีย์ไม่แตกต่างจากปริมาณเชื้อตั้งต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($p < 0.05$)

ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิเดียวกันการเจริญของ *W. cibaria* ลดลง
 เมื่อระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ 40 องศาเซลเซียสที่พบการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อ
 ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเท่ากันการเจริญ
 ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ 10 ppm *W. cibaria* มีปริมาณการเจริญที่ใกล้เคียงกัน ดัง
 แสดงในตาราง 14

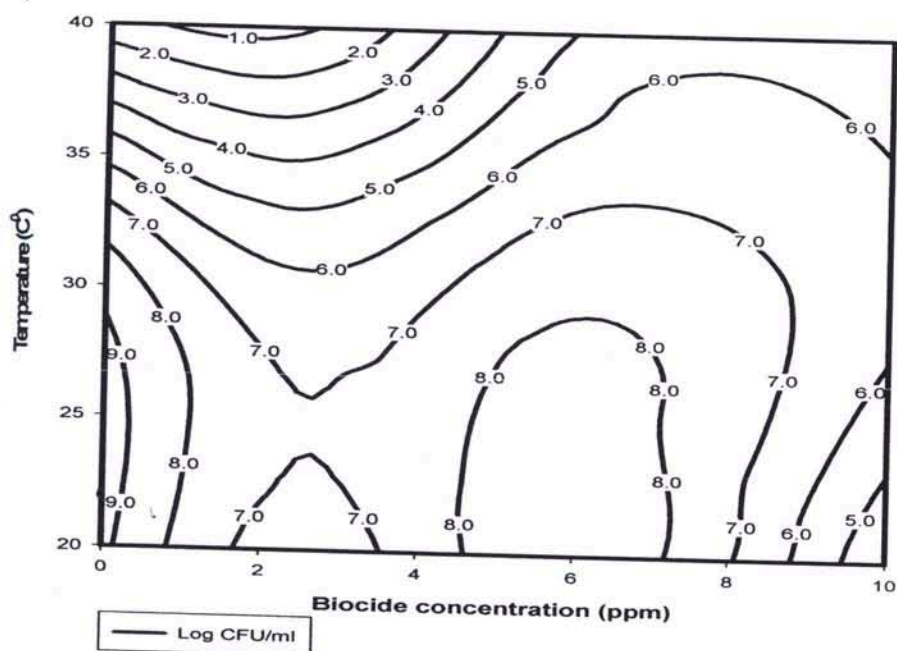
แผนภาพคอนทัวร์ (Contour plot) (ภาพ 26) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญ
 ของ *W. cibaria* ในน้ำอ้อยที่อุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่างๆ พบว่า
W. cibaria สามารถเจริญได้น้อยลงเมื่ออุณหภูมิและความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น จาก
 แผนภาพชี้ให้เห็นว่าสภาวะที่ *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้สูงสุด คือที่อุณหภูมิ 20 องศา
 เซลเซียสและความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm รองลงมาคือที่ 30 องศาเซลเซียสและความ
 เข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm ส่วนที่ 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm *W.*
cibaria สามารถเจริญได้น้อยที่สุด

ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้ *W. cibaria* เจริญได้น้อยลง เช่น
 เดียวกับการที่มีความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้นมีผลทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้น้อยลง
 เช่นกัน จากการหาปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างอุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีว
 ฆาตต่อการเจริญเติบโตของ *W. cibaria* พบว่าทั้งอุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตมี
 อิทธิพลร่วมต่อการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงว่าอุณหภูมิและระดับ
 ความเข้มข้นของสารชีวฆาตมีผลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของ *W. cibaria*

ตาราง 14 ผลของอุณหภูมิและสารชีวมาตต่อการเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ปริมาณซูโครส และปริมาณเด็กซ์แทรนและฟรุคโตสในน้ำอ้อยของ *Weissella cibaria*

Temp. (°C)	Biocide conc. (ppm)	Growth Log (CFU/ml)	Enzyme activity (DSU/ml)	Sucrose (N/N ₀)	Dextran (%)	Fructose (N/N ₀)
20	0	9.23±0.01 ^a	2.89±0.14 ^a	0.43±0.01 ^c	6.44±0.57 ^b	6.53±0.34 ^a
	5	8.34±0.34 ^{ab}	0.40±0.02 ^c	0.97±0.01 ^a	0.23±0.03 ^c	1.27±0.12 ^c
	10	4.14±0.18 ^f	0.00±0.03 ^f	0.99±0.00 ^a	0.00±0.03 ^d	0.97±0.04 ^c
30	0	8.68±0.11 ^a	0.77±0.08 ^b	0.70±0.16 ^b	8.15±0.98 ^a	1.99±0.28 ^b
	5	7.48±0.54 ^{bc}	0.23±0.01 ^d	0.94±0.02 ^a	0.46±0.02 ^c	1.64±0.19 ^{bc}
	10	6.28±0.14 ^{de}	0.00±0.03 ^f	0.98±0.01 ^a	0.00±0.21 ^d	0.90±0.03 ^c
40	0	1.39±0.12 ^g	0.12±0.01 ^{d^e}	0.99±0.00 ^a	0.11±0.05 ^c	1.20±0.00 ^c
	5	4.02±0.07 ^f	0.02±0.00 ^e	0.99±0.01 ^a	0.07±0.04 ^c	1.06±0.02 ^c
	10	5.33±1.59 ^e	0.00±0.00 ^f	1.01±0.02 ^a	0.00±0.36 ^d	1.03±0.00 ^c

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กในแนวดังที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ 26 แผนภาพการตอบสนอง (Contour plot) ระหว่างการเจริญเติบโตของ *Weissella cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ต่ออุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่างๆ

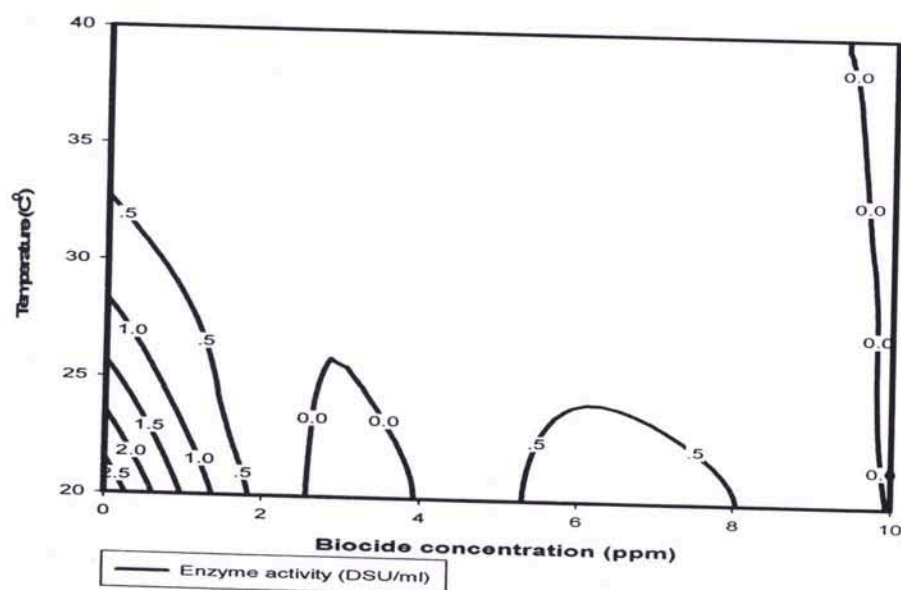
2. ผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *Weissella cibaria*

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* โดยทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ให้อากาศด้วยการเขย่า (shaker) ที่ 200 รอบต่อนาที มีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 $\log_{10}$ cfu/ml ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm พบว่า จากตาราง 14 จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิเดียวกันระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* ลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ 40 องศาเซลเซียส พบกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* ในระดับต่ำมากที่สุดที่ทุกระดับความเข้มข้น และไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่ความเข้มข้น 10 ppm ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเดียวกัน พบระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และที่ 10 ppm ไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* ในทุกอุณหภูมิ

ภาพ 27 ชี้ให้เห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นสารชีวฆาต 10 ppm ในทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลองสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* ได้ ในขณะที่สภาวะที่ *W. cibaria* มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุด คือ 20 องศาเซลเซียสและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm

จากการหาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* พบว่าอุณหภูมิและสารชีวฆาตมีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm จะไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสตลอดช่วงที่ทำการเพาะเลี้ยง

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส พบว่าการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ($p < 0.05$) แสดงว่าเมื่อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นย่อมมีผลทำให้ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงขึ้นด้วย ในทางตรงกันข้ามหากจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตน้อยลงย่อมมีผลทำให้ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสลดต่ำด้วยเช่นกัน



ภาพ 27 แผนภาพการตอบสนอง (Contour plot) ระหว่างระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์ซูเครสของ *Weissella cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ต่ออุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่างๆ

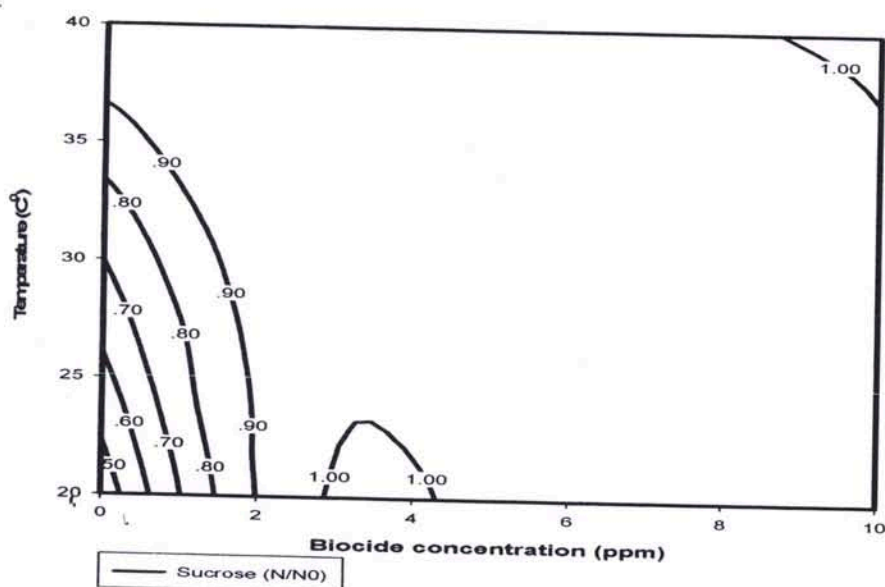
3. ผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อปริมาณจุลินทรีย์ของ *Weissella cibaria*

ทำการเพาะเลี้ยง *W. cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) มีปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ $5.0 - 6.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ให้อากาศด้วยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อปริมาณจุลินทรีย์ พบว่า เมื่อ *W. cibaria* เจริญเติบโตโดยใช้จุลินทรีย์ในน้ำอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้เป็นข้อบ่งชี้ในการสร้างเด็กซ์แทรนส่งผลทำให้จุลินทรีย์ในน้ำอ้อยมีปริมาณลดลง จากตาราง 14 จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิเดียวกันสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น แสดงว่ามีการสูญเสียจุลินทรีย์ในปริมาณต่ำลงเมื่อความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น ยกเว้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ที่ทุกระดับความเข้มข้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเดียวกัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm มีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 และ 10 ppm มีสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่ทุกอุณหภูมิ

ภาพ 28 แสดงให้เห็นถึงผลของอุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่อสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้น พบว่า สภาวะที่มีผลทำให้เกิดการสูญเสียจุลินทรีย์เนื่องจาก *W. cibaria* มากที่สุด คือที่ 20 องศาเซลเซียสและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm รองลงมาคือที่ 30 องศาเซลเซียสและความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm ส่วนสภาวะที่มีการสูญเสียจุลินทรีย์ในปริมาณต่ำ คือที่ 40 องศาเซลเซียสและความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm และสภาวะที่มีการเติมสารชีวฆาตที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 ppm ในทุกอุณหภูมิ

จากการหาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างอุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่อสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นของ *W. cibaria* พบว่าอุณหภูมิและระดับความเข้มข้นสารชีวฆาตมีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงว่าอุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตมีผลร่วมกันต่อสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นของ *W. cibaria*

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของ *W. cibaria* และสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นพบว่า การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และสัดส่วนปริมาณจุลินทรีย์ต่อปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นในน้ำอ้อย มีความสัมพันธ์กันในเชิงลบ ($\text{sig} < 0.01$) นั่นคือ เมื่อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นส่งผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำอ้อยลดลง ดังแสดงในตาราง 14



ภาพ 28 แผนภาพการตอบสนอง (Contour plot) ระหว่างสัดส่วนปริมาณซูโครสต่อปริมาณซูโครสดั้งต้นของ *Weissella cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ต่ออุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่างๆ

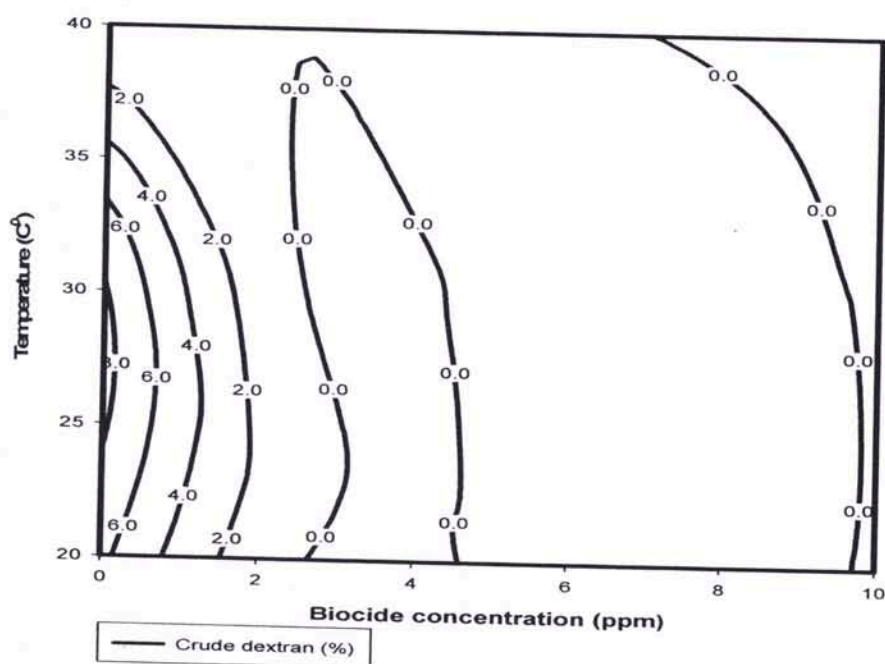
4. ผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *Weissella cibaria*

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตปริมาณเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm โดยทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ให้อากาศด้วยการเขย่า (200 รอบต่อนาที) ปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 $\log_{10}$ cfu/ml ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ที่อุณหภูมิเดียวกัน *W. cibaria* สามารถผลิตเด็กซ์แทรนได้น้อยลงเมื่อความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น (ตาราง 14) ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเดียวกัน *W. cibaria* สามารถผลิตเด็กซ์แทรนได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส และผลิตได้น้อยมากที่ 40 องศาเซลเซียส ยกเว้นที่ 10 ppm ไม่พบการผลิตเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* ในทุกอุณหภูมิ

ภาพ 29 ชี้ให้เห็นว่า สภาวะการเพาะเลี้ยงที่ *W. cibaria* มีการผลิตเด็กซ์แทรนในปริมาณสูง คือที่อุณหภูมิ 20-และ30 องศาเซลเซียส และระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm ผลิตได้น้อยที่ 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm รวมถึงที่ระดับความเข้มข้น

สารชีวฆาต 5 ppm ที่ทุกอุณหภูมิ ส่วนที่ความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm ในทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลองสามารถยับยั้งการผลิตเด็กซ์แทรนได้

โดยการผลิตเด็กซ์แทรนจะขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการสังเคราะห์เอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการผลิตเด็กซ์แทรน พบว่า การเจริญเติบโตและการผลิตเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ($p < 0.01$) แสดงว่าเมื่อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดีย่อมมีผลทำให้เกิดการผลิตเด็กซ์แทรนได้ในปริมาณสูง จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสและการผลิตเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* พบว่า การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสและการผลิตเด็กซ์แทรน มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ($p < 0.01$) แสดงว่าเมื่อมีการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสในปริมาณสูงย่อมส่งผลทำให้เกิดการผลิตเด็กซ์แทรนได้ในปริมาณสูงเช่นกัน จากการหาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อการผลิตเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* พบว่าอุณหภูมิและสารชีวฆาตมีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงว่าอุณหภูมิและสารชีวฆาตมีผลร่วมกันต่อปริมาณเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria*



