

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การคัดเลือกยีสต์สำหรับผลิตเอทานอล โดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง

จากการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากยีสต์ 5 ชนิด ได้แก่ *Saccharomyces burgundy* (SB), *Saccharomyces* sp. (S1), *Saccharomyces cerevisiae* (S3), *Saccharomyces* sp. (TC2) และ *Saccharomyces* sp. (TC6) จากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง (SCS) ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 170.28 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ไม่มีการเขย่า เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วจึงคำนวณค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น ความเข้มข้นเอทานอล โดยปริมาตร ความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมัก ผลผลิตเอทานอล ผลผลิตมวเซลล์ และปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี ซึ่งแสดงในตารางที่ 4-1

จากการทดลองพบว่ายีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ SB, S1, S3, TC2 และ TC6 ให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร เท่ากับ 9.70, 9.67, 10.33, 8.80 และ 9.97 % (v/v) ตามลำดับ ให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก เท่ากับ 76.49, 75.89, 81.12, 69.08 และ 78.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณน้ำตาลที่เหลือ เท่ากับ 10.65, 4.24, 3.33, 17.61 และ 3.27 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าผลผลิตเอทานอล มีค่าเท่ากับ 0.4788, 0.4507, 0.4859, 0.4525 และ 0.4685 กรัมต่อกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าผลผลิตมวเซลล์มีค่าเท่ากับ 0.0523, 0.0642, 0.0541, 0.0494 และ 0.0555 กรัมต่อกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี นั้นมีค่าเท่ากับ 93.70, 89.43, 95.08, 88.31 และ 91.68 % ตามลำดับ เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ เหล่านี้มาทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) พบว่ายีสต์ทั้ง 5 ชนิดให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร ความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ อัตราผลผลิตเอทานอล และปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนค่าผลผลิตมวเซลล์นั้นพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า ยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ มีความสามารถในการผลิต เอทานอลโดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน ได้ไม่แตกต่างกัน และจากการวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลโดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography พบว่าน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง มีกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ มอลโตส และ มอลโตไตรโอส เล็กน้อย (ภาคผนวก ง) เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้จะทำการหายีสต์สายพันธุ์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน

โดยค้นหายีสต์สายพันธุ์ใหม่ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอล ซึ่งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces* sp. (TC6) และ *Saccharomyces* sp. (TC2) เป็นยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน ในบริเวณทางน้ำทิ้งจากหอกลั่นเอทานอลของโรงงานผลิตเอทานอล และมีลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่คล้ายกันคือ มีรูปร่างกลม หรือ รี และมีการแตกหน่อ (Budding) ตรงขั้ว จึงคาดว่ายีสต์ทั้งสองชนิดน่าจะเป็นสายพันธุ์เดียวกัน จึงได้คัดเลือกยีสต์ *Saccharomyces* sp. (TC6) มาทำการทดสอบในขั้นต่อไป และจากการนำยีสต์ *Saccharomyces* sp. (TC6) ไปทำการจัดจำแนกโดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยา พบว่า ยีสต์ *Saccharomyces* sp. (TC6) นี้จัดอยู่ในสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกับ *Saccharomyces cerevisiae* S12 AY218890 โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (% Similarity) เท่ากับ 99 % (ภาคผนวก ก) ดังนั้นยีสต์ TC6 ก็คือ *Saccharomyces cerevisiae*

ตารางที่ 4-1 ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ จากการหมักแบบแบดซ์ของเชื้อยีสต์ 5 ชนิด โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 170.28 กรัมต่อลิตร ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่เขย่า เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Yeasts	Parameters					
	V	P	S	Y _{p/s}	Y _{x/s}	E _T
SB	9.70±0.36	76.49±2.78	10.65±12.30	0.4788±0.0387	0.0523±0.0017*	93.70±7.56
S1	9.67±0.06	75.89±0.46	4.24±0.45	0.4507±0.0015	0.0642±0.0011**	89.43±0.30
S3	10.33±0.25	81.12±1.97	3.33±0.28	0.4859±0.0110	0.0541±0.0017*	95.08±2.16
TC2	8.80±1.15	69.08±9.06	17.61±9.60	0.4525±0.0344	0.0494±0.0088*	88.31±6.58
TC6	9.97±0.23	78.24±1.81	3.27±0.11	0.4686±0.0105	0.0555±0.0021*	91.68±2.07

