

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษานิตและปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายของโรงงานน้ำตาลแห่งหนึ่งในเขตภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย ในตัวอย่างน้ำอ้อยจากลูกหีบชุดที่ 1 (FM) น้ำอ้อยในถังรวม (MJ) และน้ำอ้อยที่ผ่านถึงดักทราย (FJ) พบว่าน้ำอ้อยจากทั้ง 3 จุด มีค่าพีเอชไม่แตกต่างกัน (5.2) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ใกล้เคียงกัน (20 14.6 และ 14.8 องศาบริกซ์ ตามลำดับ) สำหรับปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนพบว่า FM มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) ปริมาณยีสต์ราทั้งหมด (TYM) ปริมาณแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด (TLAB) และปริมาณ *Leuconostoc* spp. (TLS) ทั้งหมด เท่ากับ 9.58 5.40 11.18 และ 8.78 log₁₀cfu/ml ตามลำดับ น้ำอ้อย MJ มีปริมาณ TPC TYM TLAB และ *Leuconostoc* spp. เท่ากับ 9.61 5.79 11.61 และ 8.73 log₁₀cfu/ml ตามลำดับ ส่วนน้ำอ้อย FJ มีปริมาณ TPC TYM TLAB และ *Leuconostoc* spp. เท่ากับ 8.86 5.75 11.97 และ 8.70 log₁₀cfu/ml ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์หลักที่พบในน้ำอ้อยได้แก่แบคทีเรียแลคติก และน้ำอ้อย MJ มีปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทุกชนิดต่ำที่สุด เมื่อทำการแยกโคโลนีที่มีคุณสมบัติคล้าย *Leuconostoc* spp. จากน้ำอ้อยทั้งสามตัวอย่างจำนวน 18 โคโลนี เพื่อทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่า มี 5 โคโลนีที่สามารถสร้าง EPS ได้ดี และมี 3 โคโลนีที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายคลึงกับ *Leuconostoc* spp. ซึ่งผลการระบุสายพันธุ์ด้วยเทคนิค 16s RNA gene sequencing พบว่าประกอบไปด้วยแบคทีเรียแลคติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Weissella cibaria* *Lactobacillus fermentum* และ *Lactobacillus paracasei* subsp. *Tolerans* เมื่อทำการศึกษาระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของจุลินทรีย์ดังกล่าว พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์มีระดับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียสไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 โดย *Weissella cibaria* มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูงสุด เท่ากับ 0.236 หน่วยต่อมล. ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จึงได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียนี้มาทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่ออัตราการเติบโต อัตราการผลิตเอนไซม์ อัตราการใช้ซูโครส และอัตราการเกิดฟูกโดสในน้ำอ้อยในขั้นตอนต่อไป

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสของ *W. cibaria* ในน้ำอ้อย พบว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดี มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครสสูง อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสในปริมาณสูง ส่งผลให้มีการสูญเสียซูโครสในปริมาณสูง โดย *W. cibaria* มีเจริญเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสสูงสุดเท่ากับ $9.23 \log_{10}\text{cfu/ml}$ $2.89 \pm 0.01 \text{ DSU/ml}$ 3.65 ± 0.18 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง 2.68 ± 0.03 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 2.04 ± 0.07 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น *W. cibaria* สามารถเจริญได้น้อยลง โดยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้เพียงเล็กน้อย ส่งผลให้ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและ ฟรุกโตสต่ำลงด้วย โดยมีอัตราการเจริญเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส เท่ากับ $1.39 \log_{10}\text{cfu/ml}$ $0.12 \pm 0.00 \text{ DSU/ml}$ 0.10 ± 0.03 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง 0.04 ± 0.00 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.12 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของ *W. cibaria* โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสลดลง ส่งผลทำให้อัตราการใช้ซูโครสและอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนรวมถึงฟรุกโตสต่ำ จากผลการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการลดการสูญเสียซูโครสเนื่องจาก *W. cibaria*

ผลการศึกษาผลของสารชีวฆาตต่ออัตราการเจริญเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส อัตราการใช้ซูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสของ *W. cibaria* ในน้ำอ้อยพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *W. cibaria* ได้ดี และไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส จึงเป็นผลทำให้ไม่มีการผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสเกิดขึ้น ทำให้เกิดการสูญเสียซูโครสในปริมาณต่ำ ที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 5 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *W. cibaria* ได้ แต่ยังคงพบระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดี และมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสสูง ส่งผลทำให้อัตราการใช้ซูโครสที่สูง และมีอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสในปริมาณสูง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรน

ชูโครส โดยเมื่อระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตเพิ่มขึ้นมีผลทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้น้อยลง มีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนชูโครสลดลง ส่งผลทำให้อัตราการใช้ชูโครสและอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนรวมถึงฟรุกโตสต่ำลงด้วย ดังนั้นระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตที่เหมาะสมมากที่สุดสำหรับการลดการสูญเสียชูโครสคือที่ 10 ppm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและสารชีวฆาตต่ออัตราการเจริญเติบโต ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนชูโครส อัตราการใช้ชูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส พบว่าทั้งอุณหภูมิและระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาตมีอิทธิพลร่วมต่อดัชนีการศึกษาทุกตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กับตัวแปรอื่นๆ ได้แก่ ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนชูโครส อัตราการใช้ชูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส พบว่าการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับตัวแปรทั้งหมด ($p < 0.05$) นั่นคือเมื่อจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นย่อมส่งผลให้ระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนชูโครส อัตราการใช้ชูโครส อัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 10 ppm ที่ทุกอุณหภูมิสามารถลดการสูญเสียชูโครสเนื่องจาก *W. cibaria* ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายได้ดีที่สุด เนื่องจากสภาวะดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ โดยไม่พบการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนชูโครส การผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตส ในขณะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และระดับความเข้มข้นของสารชีวฆาต 0 ppm *W. cibaria* สามารถเจริญเติบโตได้ดีและมีระดับกิจกรรมเอนไซม์เด็กซ์แทรนชูโครสสูงสุด เท่ากับ $9.23 \pm 0.01 \log_{10} \text{cfu/ml}$ และ $2.89 \pm 0.14 \text{ DSU/ml}$ ตามลำดับ เป็นสภาวะที่มีอัตราการใช้ชูโครสและอัตราการเกิดเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสในปริมาณสูงสุด

เพื่อให้สามารถทำนายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในน้ำอ้อยที่มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตเด็กซ์แทรน และหาสภาวะของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการลดการสูญเสียชูโครสในกระบวนการผลิตน้ำตาลได้ จึงได้มีการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของอัตราการเจริญเติบโต อัตราการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนชูโครส อัตราการใช้ชูโครส อัตราการผลิตเด็กซ์แทรนและอัตราการผลิตฟรุกโตสของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำอ้อยขึ้นที่อุณหภูมิระหว่าง 20 – 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ระบบสมการเชิงอนุพันธ์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากการเปรียบเทียบเส้นโค้งที่เหมาะสมระหว่างแบบจำลองและข้อมูลจากการทดลองโดยอาศัยโปรแกรมสำเร็จรูป Berkeley Madonna สามารถนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ต้องการศึกษากับอุณหภูมิได้ และเมื่อทวนสอบ

ความถูกต้องของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้เปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้อธิบาย อัตราการเติบโต อัตราการใช้ซูโครส อัตราการผลิตเด็กซ์แทรนและฟรุกโตสของ *W. cibaria* และ *L. mesenteroides* TISTR 473 ได้ดี และสามารถอธิบายแนวโน้มการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสได้ โดยมีแนวโน้มการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสมากขึ้นเมื่อเวลาในการเพาะเลี้ยงนานขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. การปรับค่าพีเอชในน้ำอ้อยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ให้อยู่ในช่วง pH 5.0 – 5.5 จะช่วยให้เกิดการผลิตเด็กซ์แทรนได้ดี
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดและระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อชีวภาพที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นอกเหนือจากที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ เนื่องจากระดับความเข้มข้นของสารชีวภาพที่ใช้ในการศึกษานี้ (5 และ 10 ppm) มีผลในการยับยั้งการผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครสของแบคทีเรียทดสอบทั้งสองสายพันธุ์ได้เกือบสมบูรณ์ จึงไม่สามารถนำข้อมูลมาใช้ในการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการเจริญเติบโต การผลิตเอนไซม์เด็กซ์แทรนซูเครส การใช้ซูโครส การผลิตเด็กซ์แทรนและการผลิตฟรุกโตสที่สัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อชีวภาพได้