ภาพ 29 แผนภาพการตอบสนอง (Contour plot) ระหว่างปริมาณเด็กซ์แทรนของ *Weissella cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ต่ออุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่างๆ

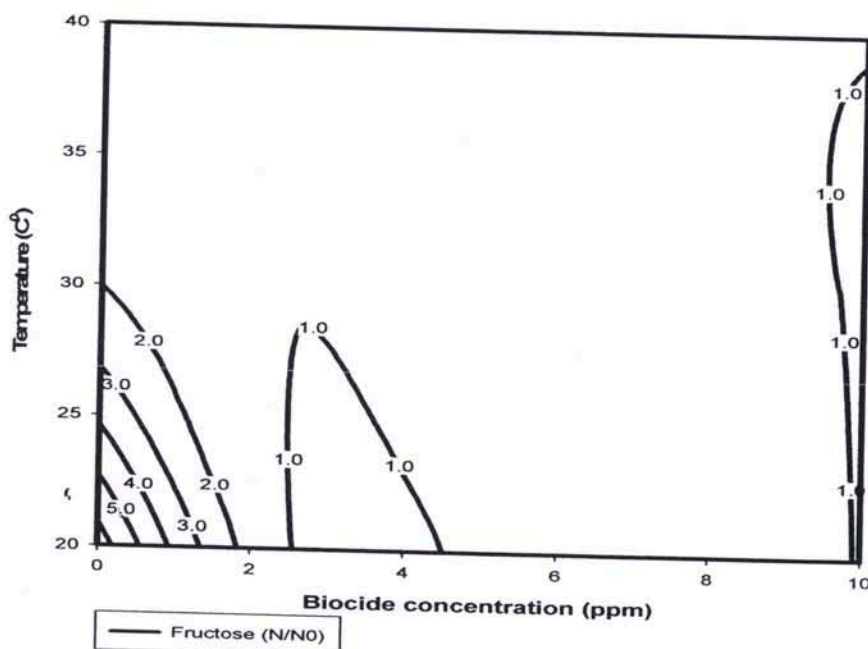
5. ผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตปริมาณฟรุกโตสของ *Weissella cibaria*

ทำการเพาะเลี้ยง *W. cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ให้อากาศด้วยการเขย่า (ที่ 200 รอบต่อนาที) ปริมาณเชื้อตั้งต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 5.0 – 6.0 log₁₀cfu/ml ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 3 ระดับ คือ 0 5 และ 10 ppm เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อปริมาณฟรุกโตส พบว่า จากตาราง 14 จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิเดียวกันสัดส่วนปริมาณฟรุกโตสต่อปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นน้อยลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้น ยกเว้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีสัดส่วนปริมาณฟรุกโตสต่อปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของสาร ชีวฆาต 0 ppm สัดส่วนปริมาณฟรุกโตสต่อปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 และ 10 ppm มีสัดส่วนปริมาณฟรุกโตสต่อปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ในทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลอง

ดังภาพ 30 แสดงให้เห็นว่า สภาวะที่ *W. cibaria* มีสัดส่วนปริมาณฟรุกโตสต่อปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นสูงที่สุด คือที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm รองลงมาคือที่ 30 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm ส่วนที่ระดับความเข้มข้นสารชีวฆาต 10 ppm ในทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลองสามารถยับยั้งการเกิดฟรุกโตสของ *W. cibaria* ได้

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และปริมาณฟรุกโตส พบว่า การเจริญเติบโตและปริมาณฟรุกโตส ของ *W. cibaria* มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ($\text{sig} < 0.05$) แสดงว่าเมื่อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดีย่อมมีผลทำให้มีการเกิดฟรุกโตสได้ในปริมาณสูงและจากการหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับกิจกรรมเอนไซม์เดกซ์แทรนซูเครสและปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria* พบว่า ระดับกิจกรรมเอนไซม์เดกซ์แทรนซูเครสและปริมาณฟรุกโตส มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ($\text{sig} < 0.01$) แสดงว่าเมื่อมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เดกซ์แทรน ซูเครสในปริมาณสูงย่อมส่งผลทำให้มีการเกิดฟรุกโตสในปริมาณสูง

จากการหาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่อการเกิดฟรุกโตสของ *W. cibaria* พบว่าอุณหภูมิและสารชีวฆาตมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงว่าอุณหภูมิและสารชีวฆาตมีผลร่วมกันต่อปริมาณฟรุกโตสของ *W. cibaria*



ภาพ 30 แผนภาพการตอบสนอง (Contour plot) สัดส่วนปริมาณฟรุกโตสต่อปริมาณฟรุกโตสตั้งต้นของ *Weissella cibaria* ในน้ำอ้อย (pH 5.0 – 5.5) ที่อุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตต่างๆ

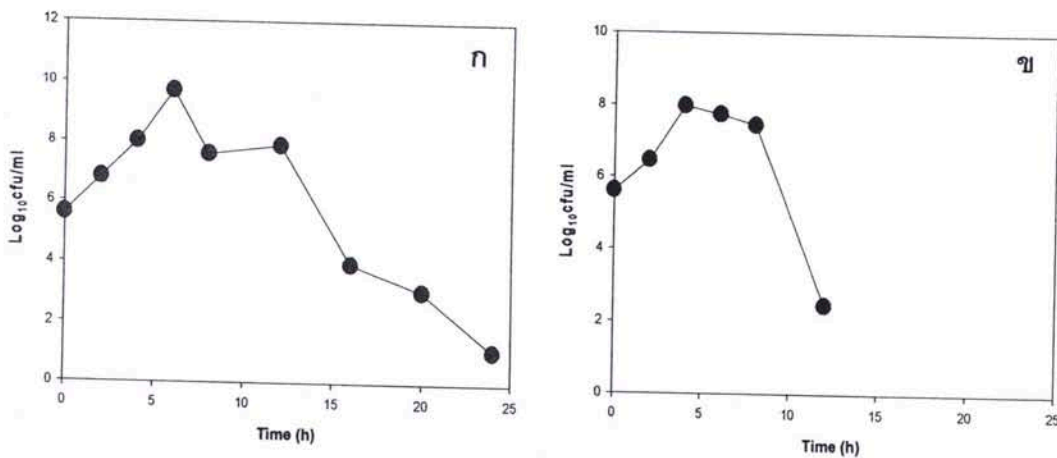
การศึกษาในขั้นตอนต่อไปเป็นการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการเจริญเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การใช้ซูโครส การผลิตเด็กซ์แทรนและการผลิตฟรุกโตสที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารชีวฆาต เพื่อให้สามารถทำนายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในน้ำอ้อยที่มีการปนเปื้อนของของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 และทำนายสภาวะของอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่เหมาะสมเพื่อลดการสูญเสียซูโครสเนื่องจากแบคทีเรียแลคติกที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาล แต่จากผลการทดลองที่ได้พบว่าระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่ใช้ในการทดลอง (5 และ 10 ppm) มีผลในการยับยั้งการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของแบคทีเรียทดสอบทั้งสองสายพันธุ์ได้เกือบสมบูรณ์ จึงไม่สามารถนำข้อมูลมาใช้ในการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ได้ ดังนั้นการทดลองในขั้นตอนต่อไปจึงทำการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการเจริญเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การใช้ซูโครส การผลิตเด็กซ์แทรนและการผลิตฟรุกโตสที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิเท่านั้น

การพัฒนาแบบจำลอง

1. แบบจำลองการเจริญเติบโตของเซลล์

การเติบโตของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ภาพ 31) แสดงให้เห็นว่าเมื่อถ่ายกล้ำเชื้อลงไปในน้ำอ้อย ระยะแรกจุลินทรีย์มีการเติบโตเมื่อผ่านไปช่วงระยะเวลาหนึ่งจุลินทรีย์ลดปริมาณลง ดังนั้นในการพัฒนาแบบจำลองของการเติบโตสำหรับการทดลองนี้ ได้กำหนดข้อสมมุติ (assumption) ไว้ว่า จุลินทรีย์ในระหว่างการเพาะเลี้ยง มีลักษณะทางสรีรวิทยา อยู่ 3 แบบ คือ (1) เซลล์ที่มีความทนต่อความร้อน (X_R : resistance cells) (2) เซลล์ที่มีความไวต่อความร้อน (X_S : sensitive cells) และ (3) เซลล์ที่ตายเนื่องจากความร้อน (X_D : death cells) โดยเมื่อเซลล์ที่มีความทนต่อความร้อนเติบโตและแบ่งเซลล์ จะได้เซลล์ใหม่ที่อยู่ในสถานะที่ไวต่อความร้อน ซึ่งเซลล์ที่ไวต่อความร้อนนี้สามารถเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ และขณะเดียวกันก็สามารถถูกทำลายโดยความร้อนได้

$$X_R \rightarrow X_S \rightarrow X_D \quad (13)$$



ภาพ 31 การเติบโตของ (ก) *W. cibaria* และ (ข) *L. mesenteroides* TISTR 473 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ดังนั้นแบบจำลองการเติบโตจึงจำเป็นต้องพิจารณาเทอมที่เกี่ยวข้องกับอัตราการตายด้วย สมการอัตราของการเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ที่ทนต่อความร้อน และเซลล์ที่ไวต่อความร้อนสามารถเขียนได้ดังนี้

$$\frac{dX_R}{dt} = -\mu \cdot X_R \tag{14}$$

โดยที่

$$\frac{dX_S}{dt} = \mu \cdot X_R - k_d \cdot X_S \tag{15}$$

เมื่อ

$$\mu = k \left(1 - \frac{X_R}{X_{Ras}}\right) \tag{16}$$

- X_S คือ ปริมาณของเซลล์ที่ไวต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)
- X_R คือ ปริมาณของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)
- k คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (h^{-1})
- μ คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (h^{-1})
- X_{Ras} คือ ปริมาณสูงสุดของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)
- k_d คือ ค่าคงที่ของอัตราการตาย (h^{-1})

แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ พิจารณาว่าปริมาณเซลล์ที่วัดได้อยู่ในรูปของ X_S เท่านั้น ส่วน X_R เป็นค่าที่ได้จากการประมาณค่าในโปรแกรมสำเร็จรูป Berkeley Madonna

2. แบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง พบว่า การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสไม่ได้ขึ้นอยู่กับอัตราการเติบโตของจุลินทรีย์โดยตรง แต่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิต โดยสังเกตได้จากการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสจะเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเซลล์สูงประมาณ $7.00 \log_{10}\text{cfu/ml}$ (ภาคผนวก ค) ดังนั้นจึงใช้สมการโลจิสติก (logistic equation) ในการอธิบายลักษณะการผลิตเอนไซม์ที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของเซลล์ที่ไวต่อความร้อน โดยพิจารณาว่าเฉพาะเซลล์ที่ไวต่อความร้อนเท่านั้น (X_S) ที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้

$$Q_E = Q_{E,max} \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{max}}\right) \tag{17}$$

$$\frac{dE}{dt} = Q_E \cdot X_S = Q_{E,max} \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{max}}\right) X_S \tag{18}$$

เมื่อ

X_S	คือ ปริมาณของเซลล์ที่ไวต่อความร้อน ($\log_{10}$ cfu/ml)
Q_E	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะ (DSU/ml/h)
$Q_{E,max}$	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุด (DSU/ml/h)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
E_{max}	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้สูงสุด (DSU/ml)

3. แบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรน

เด็กซ์แทรนเกิดจากการกระตุ้นปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสกับซูโครส โดยเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสจะทำหน้าที่ย้ายหมู่กลูโคซิล (Transglucosylation) จากโมเลกุลของน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นสารตั้งต้นเกิดเป็นเด็กซ์แทรนและปลดปล่อยส่วนของฟรุกโตสออกมา สำหรับแบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส สามารถเขียนในรูปสมการดังนี้ (Santos, et al., 2000)

$$\frac{dD}{dt} = \frac{M_G - M_W}{M_S} \cdot K_e \cdot E \cdot S \tag{19}$$

เมื่อ

D	คือ ความเข้มข้นของเด็กซ์แทรน (mg/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
M_G, M_S และ M_W	คือ มวลโมเลกุลของกลูโคส ซูโครส และน้ำ มีค่าเท่ากับ 180.16 342.3 และ 18 g/mol ตามลำดับ
K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU h)

4. แบบจำลองการผลิตฟรุกโตส

ฟรุกโตสเกิดจากการกระตุ้นปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสกับซูโครส โดยเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสจะทำหน้าที่ย้ายหมู่กลูโคซิล (Transglucosylation) จากโมเลกุลของน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นสารตั้งต้นเกิดเป็นเด็กซ์แทรนและปลดปล่อยส่วนของฟรุกโตสออกมา สำหรับ

แบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส สามารถเขียนในรูปสมการดังนี้ (Santos, et al., 2000)

$$\frac{dF}{dt} = \frac{M_F}{M_S} \cdot K_e \cdot E \cdot S \tag{20}$$

เมื่อ

F	คือ ความเข้มข้นของฟรุกโตส (mg/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
M_F และ M_S	คือมวลโมเลกุลของฟรุกโตส และซูโครส มีค่าเท่ากับ 180.16 และ 342.3 ตามลำดับ
K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU h)

5. แบบจำลองการใช้ซูโครส

ซูโครสถูกใช้ในการเติบโตของเซลล์ และการผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสซึ่งสามารถเขียนเป็นรูปสมการได้ดังนี้ (Santos, et al., 2000)

$$\frac{dS}{dt} = - \left(\frac{1}{Y_{XS}} \right) \cdot \frac{dX}{dt} - K_e \cdot E \cdot S \tag{21}$$

เมื่อ

$Y_{X/S}$	คือ ผลได้ของเซลล์จากซูโครส ($\log_{10}$ cfu/mg sucrose)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU/h)

การประมาณค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลอง

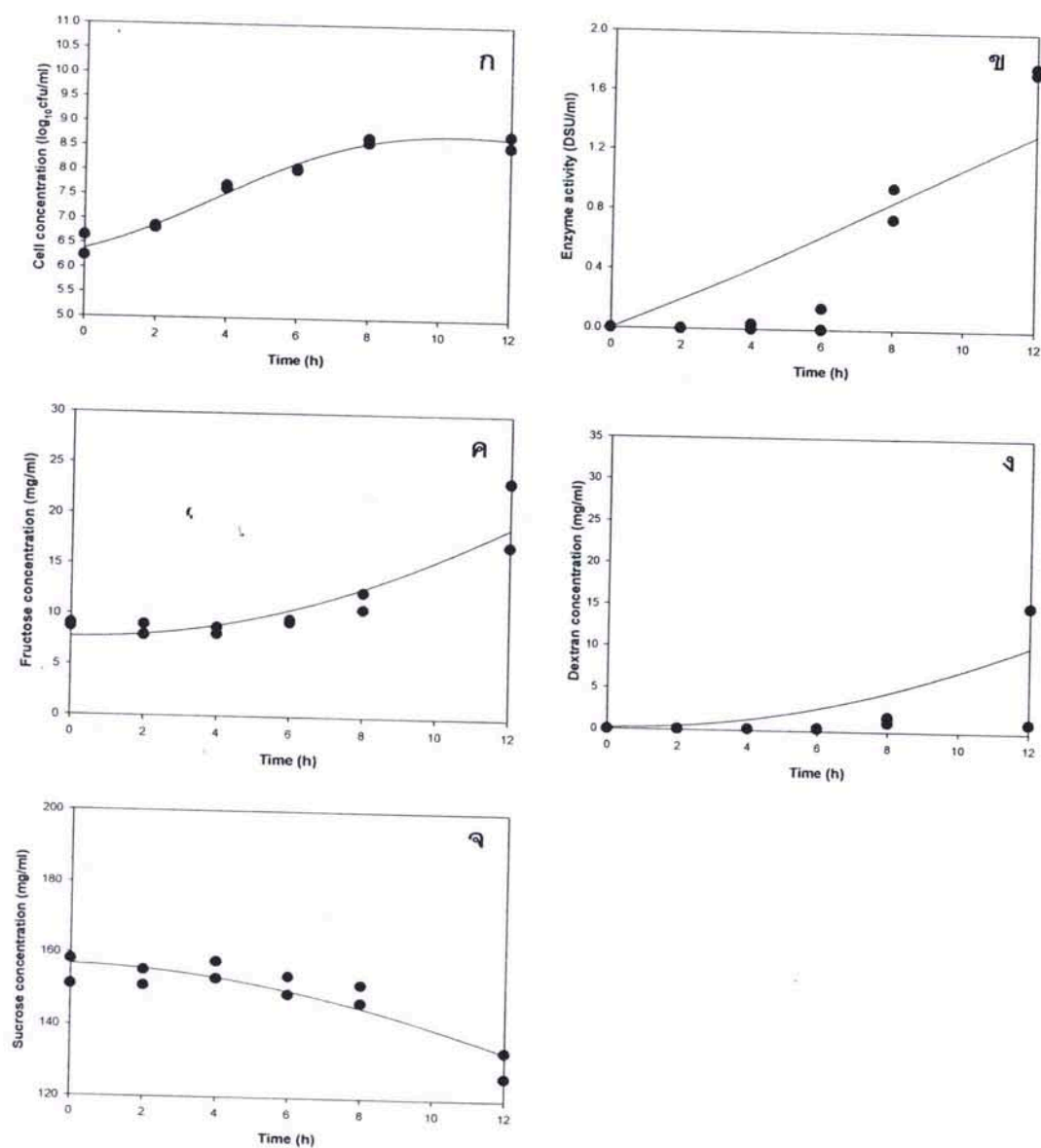
1. การประมาณค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองของ *Weissella cibaria*