* คือ $p < 0.05$

V คือ ความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (% (v/v))

P คือ ความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก กรัมต่อลิตร (g/l)

S คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมัก กรัมต่อลิตร (g/l)

Y_{p/s} คือ ผลผลิตเอทานอล มีหน่วยเป็นกรัมต่อกรัมต่อลิตร (g/g/l)

Y_{x/s} คือ ผลผลิตมวลเซลล์ มีหน่วยเป็นกรัมต่อกรัมต่อลิตร (g/g/l)

E_T คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี (%)

ผลของชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการผลิตเอทานอลโดยยีสต์ที่คัดเลือกได้

จากการศึกษาผลของการเติมแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ที่คัดเลือกมาได้คือ *S. cerevisiae* TC6 โดยใช้สารละลาย SCS ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 200 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และมีการเติมแหล่งไนโตรเจน 5 ชนิด ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต ยูเรีย สารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลือง ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 4 และ 8 กรัมต่อลิตร โดยมีการทดลองควบคุมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสารละลาย SCS ที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่เขย่า เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาจึงทำการเก็บน้ำหมักมาวิเคราะห์และคำนวณค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4-2 ถึง 4-7

ตารางที่ 4-2 ค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตร เมื่อทำการหมักเอทานอล โดยใช้สารละลาย SCS เป็นแหล่งคาร์บอน มีการเติมแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไป 5 ชนิด เปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

N sources	Concentration (g/l)				
	0	1	2	4	8
Control	7.17±0.38*	-	-	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	7.83±0.70*	7.11±0.77*	6.47±0.42*	6.55±0.05*
Urea	-	9.48±0.75**	10.69±0.47**	10.77±0.47**	10.16±0.69**
Yeast extract	-	12.80±0.69***	12.72±0.69***	13.92±0.61***	13.99±1.49***
Soy flour	-	13.61±0.96***	11.99±1.10***	12.78±0.18***	11.96±0.60***
Soy liquor	-	11.66±0.33***	12.23±1.61***	13.96±0.47***	13.25±1.27***

* คือ $p < 0.05$ เมื่อคำนวณจากชนิดของแหล่งไนโตรเจน

จากตารางที่ 4-2 เมื่อพิจารณาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร พบว่าเมื่อใช้ยูเรีย สารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลือง เป็นแหล่งไนโตรเจน ทุกระดับความเข้มข้นจะช่วยให้ยีสต์มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับการทดลองควบคุม โดยผลของการเพิ่มความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนพบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของยูเรียให้สูงขึ้น การผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มสูงขึ้น และจะเริ่มมีแนวโน้มคงที่ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร โดยที่ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรสูงเท่ากับ 10.77 % (v/v) เมื่อเติมสารสกัดจากยีสต์

โดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นค่าการผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มสูงขึ้น และจะเริ่มมีแนวโน้มคงที่ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรสูงที่สุดเท่ากับ 13.99 % (v/v) เมื่อเติมแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้น ค่าการผลิตเอทานอลกลับมีแนวโน้มลดลงจนเริ่มมีแนวโน้มคงที่ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรสูงถึง 13.61 % (v/v) เมื่อเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้น ค่าการผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และเริ่มมีแนวโน้มคงที่ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร โดยที่ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตรจะให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรสูงถึง 13.96 % (v/v) ในขณะที่การเติมแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร จะช่วยให้การผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตให้สูงขึ้นกลับพบว่าการผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 4-3 ค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยน้ำหนัก เมื่อทำการหมักเอทานอลโดยใช้สารละลาย SCS เป็นแหล่งคาร์บอน มีการเติมแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไป 5 ชนิด เปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