ข้อมูลการเติบโตของจุลินทรีย์ การใช้ซูโครส การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูโครส เด็กซ์แทรนและฟรุกโตสที่ระดับอุณหภูมิ 20 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ถูกนำมาประมาณค่าพารามิเตอร์โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมระหว่างแบบจำลองและผลการทดลอง (Curve fitting) โดยโปรแกรม Berkeley Madonna จากการทำสมมูลมวล (ภาคผนวก ค) แสดงให้เห็นว่า ผลรวมของมวลทั้งหมดของซูโครส ฟรุกโตส กลูโคส และเด็กซ์แทรนที่ระยะเวลาต่างๆ มีความคลาดเคลื่อน ซึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นของเด็กซ์แทรนที่วัดได้มีค่ามากกว่าความเป็นจริง

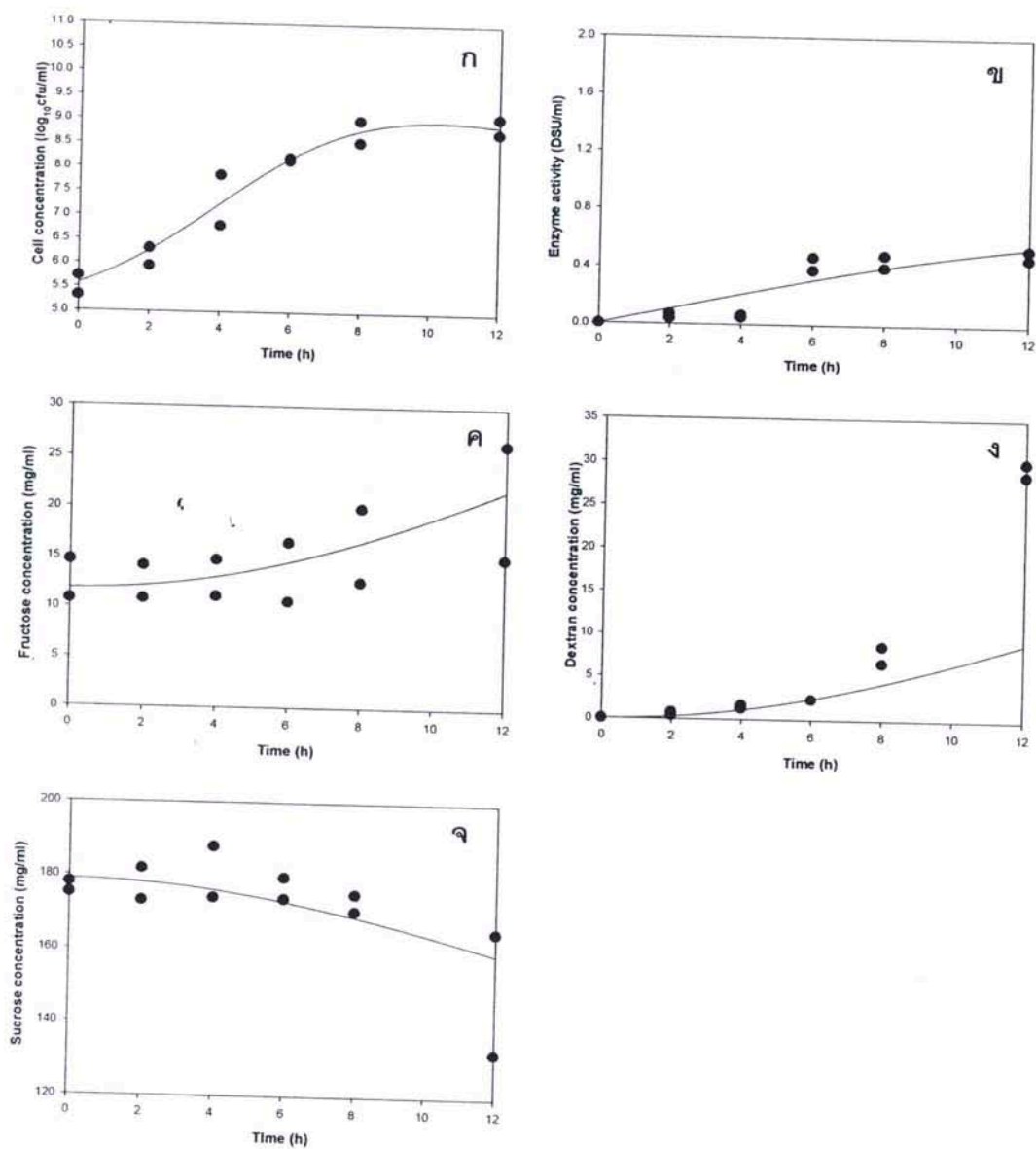
เนื่องจากวิธีการที่ใช้วิเคราะห์มีความคลาดเคลื่อนสูง โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเด็กซ์แทรนในการศึกษานี้ใช้วิธีการตกตะกอนเด็กซ์แทรนจากในอาหารเหลวด้วยแอลกอฮอล์ 99.9 เปอร์เซ็นต์ (Shamala and Prasad, 1995) ซึ่งเป็นเพียงการหาปริมาณเด็กซ์แทรนเบื้องต้น ดังนั้นจึงได้ทำการเลือกข้อมูลที่มีสมมูลมวลทั้งหมดที่เบี่ยงเบนไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์จากเวลาเริ่มต้น และตัดข้อมูลให้มีจำนวนข้อมูลเท่ากันในทุกการทดลอง โดยในการศึกษานี้ได้นำข้อมูลตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 12 มาใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ ซึ่งได้ค่าพารามิเตอร์ที่การทดลองในแต่ละอุณหภูมิ ดังแสดงในตาราง 15 และภาพ 32, 33, 34 และ 35

ตาราง 15 ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการเติบโต การใช้ซูโครส การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส โดย *W. cibaria*

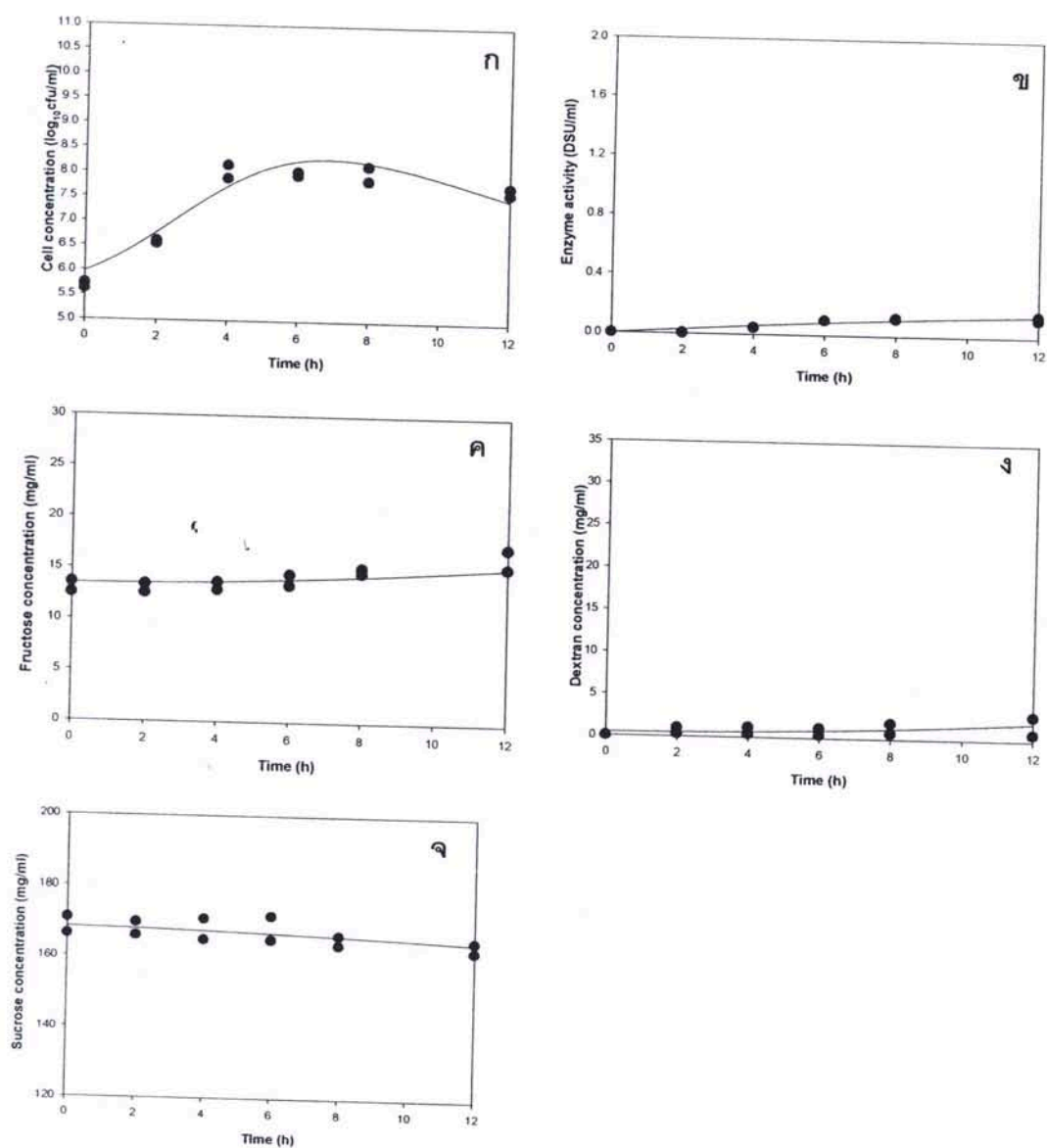
Parameter	Temperature (°C)			
	20	30	35	40
$k \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0.35	0.40	0.52	0.66
$X_{Ras} \text{ (log}_{10}\text{cfu/ml)}$	5.52	6.55	5.62	6.48
$k_d \text{ (h}^{-1}\text{)}$	1.86×10^{-2}	2.02×10^{-2}	3.19×10^{-2}	3.48×10^{-2}
$Q_{E,max} \text{ (DSU/ml/h)}$	1.49×10^{-2}	9.65×10^{-3}	2.43×10^{-3}	1.75×10^{-3}
$E_{max} \text{ (DSU/ml)}$	9.31	0.81	0.23	0.92
$Y_{X/S} \text{ (log}_{10}\text{cfu/mg sucrose)}$	1.11	4.56	5.51	9.63
$K_e \text{ (ml/DSU/h)}$	1.93×10^{-2}	3.16×10^{-2}	2.16×10^{-2}	1.76×10^{-2}
weighted of sum square error (WSSE)	1.15	1.51	0.71	0.83



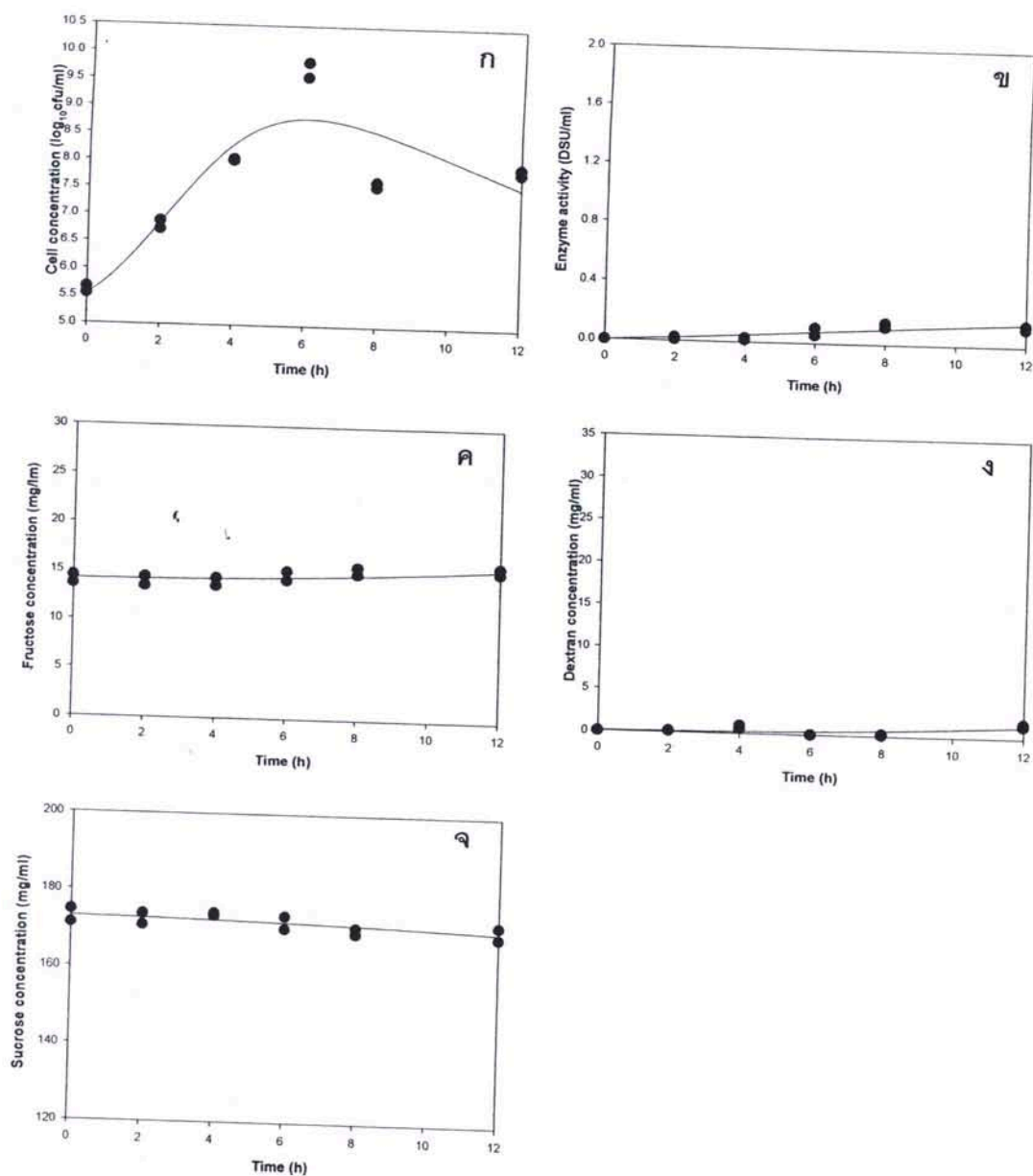
ภาพ 32 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส;
 (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุคโตส; (ง)
 การผลิตเดกซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส



ภาพ 33 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส;
 (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์ดีกซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุกโตส;
 (ง) การผลิตดีกซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส



ภาพ 34 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส;
 (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุคโตส;
 (ง) การผลิตเด็กซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส



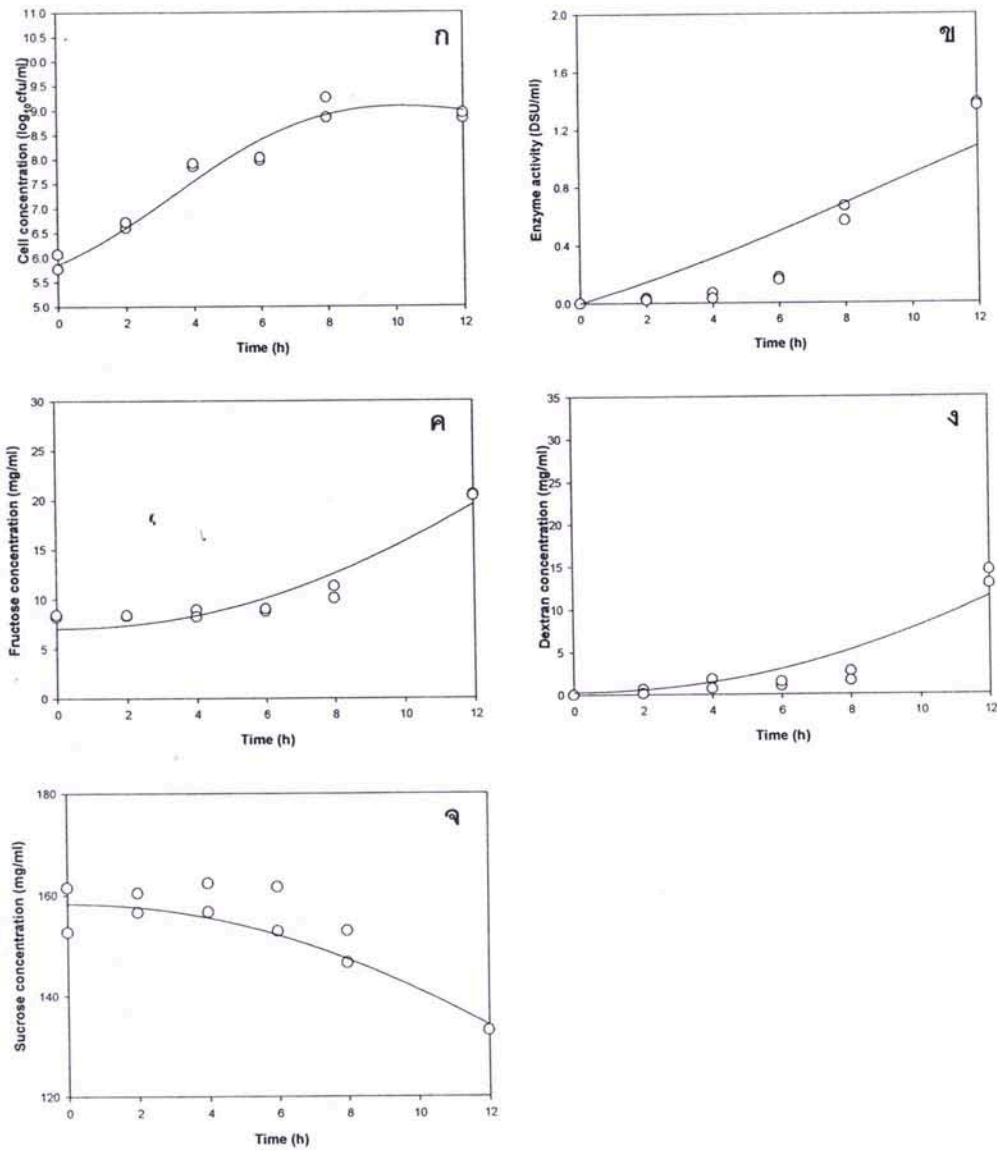
ภาพ 35 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส;
 (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุกโตส;
 (ง) การผลิตเด็กซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส

2 การประมาณค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองของ *L. mesenteroides* TISTR 473

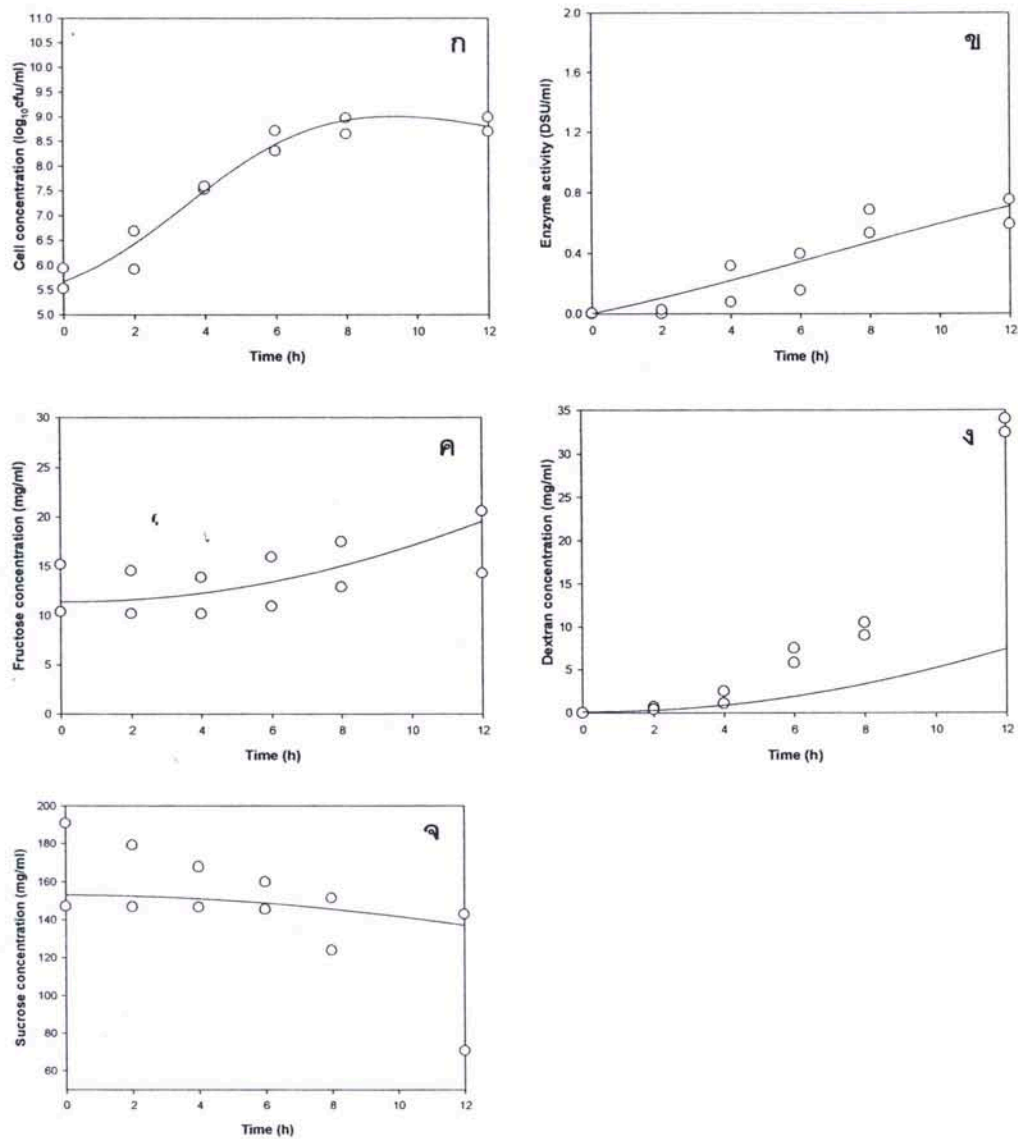
การประมาณค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองที่ระดับของอุณหภูมิ 20 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ของ *L. mesenteroides* TISTR473 โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสม (curve fitting) ระหว่างแบบจำลองและผลการทดลองจริงโดยโปรแกรม Berkeley Madonna โดยทำการคัดเลือกข้อมูลที่มีสมมูลมวลทั้งหมดเบี่ยงเบนไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ และตัดจำนวนข้อมูลให้เท่ากันในทุกการทดลอง โดยในการศึกษาครั้งนี้จึงนำข้อมูลตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 12 มาใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ และค่าพารามิเตอร์ที่ได้แสดงในตาราง 16 และภาพ 36, 37, 38 และ 39

ตาราง 16 ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการเติบโต การใช้ซูโครส การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส โดย *Leuconostoc mesenteroides* TISTR473

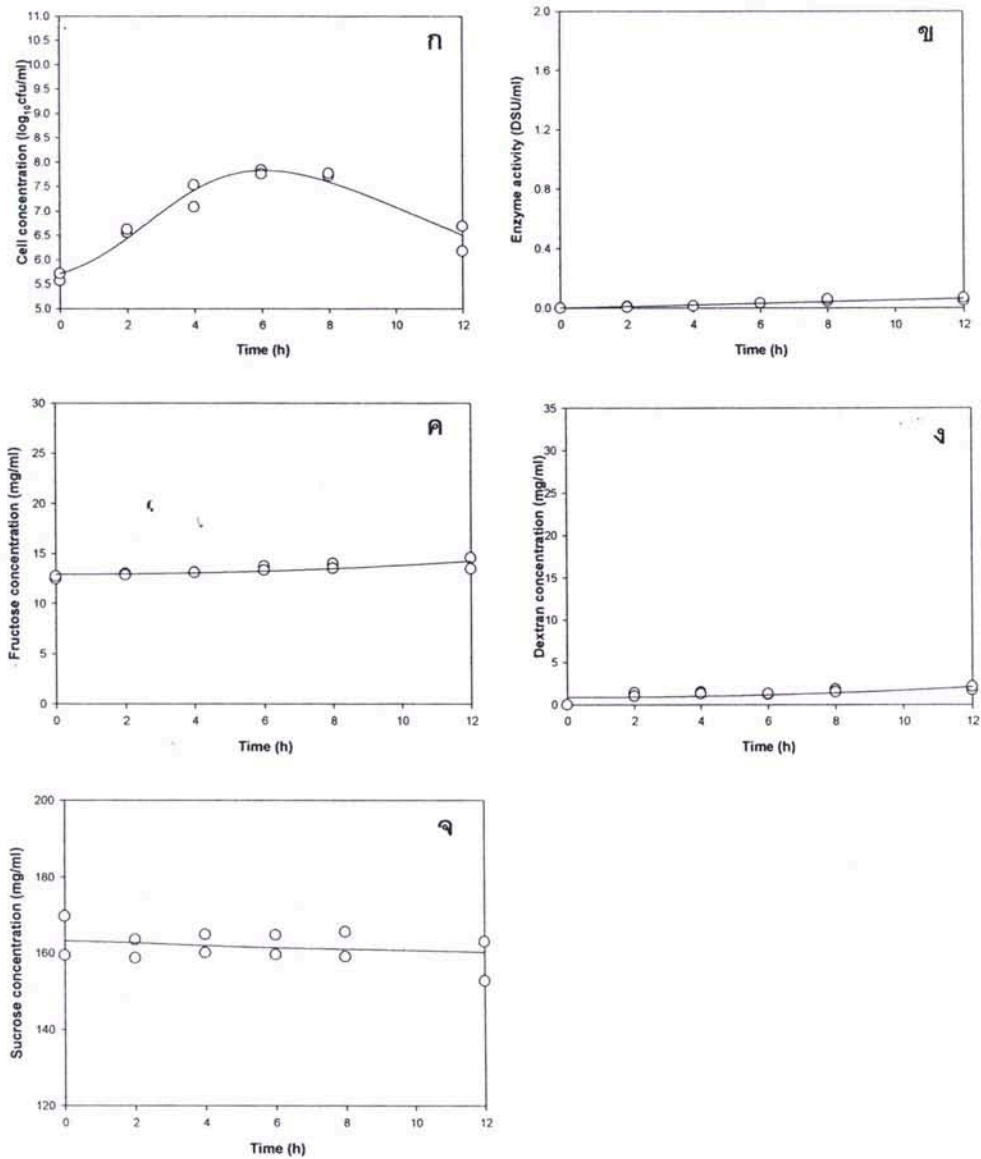
Parameter	Temperature (°C)			
	20	30	35	40
k (h ⁻¹)	0.37	0.43	0.59	0.87
X_{Ras} (log ₁₀ cfu/ml)	6.91	6.68	5.68	5.79
k_d (h ⁻¹)	2.14 x 10 ⁻²	2.37 x 10 ⁻²	4.61 x 10 ⁻²	9.47 x 10 ⁻²
$Q_{E,max}$ (DSU/ml/h)	1.19 x 10 ⁻²	8.99 x 10 ⁻³	7.36 x 10 ⁻⁴	3.55 x 10 ⁻¹⁰
E_{max} (DSU/ml)	9.89	2.19	4.60	3.08 x 10 ⁻⁸
$Y_{X/S}$ (log ₁₀ cfu/mg sucrose)	7.48	6.39	1.81	2.57
K_e (ml/DSU/h)	2.66 x 10 ⁻²	2.55 x 10 ⁻²	4.60 x 10 ⁻²	1.31 x 10 ⁻²
weighted of sum square error (WSSE)	0.55	1.95	0.73	7.37



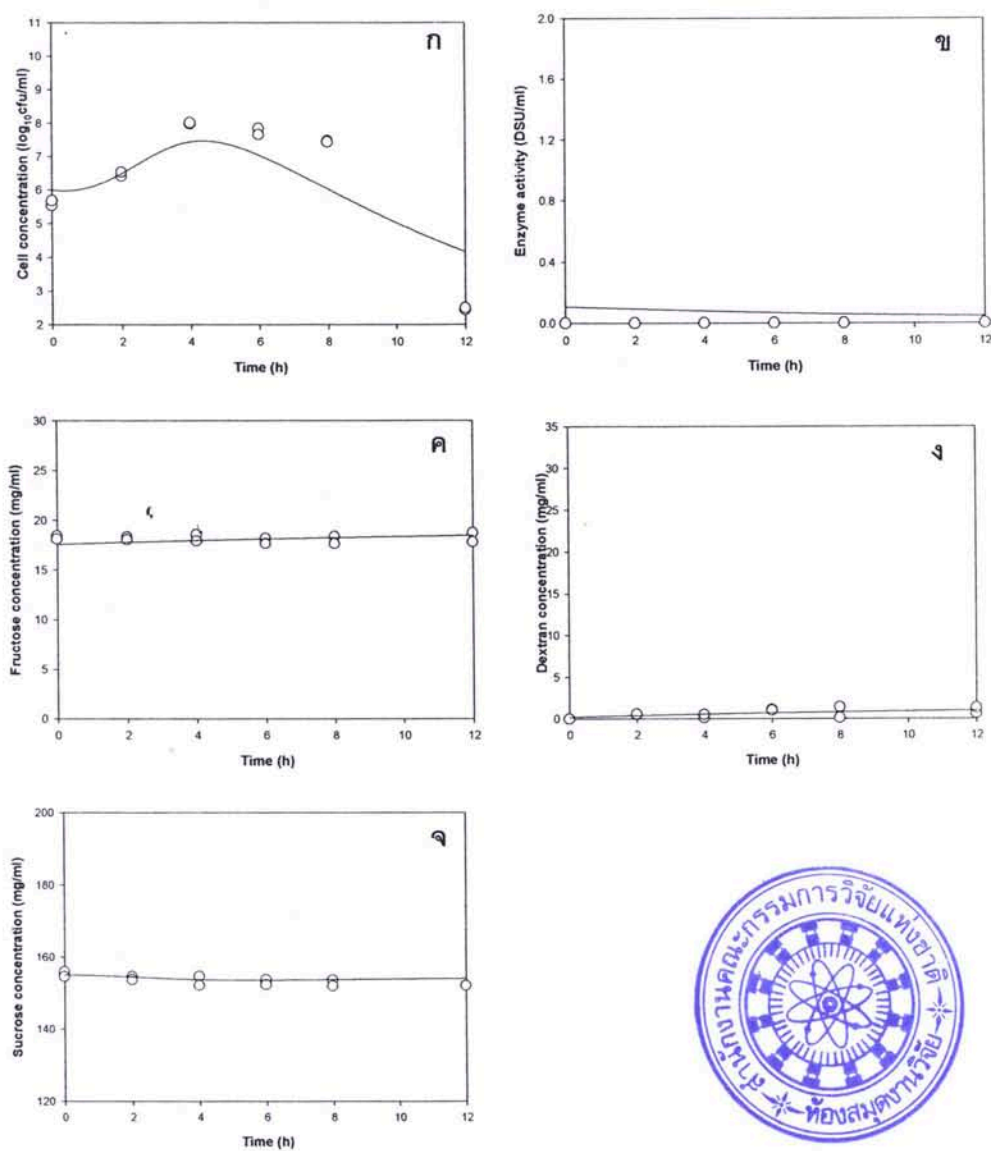
ภาพ 36 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *L. mesenteroides* TISTR473 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส; (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส, (ค) การผลิตฟรุคโตส; (ง) การผลิตเด็กซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส



ภาพ 37 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *L. mesenteroides* TISTR473 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส; (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุคโตส; (ง) การผลิตเดกซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส



ภาพ 38 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *L. mesenteroides* TISTR473 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส; (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุคโตส; (ง) การผลิตเด็กซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส



ภาพ 39 การเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของ *L. mesenteroides* TISTR473 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส; (ก) การเติบโต; (ข) การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุกโตส; (ง) การผลิตเดกซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส

การหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองกับอุณหภูมิ

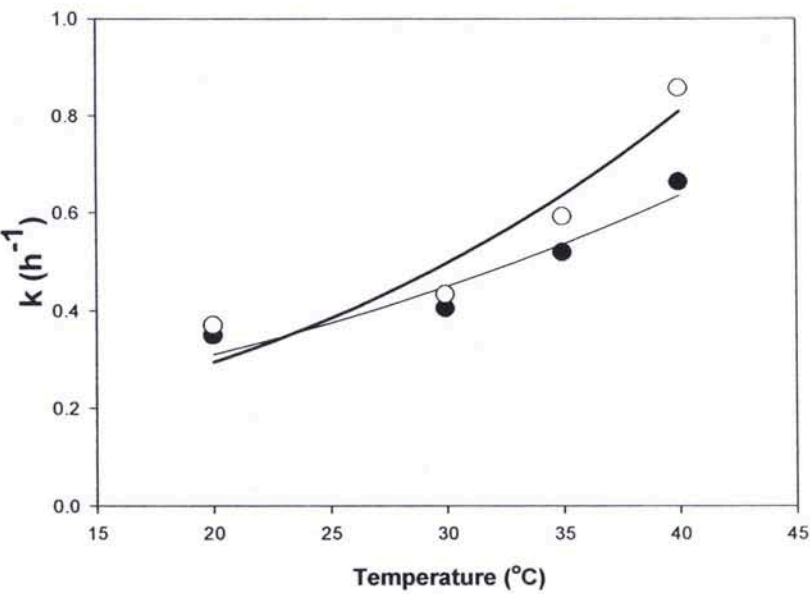
1. การหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (*k*) กับอุณหภูมิ

จากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมได้ค่าพารามิเตอร์ที่เป็นค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (*k*) ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ดังแสดงในภาพ 40 จะเห็นได้ว่าค่า *k* เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า *k* กับอุณหภูมิ โดยสมการของอาร์เรเนียส (Arrhenius equation) ดังนี้

$$k = k_0 \cdot e^{-E_a/RT_K} \tag{22}$$

เมื่อ

<i>k</i>	คือ อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (h ⁻¹)
<i>k</i> ₀	คือ Pre-exponential factor (h ⁻¹)
<i>E</i> _a	คือ Activation energyของปฏิกิริยา (kJ/mol)
<i>R</i>	คือ ค่าคงที่ของแก๊ส (8.314 J/K.mol)
<i>T</i> _K	คือ อุณหภูมิ (K)



ภาพ 40 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (*k*) กับอุณหภูมิของ *W. cibaria* (●) และ *L. mesenteroides* TISTR 473 (○)

จากภาพ 40 แสดงให้เห็นว่า *L. mesenteroides* TISTR473 มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (k) สูงกว่าของ *W. cibaria* เมื่อทำการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของค่า k และสมการของอาร์เรเนียสในโปรแกรม Berkeley Madonna จะได้ค่าคงที่ของสมการ ดังนี้

1. ค่าคงที่ของสมการสำหรับ *W. cibaria*

$$k_0 = 2.34 \times 10^4 \text{ h}^{-1}$$

$$E_a = 2.74 \times 10^4 \text{ kJ/mol}$$

ดังนั้นสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า k ของ *W. cibaria* สามารถเขียนได้ดังนี้

$$k = 2.34 \times 10^4 \cdot e^{-2.74 \times 10^4 / 8.314 \cdot (T_K)} \quad (23)$$

2. ส่วนค่าคงที่สำหรับ *L. mesenteroides* TISTR473 มีค่าเท่ากับ

$$k_0 = 2.22 \times 10^6 \text{ h}^{-1}$$

$$E_a = 3.86 \times 10^4 \text{ kJ/mol}$$

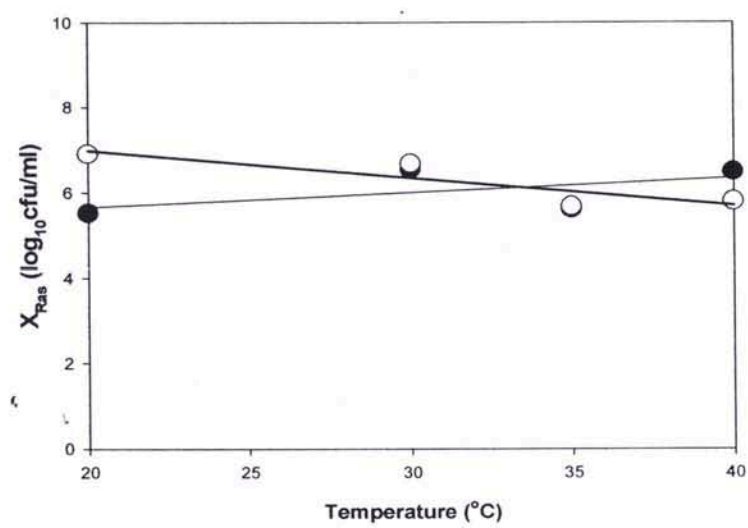
และสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า k ที่ได้ ของ *L. mesenteroides* TISTR 473 สามารถเขียนได้ดังนี้

$$k = 2.22 \times 10^6 \cdot e^{-3.86 \times 10^4 / 8.314 \cdot (T_K)} \quad (24)$$

2. การหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นสูงสุดของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน (X_{Ras}) กับอุณหภูมิ

จากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมทำให้ได้ค่าพารามิเตอร์สำหรับค่าความเข้มข้นสูงสุดของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน (X_{Ras}) ที่อุณหภูมิต่างๆ (ภาพ 41) พบว่าค่า X_{Ras} ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า X_{Ras} ไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ดังนั้นจึงสามารถพิจารณาค่า X_{Ras} เป็นค่าคงที่ได้โดยหาได้จากค่าเฉลี่ยของ X_{Ras} ที่อุณหภูมิต่างๆ สำหรับ

W. cibaria มีค่า X_{Ras} เท่ากับ $6.25 \log_{10} \text{cfu/ml}$ และ *L. mesenteroides* TISTR473 มีค่า X_{Ras} เท่ากับ $6.26 \log_{10} \text{cfu/ml}$



ภาพ 41 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสูงสุดของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน (R_{as}) กับอุณหภูมิของ *W. cibaria* (●) และ *L. mesenteroides* TISTR 473 (○)

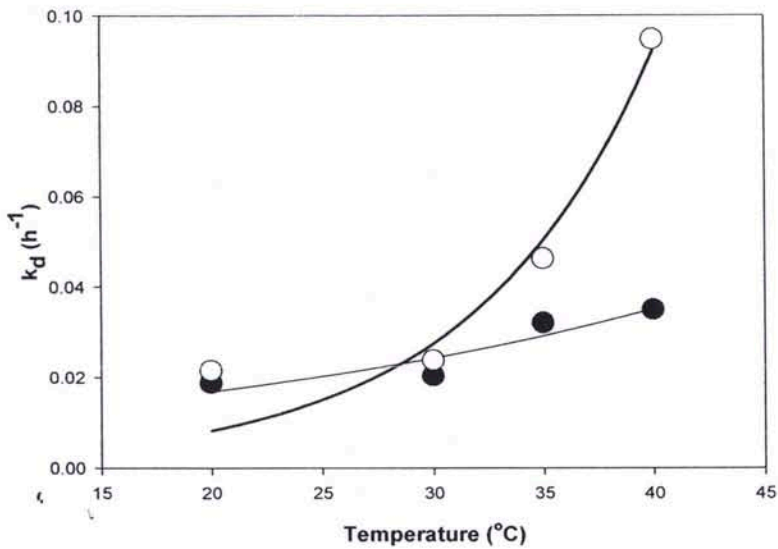
3. การหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่ของอัตราการตาย (k_d) กับอุณหภูมิ

จากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมได้ค่าพารามิเตอร์ที่เป็นค่าคงที่ของอัตราการตาย (k_d) ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังแสดงในภาพ 42 จะเห็นได้ว่าค่า k_d เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า k_d กับอุณหภูมิได้โดยใช้สมการเอมพิริคัล (Empirical equation) ดังนี้

$$k_d = k_{d0} \cdot e^{c_k \cdot T_c} \tag{25}$$

เมื่อ

k_d	คือ ค่าคงที่ของอัตราการตายที่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ (h^{-1})
k_{d0}	คือ ค่าคงที่ของอัตราการตายเริ่มต้น (h^{-1})
c_k	คือ ค่าคงที่ของสมการ
T_c	คือ อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)



ภาพ 42 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่ของอัตราการตาย (k_d) กับอุณหภูมิของ *W. cibaria* (●) และ *L. mesenteroides* TISTR 473 (○)

จากภาพ 42 แสดงให้เห็นว่า *L. mesenteroides* TISTR473 มีค่าคงที่ของอัตราการตาย (k_d) สูงกว่าของ *W. cibaria* สามารถสรุปได้ว่า *L. mesenteroides* TISTR473 มีความไวต่ออุณหภูมิมากกว่า *W. cibaria* ซึ่งแสดงว่า *L. mesenteroides* TISTR473 สามารถทนต่ออุณหภูมิได้น้อยกว่า *W. cibaria* นั้นเอง เมื่อทำการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของค่า k_d และสมการเอมพิริคัลในโปรแกรม Berkeley Madonna ได้ค่าคงที่ของสมการ ดังนี้

1. ค่าคงที่ของสมการสำหรับ *W. cibaria*

$$c_k = 0.037$$

$$k_{d0} = 8.062 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$$

ดังนั้นสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า k_d ที่ได้ ของ *W. cibaria* สามารถเขียนได้ดังนี้

$$k_d = 8.062 \times 10^{-3} \cdot e^{(0.037 \cdot T_c)} \quad (26)$$

2. ค่าคงที่ของสมการของ *L. mesenteroides* TISTR473

$$c_k = 0.121$$

$$k_{d0} = 7.343 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$$

และสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า k_d ที่ได้ ของ *L. mesenteroides* TISTR473 สามารถเขียนได้ดังนี้

$$k_d = 7.343 \times 10^{-4} \cdot e^{(0.121 \cdot T_c)} \tag{27}$$

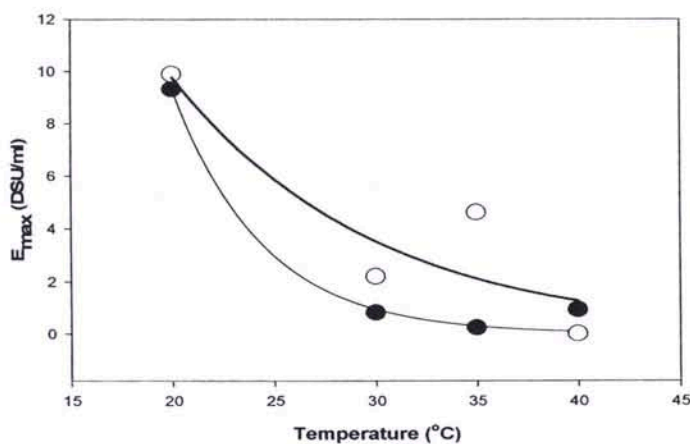
4. การหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนม์ไซม์ที่ผลิตได้สูงสุด (E_{max}) กับอุณหภูมิ

จากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมทำให้ได้ค่าพารามิเตอร์เป็นค่าความเข้มข้นของเอนม์ไซม์ที่ผลิตได้สูงสุด (E_{max}) ที่อุณหภูมิต่างๆ (ภาพ 43) โดยค่า E_{max} เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ ซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า E_{max} กับอุณหภูมิโดยสมการเอมพิริคัล (Empirical equation) ดังนี้

$$E_{max} = E_{max0} \cdot e^{-c_e \cdot T_c} \tag{28}$$

เมื่อ

E_{max}	คือ ค่าความเข้มข้นของเอนม์ไซม์ที่ผลิตได้สูงสุด (DSU/ml)
E_{max0}	คือ ค่าความเข้มข้นของเอนม์ไซม์ที่ผลิตได้สูงสุดเริ่มต้น (DSU/ml)
c_e	คือ ค่าคงที่
T_c	คือ อุณหภูมิที่เวลาใดๆ ($^{\circ}\text{C}$)



ภาพ 43 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้สูงสุด (E_{max}) กับ อุณหภูมิของ *W. cibaria* (●) และ *L. mesenteroides* TISTR 473 (○)

เมื่อทำการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของค่า E_{max} และสมการเอมพิริคัลใน โปรแกรม Berkeley Madonna จะได้ค่าคงที่ของสมการ ดังนี้

1. ค่าคงที่ของสมการสำหรับ *W. cibaria*

$$E_{max0} = 908.33 \text{ DSU/ml}$$

$$c_e = 0.229$$

ดังนั้นสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า E_{max} ที่ได้ ของ *W. cibaria* สามารถเขียนได้ ดังนี้

$$E_{max} = 908.33 \cdot e^{(-0.229 \cdot T_c)} \quad (29)$$

2. ค่าคงที่ของสมการของ *L. mesenteroides* TISTR473

$$E_{max0} = 75.68 \text{ DSU/ml}$$

$$c_e = 0.102$$

และสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่า E_{max} ที่ได้ ของ *L. mesenteroides* TISTR473 สามารถเขียนได้ดังนี้

$$E_{max} = 75.68 \cdot e^{(-0.102 \cdot T_C)} \tag{30}$$

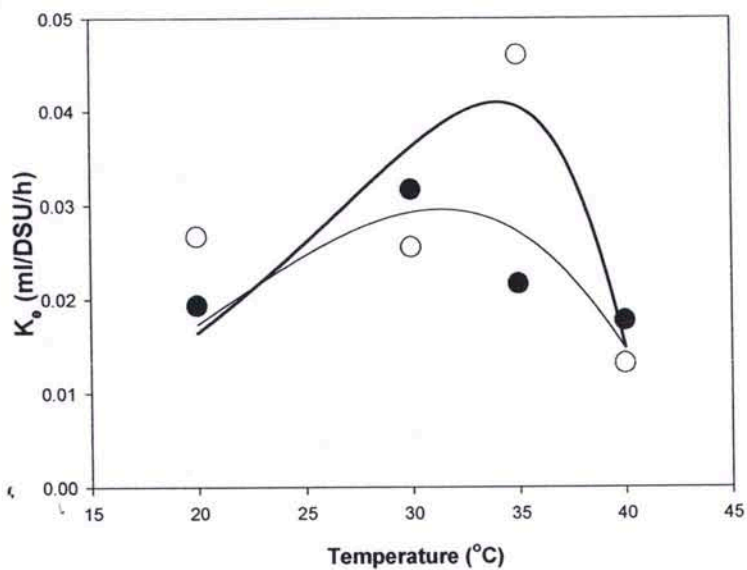
5. การหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (K_e) กับ อุณหภูมิ

จากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมทำให้ได้ค่าพารามิเตอร์เป็นค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (K_e) ที่อุณหภูมิต่างๆ (ภาพ 44) พบว่าค่า K_e เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า K_e กับอุณหภูมิโดยสมการ Square root equation ดังนี้

$$K_e = \left(b \cdot (T_C - T_{min}) \cdot (1 - e^{(c \cdot (T_C - T_{max}))}) \right)^2 \tag{31}$$

เมื่อ

K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU/h)
b	คือ ค่าคงที่ของสมการ ($(h^{-1})^{-1/2} / ^\circ C^{-1}$)
c	คือ ค่าคงที่ของสมการ ($^\circ C$)
T_C	คือ อุณหภูมิ ($^\circ C$)
T_{min}	คือ อุณหภูมิต่ำสุดทางทฤษฎี ($^\circ C$)
T_{max}	คือ อุณหภูมิสูงสุดทางทฤษฎี ($^\circ C$)



ภาพ 44 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (K_e) กับอุณหภูมิของ *W. cibaria* (●) และ *L. mesenteroides* TISTR 473 (○)

เมื่อทำการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของค่า K_e และสมการ Square root equation ในโปรแกรม Berkeley Madonna จะได้ค่าคงที่ของสมการ ดังนี้

1. ค่าคงที่ของสมการสำหรับ *W. cibaria*

$$\begin{aligned} b &= 0.0075 \text{ (h}^{-1}\text{)}^{-1/2} / ^\circ\text{C}^{-1} \\ c &= 0.10 \text{ }^\circ\text{C} \\ T_{min} &= 1.00 \text{ }^\circ\text{C} \\ T_{max} &= 45.32 \text{ }^\circ\text{C} \end{aligned}$$

ดังนั้นสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า ke ที่ได้ ของ *W. cibaria* สามารถเขียนได้ดังนี้

$$K_e = \left(0.0075 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.10 \cdot (T_c - 45.32))} \right) \right)^2 \tag{32}$$