N sources	Concentration (g/l)				
	0	1	2	4	8
Control	56.28±3.01*	-	-	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	61.45±5.52*	55.80±6.05*	50.82±3.28*	51.43±0.38*
Urea	-	74.44±5.86**	83.98±3.65**	84.58±3.66**	79.73±4.86**
Yeast extract	-	100.50±5.44***	99.86±5.40***	101.40±4.77***	109.87±11.72***
Soy flour	-	106.85±7.56***	94.14±8.60***	100.33±8.60***	93.89±4.73***
Soy liquor	-	91.57±2.56***	96.00±12.67***	109.57±3.70***	104.03±10.00***

* คือ $p < 0.05$ เมื่อคำนวณจากชนิดของแหล่งไนโตรเจน

จากตารางที่ 4-3 เมื่อพิจารณาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก จากการทดลองค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนักที่ได้จะคำนวณมาจากค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร ดังนั้นจึงมีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของการผลิตเอทานอลที่คล้ายกัน โดยเมื่อใช้ยูเรีย สารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลืองทุกระดับความเข้มข้น จะช่วยให้การผลิตเอทานอลเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับการทดลองควบคุม โดยการใช้สารสกัดจากยีสต์ ที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าความเข้มข้นเอทานอล

โดยน้ำหนักสูงที่สุดเท่ากับ 109.89 กรัมต่อลิตร ส่วนการใช้แป้งถั่วเหลืองที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนักสูงถึง 106.85 กรัมต่อลิตร และเมื่อใช้น้ำแป้งถั่วเหลืองที่ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าความเข้มข้น เอทานอลโดยน้ำหนักสูงถึง 109.57 กรัม ต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4-4 ค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจากการหมัก เมื่อทำการหมักเอทานอลโดยใช้สารละลาย SCS เป็นแหล่งคาร์บอน มีการเติมแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไป 5 ชนิด เปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

N sources	Concentration (g/l)				
	0	1	2	4	8
Control	54.56±8.75****	-	-	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	19.15±11.70**	36.61±1.13**	45.81±9.42**	33.19±1.55**
Urea	-	9.67±2.71*	8.20±2.12*	8.18±3.42*	4.02±0.71*
Yeast extract	-	9.55±1.78*	4.46±0.72*	3.38±0.13*	2.88±0.15*
Soy flour	-	25.31±1.19**	30.87±1.11**	31.95±1.85**	29.42±6.92**
Soy liquor	-	50.48±1.14***	41.72±2.34***	30.44±1.51***	27.72±0.47***

* คือ $p < 0.05$ เมื่อคำนวณจากชนิดของแหล่งไนโตรเจน

จากตารางที่ 4-4 เมื่อพิจารณาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจากการหมัก พบว่าเติมแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ ลงไป ทุกระดับความเข้มข้น จะช่วยให้ปริมาณน้ำตาลที่เหลือมีค่าน้อยกว่าการทดลองควบคุม โดยเมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟตเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 4 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลที่เหลือจะมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร พบว่าจะมีแนวโน้มคงที่ โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจากการหมักน้อยกว่า 19.15 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมยูเรียโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 4 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจะมีแนวโน้มคงที่ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลจะมีแนวโน้มลดลงอย่างมาก โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจากการหมักน้อยกว่า 4.02 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมสารสกัดจากยีสต์โดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 2 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจะมีแนวโน้มลดลงอย่างมาก แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้น จะมีแนวโน้มคงที่ โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจากการหมักน้อยที่สุดเท่ากับ 2.88

กรัมต่อลิตร เมื่อเติมแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้น พบว่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจะมีแนวโน้มคงที่ โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณ น้ำตาลที่เหลือจากการหมักน้อยเท่ากับ 25.31 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้น พบว่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือ จะมีแนวโน้มลดลง โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือจากการหมักน้อยเท่ากับ 27.72 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4-5 ค่าผลผลิตเอทานอล เมื่อทำการหมักเอทานอลโดยใช้สารละลาย SCS เป็นแหล่งคาร์บอน มีการเติมแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงไป 5 ชนิด เปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