2. ค่าคงที่ของสมการของ *L. mesenteroides* TISTR473

$$\begin{aligned} b &= 0.0068 \text{ (h}^{-1}\text{)}^{-1/2} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1} \\ c &= 0.292 \text{ }^{\circ}\text{C} \\ T_{min} &= 1.00 \text{ }^{\circ}\text{C} \\ T_{max} &= 42.13 \text{ }^{\circ}\text{C} \end{aligned}$$

และสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า *ke* ที่ได้ ของ *L. mesenteroides* TISTR473 สามารถเขียนได้ดังนี้

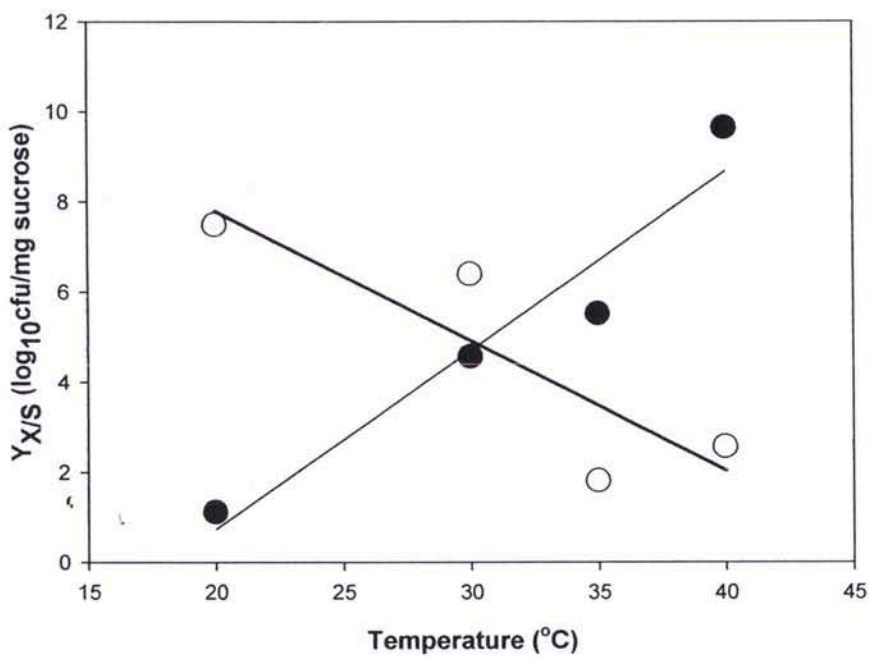
$$K_e = \left(0.0068 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.292 \cdot (T_c - 42.13))} \right) \right)^2 \tag{33}$$

6. การหาความสัมพันธ์ระหว่างผลได้ของเซลล์จากซูโครส (*Y_{X/S}*) กับอุณหภูมิจากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมทำให้ได้ค่าพารามิเตอร์เป็นค่าผลได้ของเซลล์จากซูโครส (*Y_{X/S}*) ที่อุณหภูมิต่างๆ (ภาพ 45) พบว่าค่า *Y_{X/S}* เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า *Y_{X/S}* กับอุณหภูมิโดยสมการ เชิงเส้น (Linear equation) ดังนี้

$$Y_{X/S} = a \cdot T_c + y_0 \tag{34}$$

เมื่อ

<i>Y_{X/S}</i>	คือ ค่าผลได้ของเซลล์จากซูโครส (log ₁₀ cfu/mg sucrose)
<i>a</i>	คือ ค่าความชัน
<i>y₀</i>	คือ จุดตัดแกน y
<i>T_c</i>	คือ อุณหภูมิ (°C)



ภาพ 45 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลได้ของเซลล์จากซูโครส ($Y_{X/S}$) กับอุณหภูมิของ *W. cibaria* (●) และ *L. mesenteroides* TISTR 473 (○)

จากภาพ 45 จะเห็นได้ว่าค่าผลได้ของเซลล์จากซูโครสของ *W. cibaria* มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในขณะที่ค่าผลได้ของเซลล์จากซูโครสของ *L. mesenteroides* TISTR 473 มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากโดยทั่วไปค่า $Y_{X/S}$ เป็นค่าผลได้ของเซลล์ที่เป็นน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีหน่วยเป็นกรัมเซลล์ต่อกรัมซูโครส แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถทำการชั่งน้ำหนักของเซลล์แห้งได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ที่นำมาทำการศึกษา (*W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR473) เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเด็กซ์แทรนทำให้อาหารมีลักษณะเหนียวหนืดจึงไม่สามารถทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเอาตัวเซลล์ออกจากเด็กซ์แทรนได้ ดังนั้นในการวัดปริมาณจุลินทรีย์จึงนับเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งมีหน่วยเป็น cfu/ml ซึ่งอาจส่งผลให้ค่า $Y_{X/S}$ ที่ได้มีความแปรปรวนได้ เมื่อทำการพล็อตกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า $Y_{X/S}$ กับอุณหภูมิจะได้ค่าความชัน (a) และจุดตัดแกน y ดังนี้

1. สำหรับ *W. cibaria*

$$a = 3.96 \times 10^{-1}$$

$$y_0 = -7.183$$

ดังนั้นสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า $Y_{X/S}$ ที่ได้ ของ *W. cibaria* สามารถเขียนได้ดังนี้

$$Y_{X/S} = 3.96 \times 10^{-1} \cdot T_C - 7.183 \quad (35)$$

2. สำหรับ *L. mesenteroides* TISTR473

$$a = -2.878 \times 10^{-1}$$

$$y_0 = 13.55$$

และสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า $Y_{X/S}$ ที่ได้ ของ *L. mesenteroides* TISTR473 สามารถเขียนได้ดังนี้

$$Y_{X/S} = -2.878 \times 10^{-1} \cdot T_C + 13.55 \quad (36)$$

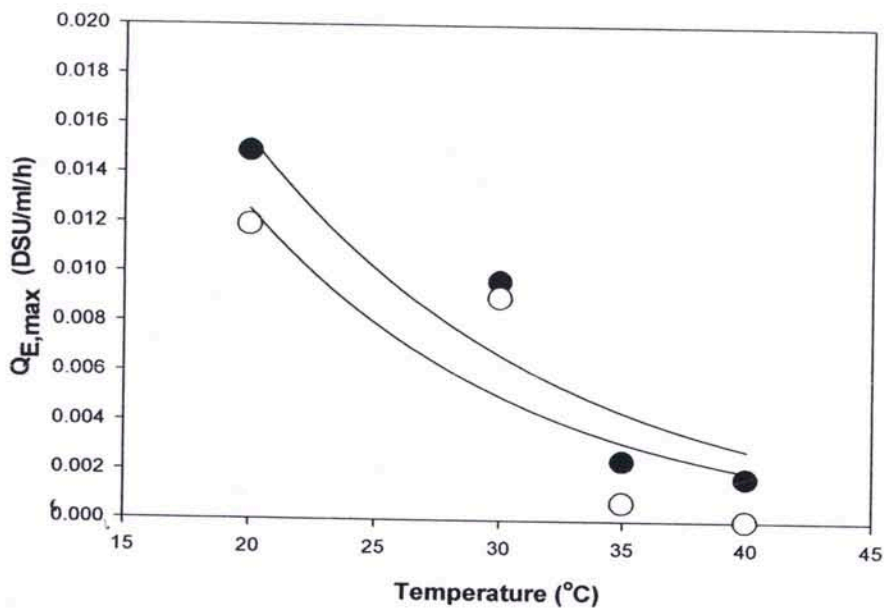
7. การหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุด (QE_{max}) กับอุณหภูมิ

จากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมทำให้ได้ค่าพารามิเตอร์เป็นอัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุด (QE_{max}) ที่อุณหภูมิต่างๆ (ภาพ 46) พบว่าค่า QE_{max} เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า QE_{max} กับอุณหภูมิโดยสมการเอมพิริคัล (Empirical equation) ดังนี้

$$QE_{max} = QE_{max0} \cdot e^{-c_Q \cdot T_C} \quad (37)$$

เมื่อ

QE_{max}	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุด (DSU/ml/h)
QE_{max0}	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุดเริ่มต้น (DSU/ml/h)
c_Q	คือ ค่าคงที่
T_C	คือ อุณหภูมิที่เวลาใดๆ (°C)



ภาพ 46 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุด ($Q_{E,max}$) กับ อุณหภูมิของ *W. cibaria* (●) และ *L. mesenteroides* TISTR 473 (○)

เมื่อทำการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมของค่า $Q_{E,max}$ และสมการเอมพิริคัลในโปรแกรม Berkeley Madonna จะได้ค่าคงที่ของสมการ ดังนี้

1. ค่าคงที่ของสมการสำหรับ *W. cibaria*

$$Q_{E,max0} = 0.081 \text{ DSU/ml}$$

$$c_Q = 0.083$$

ดังนั้นสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่า $Q_{E,max}$ ที่ได้ ของ *W. cibaria* สามารถเขียนได้ดังนี้

$$Q_{E,max} = 0.081 \cdot e^{(-0.083 \cdot T_c)} \quad (38)$$

2. ค่าคงที่ของสมการของ *L. mesenteroides* TISTR473

$$Q_{E,max0} = 0.078 \text{ DSU/ml}$$

$$c_Q = 0.091$$

และสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่า $Q_{E,max}$ ที่ได้ ของ *L. mesenteroides* TISTR473 สามารถเขียนได้ดังนี้

$$Q_{E,max} = 0.078 \cdot e^{(-0.091 \cdot T_C)} \tag{39}$$

จากการทดลองสามารถสรุปแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการเจริญเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การใช้ซูโครส การผลิตเด็กซ์แทรนและการผลิตฟรุกโตสที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิของ *W. cibaria* ได้ดังนี้

1. แบบจำลองการเจริญเติบโตของเซลล์

โดยที่

เมื่อ

$$\begin{aligned} \frac{dX_R}{dt} &= -\mu \cdot X_R \\ \frac{dX_S}{dt} &= \mu \cdot X_R - k_d \cdot X_S \\ \mu &= k \left(1 - \frac{X_R}{X_{Ras}}\right) \\ k &= 2.34 \times 10^4 \cdot e^{-2.74 \times 10^4 / 8.314 \cdot (T_K)} \\ X_{Ras} &= 6.25 \\ k_d &= 8.062 \times 10^{-3} \cdot e^{(0.037 \cdot T_C)} \end{aligned}$$

และ

- X_S

X_R

k

μ

X_{Ras}

k_d
- คือ ปริมาณของเซลล์ที่ไวต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)

คือ ปริมาณของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)

คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (h^{-1})

คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (h^{-1})

คือ ปริมาณสูงสุดของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)

คือ ค่าคงที่ของอัตราการตาย (h^{-1})

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการเติบโตที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการเติบโตของ *W. cibaria* ดังนี้

$$\frac{dX_R}{dt} = -2.34 \times 10^4 \cdot e^{-2.74 \times 10^4 / 8.314 \cdot (T_K)} \cdot \left(1 - \frac{X_R}{6.25}\right) \cdot X_R$$

$$\frac{dX_S}{dt} = 2.34 \times 10^4 \cdot e^{-2.74 \times 10^4 / 8.314 \cdot (T_K)} \cdot \left(1 - \frac{X_R}{6.25}\right) \cdot X_R - 8.062 \times 10^{-3} \cdot e^{(0.037 \cdot T_C)} \cdot X_S$$

2. แบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส

โดยที่

$$\frac{dE}{dt} = Q_E \cdot X_S = Q_{E,max} \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{max}}\right) X_S$$

$$E_{max} = 908.33 \cdot e^{(-0.229 \cdot T_C)}$$

$$Q_{E,max} = 0.081 \cdot e^{(-0.083 \cdot T_C)}$$

เมื่อ

X_S	คือ ปริมาณของเซลล์ที่ไวต่อความร้อน ($\log_{10}$ cfu/ml)
Q_E	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะ (DSU/ml/h)
$Q_{E,max}$	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุด (DSU/ml/h)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนม์ไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
E_{max}	คือ ความเข้มข้นของเอนม์ไซม์ที่ผลิตได้สูงสุด (DSU/ml)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* ดังนี้

$$\frac{dE}{dt} = 0.081 \cdot e^{(-0.083 \cdot T_C)} \cdot \left(1 - \frac{E}{908.33 \cdot e^{(-0.229 \cdot T_C)}}\right) X_S$$

3. แบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรน

โดยที่

เมื่อ

$$\frac{dD}{dt} = \frac{M_G - M_W}{M_S} \cdot K_e \cdot E \cdot S$$
$$k_e = \left(0.0075 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.10 \cdot (T_c - 45.32))} \right) \right)^2$$

D	คือ ความเข้มข้นของเด็กซ์แทรน (mg/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
M_{D_i}, M_S และ M_W	คือ มวลโมเลกุลของเด็กซ์แทรน ซูโครส และน้ำ ตามลำดับ
K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU h)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรนที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการผลิตเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* ดังนี้

$$\frac{dD}{dt} = \frac{180.16 - 18}{342.3} \cdot \left(0.0075 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.10 \cdot (T_c - 45.32))} \right) \right)^2 \cdot E \cdot S$$

4. แบบจำลองการผลิตฟรุคโตส

โดยที่

เมื่อ

$$\frac{dF}{dt} = \frac{M_F}{M_S} \cdot K_e \cdot E \cdot S$$
$$k_e = \left(0.0075 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.10 \cdot (T_c - 45.32))} \right) \right)^2$$

F	คือ ความเข้มข้นของฟรุคโตส (mg/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
M_F และ M_S	คือ มวลโมเลกุลของฟรุคโตสและซูโครส
K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU h)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการผลิตฟรุกโตสที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการผลิตฟรุกโตสของ *W. cibaria* ดังนี้

$$\frac{dF}{dt} = \frac{180.16}{342.3} \cdot \left(0.0075 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.10 \cdot (T_c - 45.32))}\right)\right)^2 \cdot E \cdot S$$

5. แบบจำลองการใช้ซูโครส

โดยที่ $\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{1}{Y_{X/S}}\right) \cdot \frac{dX}{dt} - K_e \cdot E \cdot S$

$$k_e = \left(0.0075 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.10 \cdot (T_c - 45.32))}\right)\right)^2$$

เมื่อ $Y_{X/S} = 3.96 \times 10^{-1} \cdot T_c - 7.183$

$Y_{X/S}$	คือ ผลได้ของเซลล์จากซูโครส ($\log_{10}$ cfu/mg sucrose)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/lml)
K_e	คือ ค่าคงที่ (ml/DSU/h)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการใช้ซูโครสที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการใช้ซูโครสของ *W. cibaria* ดังนี้

$$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{1}{(3.96 \times 10^{-1} \cdot T_c - 7.183)}\right) \cdot \frac{dX}{dt} - \left(0.0075 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.10 \cdot (T_c - 45.32))}\right)\right)^2 \cdot E \cdot S$$

สำหรับ *L. mesenteroides* TISTR473 สามารถสรุปแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเจริญเติบโต การผลิตเอนไซม์เดิร์กซ์แทรนซูเครส การใช้ซูโครส การผลิตเดิร์กซ์แทรนและการผลิตฟรุกโตสที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิได้ดังนี้

1. แบบจำลองการเจริญเติบโตของเซลล์

โดยที่

เมื่อ

และ

X_S	คือ ปริมาณของเซลล์ที่ไวต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)
X_R	คือ ปริมาณของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)
k	คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (h^{-1})
μ	คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (h^{-1})
X_{Ras}	คือ ปริมาณสูงสุดของเซลล์ที่ทนต่อความร้อน ($\log_{10}\text{cfu/ml}$)
k_d	คือ ค่าคงที่ของอัตราการตาย (h^{-1})

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการเติบโตที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการเติบโตของ *L. mesenteroides* TISTR473 ดังนี้

$$\frac{dX_R}{dt} = -2.22 \times 10^6 \cdot e^{-3.86 \times 10^4 / 8.314 \cdot (T_K)} \cdot \left(1 - \frac{X_R}{6.26}\right) \cdot X_R$$



$$\frac{dX_S}{dt} = 2.22 \times 10^6 \cdot e^{-3.86 \times 10^4 / 8.314 \cdot (T_K)} \cdot \left(1 - \frac{X_R}{6.26}\right) \cdot X_R - 7.343 \times 10^{-4} \cdot e^{(0.121 \cdot T_C)} \cdot X_S$$

2. แบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส

โดยที่

$$\frac{dE}{dt} = Q_E \cdot X = Q_{E,max} \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{max}}\right) X_S$$

$$E_{max} = 75.68 \cdot e^{(-0.102 \cdot T_C)}$$

เมื่อ

$$Q_{E,max} = 0.078 \cdot e^{(-0.091 \cdot T_C)}$$

X_S	คือ ปริมาณของเซลล์ที่ไวต่อความร้อน (log ₁₀ cfu/ml)
Q_E	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะ (DSU/ml/h)
$Q_{E,max}$	คือ อัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะสูงสุด (DSU/ml/h)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนมีไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
E_{max}	คือ ความเข้มข้นของเอนมีไซม์ที่ผลิตได้สูงสุด (DSU/ml)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *L. mesenteroides* TISTR 473 ดังนี้

$$\frac{dE}{dt} = 0.078 \cdot e^{(-0.091 \cdot T_C)} \cdot \left(1 - \frac{E}{75.68 \cdot e^{(-0.102 \cdot T_C)}}\right) X_S$$

3. แบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรน

โดยที่

$$\frac{dD}{dt} = \frac{M_G - M_W}{M_S} \cdot K_e \cdot E \cdot S$$

เมื่อ

$$k_e = \left(0.0068 \cdot (T_C - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.292 \cdot (T_C - 42.13))}\right)\right)^2$$

D	คือ ความเข้มข้นของเด็กซ์แทรน (mg/ml)
-----	--------------------------------------

S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
M_D, M_S และ M_W	คือ มวลโมเลกุลของเดกซ์แทรน ซูโครส และน้ำ ตามลำดับ
K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU h)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการผลิตเดกซ์แทรนที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการผลิตเดกซ์แทรนของ *L. mesenteroides* TISTR473 ดังนี้

$$\frac{dD}{dt} = \frac{180.16 - 18}{342.3} \cdot \left(0.0068 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.292 \cdot (T_c - 42.13))} \right) \right)^2 \cdot E \cdot S$$

4. แบบจำลองการผลิตฟรุกโตส

	$\frac{dF}{dt} = \frac{M_F}{M_S} \cdot K_e \cdot E \cdot S$
โดยที่	
เมื่อ	$k_e = \left(0.0068 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.292 \cdot (T_c - 42.13))} \right) \right)^2$
F	คือ ความเข้มข้นของฟรุกโตส (mg/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
M_F และ M_S	คือ มวลโมเลกุลของฟรุกโตสและซูโครส
K_e	คือ ค่าคงที่ของอัตราการผลิตเอนไซม์ (ml/DSU h)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการผลิตฟรุกโตสที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการผลิตฟรุกโตสของ *L. mesenteroides* TISTR473 ดังนี้

$$\frac{dF}{dt} = \frac{180.16}{342.3} \cdot \left(0.0068 \cdot (T_c - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.292 \cdot (T_c - 42.13))} \right) \right)^2 \cdot E \cdot S$$

5. แบบจำลองการใช้ซูโครส

โดยที่

$$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{1}{Y_{XS}}\right) \cdot \frac{dX}{dt} - K_e \cdot E \cdot S$$

$$k_e = \left(0.0068 \cdot (T_C - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.292 \cdot (T_C - 42.13))}\right)\right)^2$$

เมื่อ

$Y_{X/S}$	คือ ผลได้ของเซลล์จากซูโครส ($\log_{10}$ cfu/mg sucrose)
E	คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (DSU/ml)
S	คือ ความเข้มข้นของซูโครส (mg/ml)
K_e	คือ ค่าคงที่ (ml/DSU/h)

เมื่อแทนค่าที่ได้จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าพารามิเตอร์แต่ละตัวลงในแบบจำลองการใช้ซูโครสที่นำมาใช้จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นำไปใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการใช้ซูโครสของ *L. mesenteroides* TISTR473 ดังนี้

$$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{1}{-2.878 \times 10^{-1} \cdot T_C + 13.55}\right) \cdot \frac{dX}{dt} - \left(0.0068 \cdot (T_C - 1.00) \cdot \left(1 - e^{(0.292 \cdot (T_C - 42.13))}\right)\right)^2 \cdot E \cdot S$$

การทวนสอบความถูกต้องของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

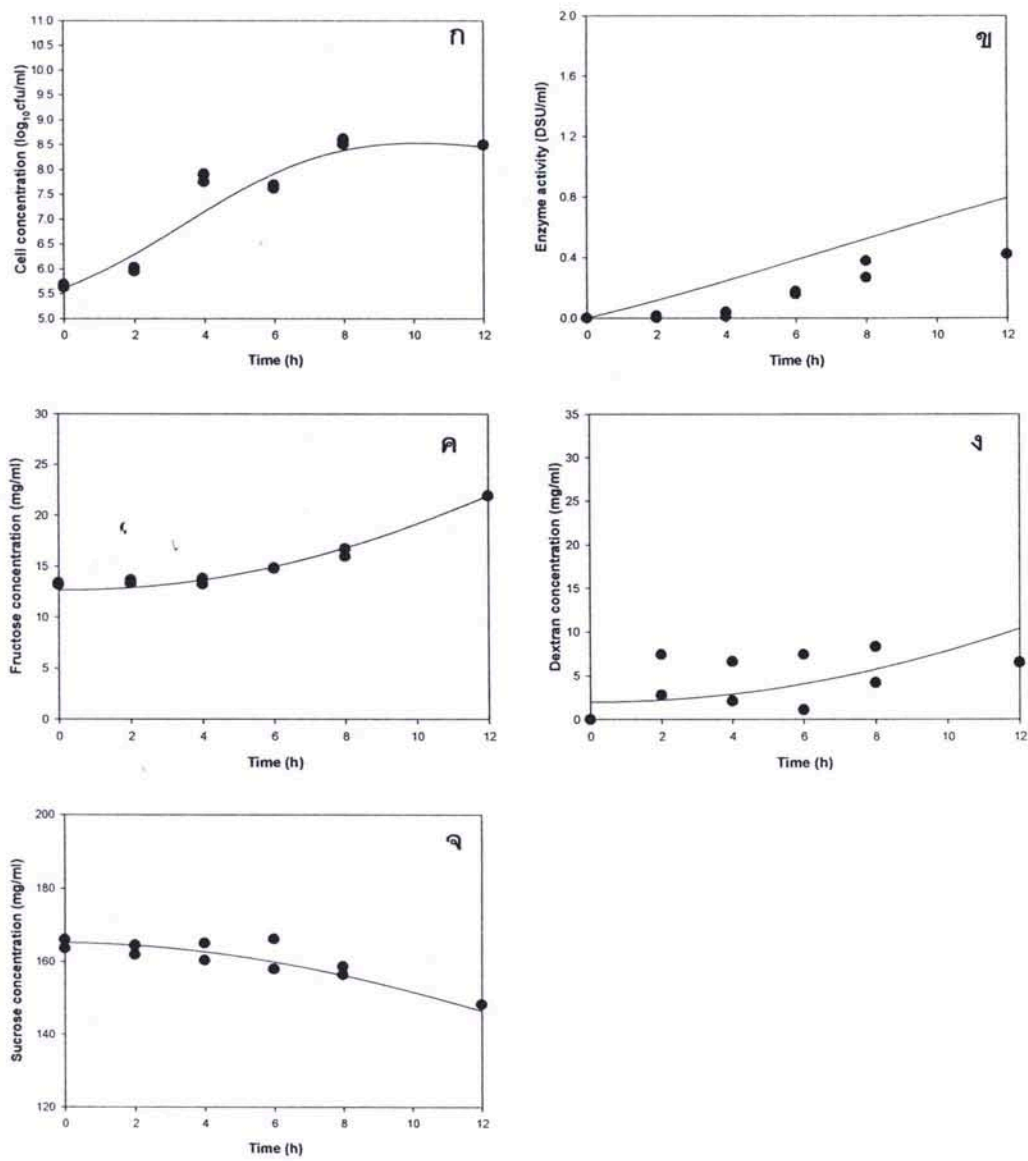
การทวนสอบความถูกต้อง (Validation) ของแบบจำลองเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองจริง โดยมีสภาวะการเพาะเลี้ยง *W. cibaria* ในน้ำอ้อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 5.0 – 5.5 มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5.0 - 6.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ จากภาพ 47 แสดงการเปรียบเทียบของข้อมูลที่ได้จากแบบจำลองเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองจริงของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาการเปรียบเทียบแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กับข้อมูลจริง (ภาพ 47ก) จะเห็นได้ว่าแบบจำลองสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการเจริญเติบโตของ *W. cibaria* ได้ดี โดยมีการเบี่ยงเบนจากข้อมูลจริงเพียงเล็กน้อย สามารถพิจารณาได้จากค่า Weighted sum of squared errors (WSSE) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความคลาดเคลื่อนระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนายจากแบบจำลอง โดยจากการเปรียบเทียบแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กับข้อมูลจริงพบว่ามีค่า WSSE เท่ากับ 0.02

การเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสกับข้อมูลจริง (ภาพ 47ข) พบว่า แบบจำลองที่ได้ไม่สามารถจับจุดสำคัญของการเปลี่ยนแปลงการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสได้ โดยค่าที่ได้จากการทำนายจากแบบจำลองจะมีค่ามากกว่าค่าจากการทดลองจริง (Overestimate) อย่างไรก็ตาม แบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงได้ โดยมีแนวโน้มการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมากขึ้นเมื่อเวลาในการเพาะเลี้ยงนานขึ้น ซึ่งการเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสกับข้อมูลจริงมีค่า WSSE เท่ากับ 3.33

การเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตฟรุกโตสกับข้อมูลจริง (ภาพ 47ค) พบว่า แบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงได้เป็นอย่างดี โดยจากการเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตฟรุกโตสกับข้อมูลจริงพบว่ามีค่า WSSE เท่ากับ 0.006

การเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรนกับข้อมูลจริง (ภาพ 17ง) พบว่า แบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงได้ดี โดยการเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรนที่ได้กับข้อมูลจริงจะมีค่า WSSE เท่ากับ 1.38

การเปรียบเทียบแบบจำลองการใช้ซูโครสกับข้อมูลจริง (ภาพ 47จ) พบว่า แบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงได้ดี โดยการเปรียบเทียบแบบจำลองการใช้ซูโครสที่ได้กับข้อมูลจริงพบว่าจะมีค่า WSSE เท่ากับ 0.003 ซึ่งแสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองเบี่ยงเบนไปจากค่าที่ได้จากการทดลองจริงเพียงเล็กน้อย



ภาพ 47 การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากแบบจำลองกับค่าที่ได้จากการทดลองของ *W. cibaria* ที่ อุณหภูมิ 25 °C; (ก) การเติบโตของจุลินทรีย์; (ข) การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุคโตส; (ง) การผลิตเด็กซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส

สำหรับการทวนสอบความถูกต้อง (Validation) ของแบบจำลองเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองจริง โดยมีสภาวะการเพาะเลี้ยง *L. mesenteroides* TISTR473 ในน้ำอ้อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 5.0 – 5.5 มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ $5.0 - 6.0 \log_{10} \text{cfu/ml}$ โดยเมื่อพิจารณาการเปรียบเทียบแบบจำลองการเติบโตของจุลินทรีย์กับข้อมูลจริง (ภาพ 48ก) พบว่าแบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงการเติบโตของ *L. mesenteroides* TISTR473 ได้ดี ดังนั้นค่าที่ได้จากแบบจำลองจึงเป็นแบบจากข้อมูลจริงเพียงเล็กน้อย โดยการเปรียบเทียบแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กับข้อมูลจริงจะมีค่า WSSE เท่ากับ 0.01

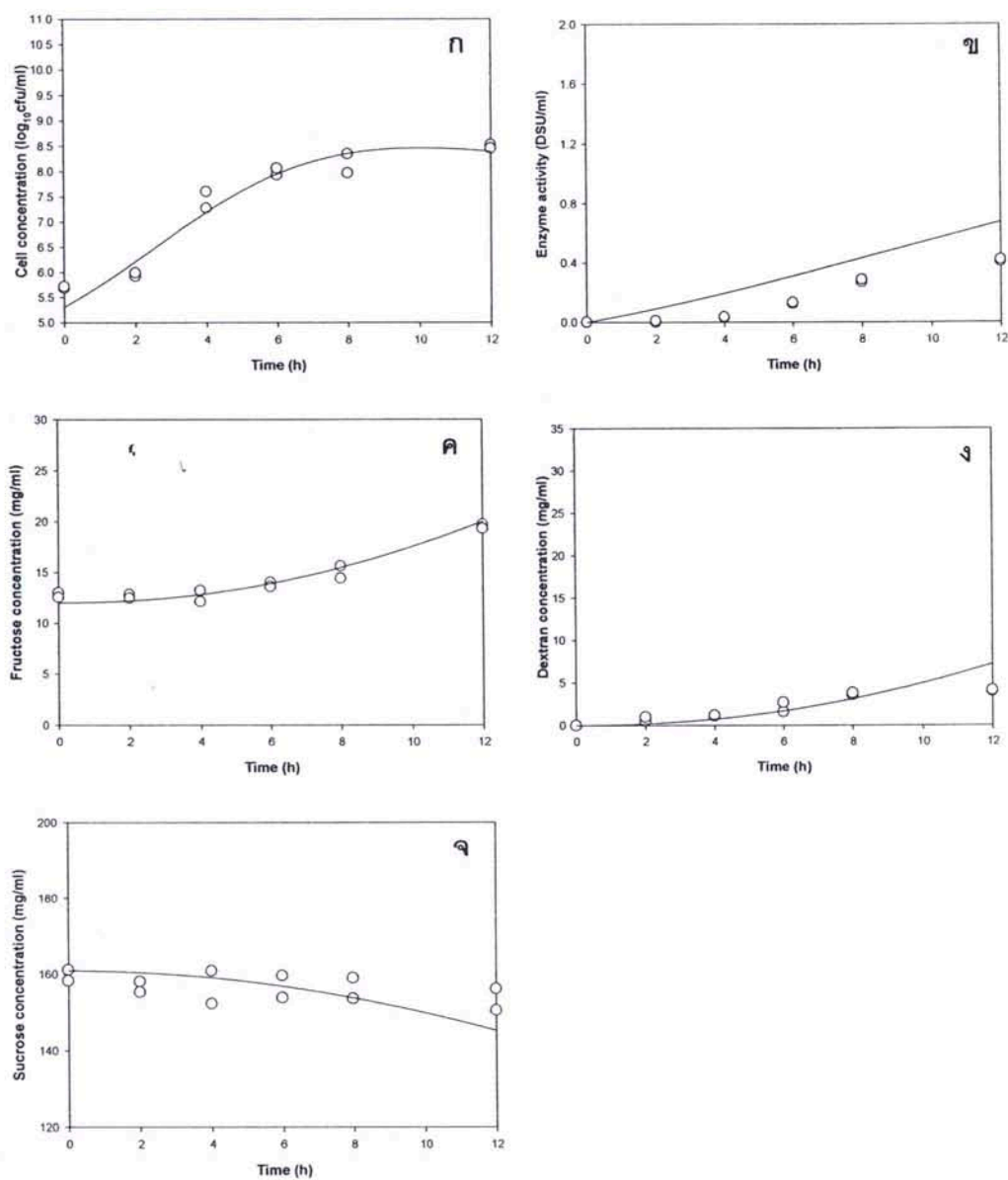
การเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสกับข้อมูลจริง (ภาพ 48ข) พบว่า แบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายแนวโน้มของข้อมูลจริงได้ โดยมีแนวโน้มการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมากขึ้นเมื่อเวลาในการเพาะเลี้ยงนานขึ้น ซึ่งค่าที่ได้จากแบบจำลองจะมีค่ามากกว่าค่าที่ได้จากการทดลองจริง โดยการเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสกับข้อมูลจริงมีค่า WSSE เท่ากับ 1.80

การเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตฟรุกโตสกับข้อมูลจริง (ภาพ 48ค) พบว่าแบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงได้เป็นอย่างดี โดยจากการเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตฟรุกโตสกับข้อมูลจริงพบว่ามีค่า WSSE เท่ากับ 0.01

การเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรนกับข้อมูลจริง (ภาพ 18ง) พบว่าแบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงได้ดี โดยการเปรียบเทียบแบบจำลองการผลิตเด็กซ์แทรนที่ได้กับข้อมูลจริงจะมีค่า WSSE เท่ากับ 1.35

การเปรียบเทียบแบบจำลองการใช้ซูโครสกับข้อมูลจริง (ภาพ 48จ) พบว่า แบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงได้ดี โดยการเปรียบเทียบแบบจำลองการใช้ซูโครสที่ได้กับข้อมูลจริงพบว่าจะมีค่า WSSE เท่ากับ 0.01