N sources	Concentration (g/l)				
	0	1	2	4	8
Control	0.42±0.07**	-	-	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	0.32±0.03*	0.31±0.03*	0.30±0.01*	0.28±0.00*
Urea	-	0.36±0.03**	0.41±0.02**	0.41±0.01**	0.38±0.02**
Yeast extract	-	0.49±0.03****	0.48±0.03****	0.48±0.02****	0.52±0.06****
Soy flour	-	0.45±0.01***	0.45±0.00***	0.45±0.01***	0.46±0.00***
Soy liquor	-	0.46±0.01****	0.47±0.00****	0.45±0.01****	0.54±0.17****

* คือ $p < 0.05$ เมื่อคำนวณจากชนิดของแหล่งไนโตรเจน

จากตารางที่ 4-5 เมื่อพิจารณาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าผลผลิตเอทานอล พบว่าเมื่อใช้สารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลือง ทุกระดับความเข้มข้นจะช่วยให้ได้ค่าผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการทดลองควบคุม กล่าวคือ เมื่อเติมสารสกัดจากยีสต์โดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 4 กรัมต่อลิตร พบว่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มคงที่ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร พบว่าจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าผลผลิตเอทานอลสูงถึง 0.52 กรัมต่อกรัมต่อลิตร เมื่อเติมแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้น พบว่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มคงที่ โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าผลผลิตเอทานอลสูงถึง 0.46 กรัมต่อกรัมต่อลิตร เมื่อเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 4 กรัมต่อลิตร พบว่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มคงที่ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร พบว่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มที่สูงขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 0.54 กรัมต่อกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4-6 ค่าผลผลิตมวลเซลล์ เมื่อทำการหมักเอทานอลโดยใช้สารละลาย SCS เป็นแหล่งคาร์บอน มีการเติมแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไป 5 ชนิด เปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

N sources	Concentration (g/l)				
	0	1	2	4	8
Control	0.05±0.01**	-	-	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	0.03±0.00*	0.03±0.00*	0.03±0.00*	0.03±0.00*
Urea	-	0.03±0.00*	0.03±0.01*	0.03±0.01*	0.04±0.01*
Yeast extract	-	0.03±0.01**	0.04±0.01**	0.05±0.00**	0.05±0.00**
Soy flour	-	0.08±0.01****	0.08±0.02****	0.09±0.02****	0.09±0.01****
Soy liquor	-	0.06±0.01***	0.05±0.01***	0.06±0.00***	0.07±0.01***

* คือ $p < 0.05$ เมื่อคำนวณจากชนิดของแหล่งไนโตรเจน

จากตารางที่ 4-6 เมื่อพิจารณาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อค่าผลผลิตมวลเซลล์ พบว่า เมื่อใช้ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลือง ทุกระดับความเข้มข้น จะช่วยให้ค่าผลผลิตมวลเซลล์สูงกว่าการทดลองควบคุม โดยเมื่อเติมแป้งถั่วเหลือง เพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 2 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าผลผลิตมวลเซลล์จะมีแนวโน้มคงที่ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นเป็น 4 กรัมต่อลิตร พบว่าผลผลิตมวลเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และเริ่มจะมีแนวโน้มที่ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร โดยที่ระดับความเข้มข้น 4 และ 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าผลผลิตมวลเซลล์สูงที่สุดเท่ากับ 0.09 กรัมต่อกรัมต่อลิตร เมื่อเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตรเป็น 4 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าผลผลิตมวลเซลล์จะมีแนวโน้มคงที่ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร พบว่าผลผลิตมวลเซลล์จะมีแนวโน้มที่สูงขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าผลผลิตมวลเซลล์สูงเท่ากับ 0.07 กรัมต่อกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4-7 ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี เมื่อทำการหมักเอทานอลโดยใช้สารละลาย SCS เป็นแหล่งคาร์บอน มีการเติมแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไป 5 ชนิด เปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