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าแบบจำลองที่ได้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของการเติบโต การผลิตฟรุกโตส การผลิตเด็กซ์แทรน และการใช้ซูโครสของจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ได้ดี ในขณะที่แบบจำลองการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่ได้สามารถอธิบายแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลจริงของจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ได้ โดยมีแนวโน้มการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมากขึ้นเมื่อเวลาในการเพาะเลี้ยงนานขึ้น

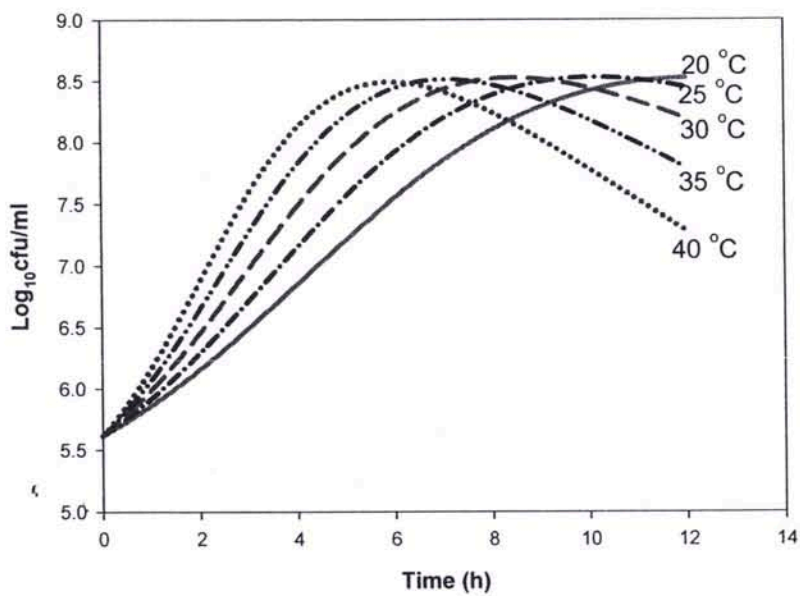


ภาพ 48 การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากแบบจำลองกับค่าที่ได้จากการทดลองของ *L. mesenteroides* TISTR473 ที่ อุณหภูมิ 25 °C; (ก) การเติบโตของจุลินทรีย์; (ข) การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนซูเครส; (ค) การผลิตฟรุคโตส; (ง) การผลิตเดกซ์แทรน; (จ) การใช้ซูโครส

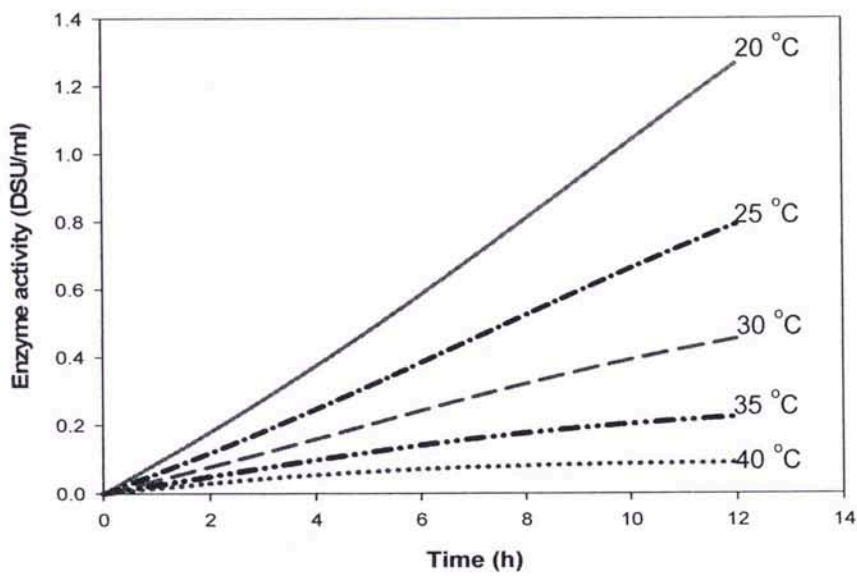
การประยุกต์ใช้แบบจำลองการทำนายการเติบโต การผลิตเอนไซม์ การผลิตฟรุกโตส การผลิตเด็กซ์แทรนและการใช้ซูโครส

จากการนำแบบจำลองที่ได้มาประยุกต์ใช้เพื่อการทำนายการเติบโต การผลิตเอนไซม์ เด็กซ์แทรนซูเครส การผลิตฟรุกโตส การผลิตเด็กซ์แทรนและการใช้ซูโครสของ *W. cibaria* ที่พบปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายและมีความสามารถในการผลิตเด็กซ์แทรนได้สูง จากภาพ 49 แสดงการทำนายการเติบโตของ *W. cibaria* ที่อุณหภูมิ 20 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส เมื่อมีการปนเปื้อนของ *W. cibaria* เริ่มต้นประมาณ $5.60 \log_{10} \text{cfu/ml}$ พบว่า ที่ทุกอุณหภูมิมีปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สูงสุดไม่แตกต่างกันคือประมาณ $8.50 \log_{10} \text{cfu/ml}$ โดยที่อุณหภูมิต่ำระยะเวลาที่ปริมาณจุลินทรีย์เติบโตถึง $8.50 \log_{10} \text{cfu/ml}$ จะช้ากว่าที่อุณหภูมิสูงสังเกตได้จากที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์เติบโตถึง $8.50 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ในชั่วโมงที่ 5 ในขณะที่ 20 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์เติบโตถึง $8.50 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ในชั่วโมงที่ 11 อย่างไรก็ตาม ที่อุณหภูมิสูงปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงเร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำ สังเกตได้จากที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนจะเริ่มลดลงหลังจากชั่วโมงที่ 6 โดยในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนเหลือรอดประมาณ $7.30 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ในขณะที่ 20 องศาเซลเซียส ในชั่วโมงที่ 12 ยังคงมีปริมาณจุลินทรีย์คงที่ประมาณ $8.50 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ซึ่งยังไม่มี การลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อน จากผลการทำนายการเติบโตของ *W. cibaria* จากแบบจำลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิต่ำจุลินทรีย์สามารถเติบโตได้ดีโดยใช้ระยะเวลาในการเติบโตนานกว่าที่อุณหภูมิสูง โดยเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง จุลินทรีย์ยังคงสามารถเติบโตได้ดีทำให้มีการปนเปื้อนในปริมาณสูง ในขณะที่อุณหภูมิสูงจุลินทรีย์สามารถเติบโตได้ดีในช่วงระยะเวลาสั้น โดยเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนเหลือน้อยที่สุด

เมื่อพิจารณาด้านการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสจากการทำนายจากแบบจำลองที่ได้ (ภาพ 50)พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุด โดยพิจารณาจากการมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุด โดยระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และในชั่วโมงที่ 12 ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงถึง 1.3 DSU/ml ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมีแนวโน้มลดลง และที่ 40 องศาเซลเซียส มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสต่ำที่สุดโดยในชั่วโมงที่ 12 ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสเพียงประมาณ 0.09 DSU/ml



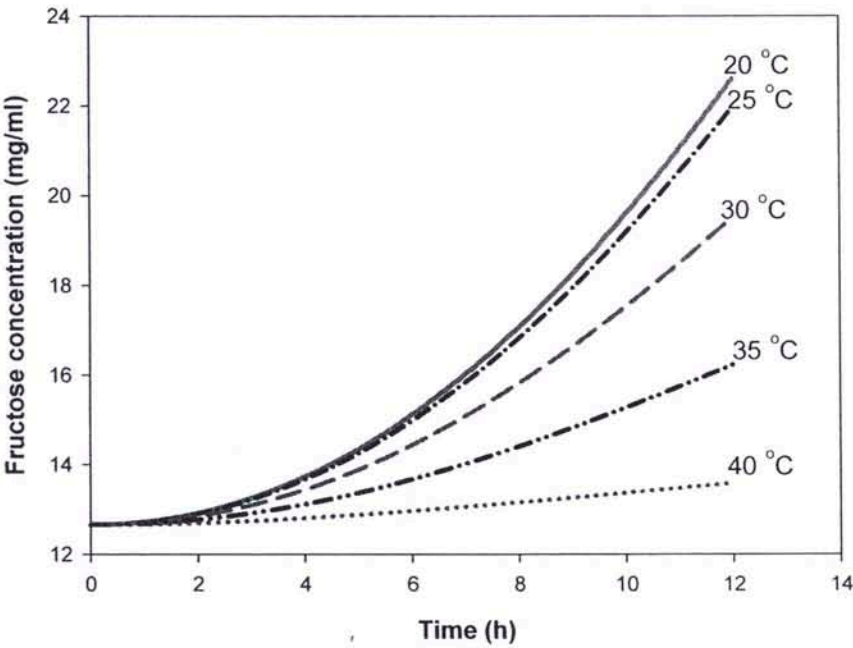
ภาพ 49 การทำนายการเติบโตของ *W. cibaria* ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย ที่อุณหภูมิต่างๆ จากแบบจำลองที่ได้



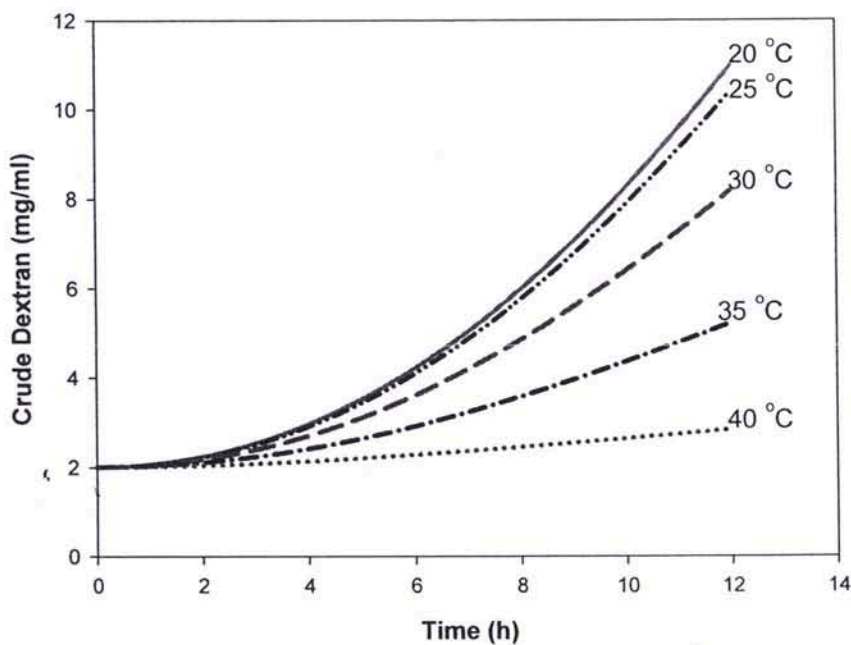
ภาพ 50 การทำนายการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรเนสของ *W. cibaria* ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายที่อุณหภูมิต่างๆ จากแบบจำลองที่ได้

เมื่อพิจารณาจากการผลิตฟรุคโตสจากการทำนายของแบบจำลองที่ได้ (ภาพ 51)โดยมีปริมาณฟรุคโตสดั้งต้นประมาณ 12.70 mg/ml พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีการผลิตฟรุคโตสสูงสุด โดยในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณฟรุคโตสที่เกิดขึ้นสูงถึง 22.59 mg/ml ซึ่งมีปริมาณฟรุคโตสเพิ่มจากปริมาณฟรุคโตสดั้งต้นประมาณ 9.89 mg/ml และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการผลิตฟรุคโตสจะต่ำลง โดยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟรุคโตสที่เกิดขึ้นต่ำที่สุด ซึ่งในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณฟรุคโตสเกิดขึ้นเพียง 13.53 mg/ml โดยมีปริมาณฟรุคโตสเพิ่มจากปริมาณฟรุคโตสดั้งต้นเพียง 0.89 mg/ml

เมื่อพิจารณาจากการผลิตเด็กซ์แทรนจากการทำนายของแบบจำลองที่ได้ (ภาพ 52)โดยมีปริมาณเด็กซ์แทรนดั้งต้นประมาณ 2.05 mg/ml พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีการผลิตเด็กซ์แทรนสูงสุด โดยในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณเด็กซ์แทรนประมาณ 11.07 mg/ml ซึ่งมีปริมาณเด็กซ์แทรนเพิ่มจากปริมาณดั้งต้นประมาณ 9.02 mg/ml และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการผลิตเด็กซ์แทรนมีแนวโน้มต่ำลง โดยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีการผลิตเด็กซ์แทรนต่ำที่สุด โดยชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณเด็กซ์แทรนเกิดขึ้นเพียง 2.87 mg/ml โดยมีปริมาณเด็กซ์แทรนเพิ่มจากปริมาณเด็กซ์แทรนดั้งต้นเพียง 0.82 mg/ml



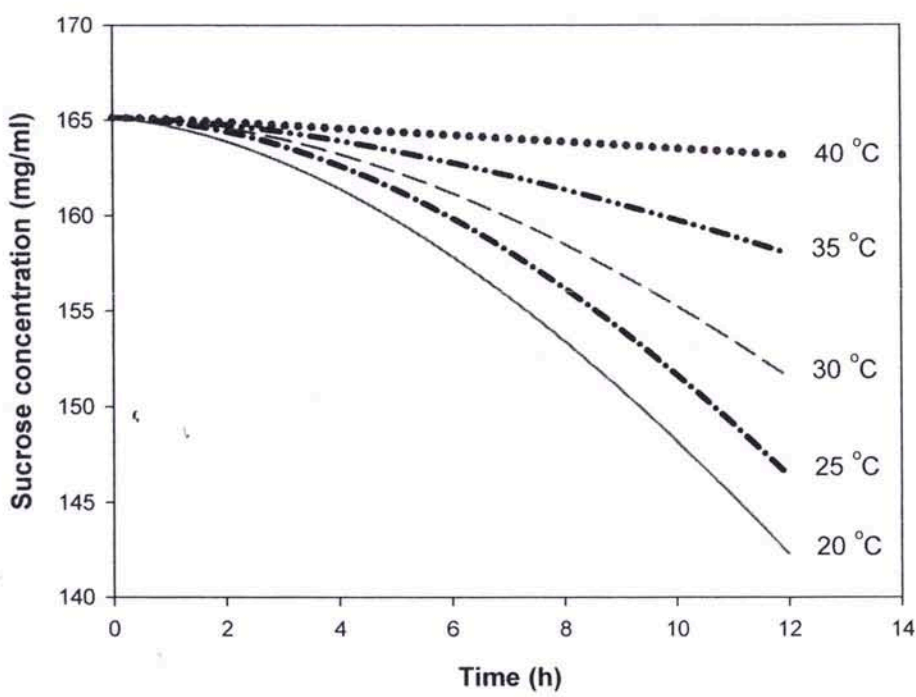
ภาพ 51 การทำนายการผลิตฟรุคโตสของ *W. cibaria* ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายที่อุณหภูมิต่างๆ จากแบบจำลองที่ได้



ภาพ 52 การทำนายการผลิตเด็กซ์แทรนของ *W. cibaria* ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายที่อุณหภูมิต่างๆ จากแบบจำลองที่ได้

เมื่อพิจารณาด้านการใช้เชื้อโครสจากการทำนายของแบบจำลองที่ได้ (ภาพ 53) โดยมีปริมาณเชื้อโครสดั้งต้นประมาณ 165.33 mg/ml พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีการใช้เชื้อโครสสูงที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อโครสลดต่ำลงมากที่สุดและมีแนวโน้มลดลงมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณเชื้อโครสเหลือเพียงประมาณ 142.32 mg/ml นั่นคือมีการสูญเสียเชื้อโครสประมาณ 23.01 mg/ml การทำนายการสูญเสียเชื้อโครสจากแบบจำลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าการสูญเสียเชื้อโครสสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส รองลงมาคือที่ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งการสูญเสียเชื้อโครสจะลดต่ำลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีการสูญเสียโครสดำที่ต่ำที่สุด โดยในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณเชื้อโครสเหลือประมาณ 163.39 mg/ml นั่นคือมีการสูญเสียเชื้อโครสเพียง 1.94 mg/ml

จากการทำนายของแบบจำลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนโครส การผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสได้ดีที่สุด และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถลดการสูญเสียโครสเนื่องจาก *W. cibaria* ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายได้ดีที่สุด



ภาพ 53 การทำนายการใช้ซูโครสของ *W. cibaria* ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายที่อุณหภูมิต่างๆ จากแบบจำลองที่ได้