N sources	Concentration (g/l)				
	0	1	2	4	8
Control	82.76±13.26***	-	-	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	61.59±6.26*	61.30±6.59*	58.87±1.55*	55.44±0.65*
Urea	-	71.04±5.43**	79.55±3.61**	80.11±2.31**	74.06±4.77**
Yeast extract	-	95.89±5.15*****	92.93±4.80*****	93.89±4.37*****	101.49±10.87*****
Soy flour	-	88.67±1.19****	89.14±0.68****	88.53±1.93****	90.13±0.56****
Soy liquor	-	89.34±1.19****	90.92±0.48****	88.84±2.32****	86.73±0.63****

* คือ $p < 0.05$ เมื่อคำนวณจากชนิดของแหล่งไนโตรเจน

จากตารางที่ 4-7 เมื่อพิจารณาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี พบว่า เมื่อใช้สารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และ น้ำแป้งถั่วเหลือง ทุกระดับความเข้มข้น จะให้ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี สูงกว่า การทดลองควบคุม โดยเมื่อเติมสารสกัดจากยีสต์โดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัม ต่อลิตร เป็น 4 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าปริมาณเอทานอล จะมีแนวโน้มลดลง แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร กลับพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีสูงที่สุดเท่ากับ 101.49 % เมื่อเติมแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 4 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าปริมาณเอทานอล จะมีแนวโน้มคงที่ และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจนถึง 8 กรัมต่อลิตร จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีสูงเท่ากับ 90.13 % เมื่อเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่อลิตร เป็น 2 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าปริมาณ เอทานอลจะมีแนวโน้มคงที่ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นกลับพบว่ามีแนวโน้มลดลง โดยที่ระดับความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีสูงถึง 90.92 %

เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนัก นำมาทำการทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) พบว่าปัจจัยชนิดของแหล่งไนโตรเจนมีผลทำให้เกิดความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ปัจจัยระดับความเข้มข้นไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยให้ค่า

นัยสำคัญเท่ากับ 0.000 และ 0.456 ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้การทดสอบหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) ทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan's New Multiple Range Test พบว่าปัจจัยชนิดของแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ สารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลือง จะให้ค่าไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับตัวเอง แต่จะให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับแหล่งไนโตรเจนแหล่งอื่น ๆ และการทดลองควบคุม ส่วนปัจจัยระดับความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน ไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างแหล่งไนโตรเจน แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองควบคุม ดังนั้นแหล่งไนโตรเจนที่น่าจะเหมาะสมสำหรับการทดลองขั้นต่อไป ได้แก่ เป็นสารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลือง แต่เนื่องจากการใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจนจะมีต้นทุนที่สูง ส่วนการใช้แป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน จะก่อให้เกิดปัญหาในการหมัก คือ เกิดตะกอน ทำให้รบกวนการหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้งได้ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงใช้น้ำแป้งถั่วเหลืองที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร เป็นไนโตรเจน

การหมักเอทานอลแบบเบดซ์โดยขยายขนาดเป็น 3 ลิตร

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลจากสารละลาย SCS โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* TC6 ทำการหมักแบบเบดซ์ ในถังหมักขนาด 5 ลิตรที่บรรจุสารละลาย SCS ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นประมาณ 200 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2,670 มิลลิลิตร โดยมีการเติม น้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงไปเป็นแหล่งไนโตรเจน เติมหิวเชื้อยีสต์ตั้งต้นปริมาตร 300 มิลลิลิตร ทำให้มีปริมาตรในการผลิตทั้งหมด (Working Volume) เท่ากับ 3,000 มิลลิลิตร โดยมีการแปรผันความเร็วในการกวนเป็น 50, 100, 200 และ 400 รอบต่อนาที สำหรับการทดลองควบคุม จะไม่มีการกวน แต่จะมีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงไป ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4-8

จากตารางที่ 4-8 เมื่อพิจารณาผลของความเร็วในการกวนต่อความเข้มข้นของเอทานอล โดยปริมาตรและโดยน้ำหนักเมื่อ พบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจาก 50 ไปจนถึง 200 รอบต่อนาที การผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มที่สูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนเป็น 400 รอบต่อนาที การผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มลดลง โดยการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนักสูงที่สุดคือ 10.12 % (v/v) และ 79.35 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4-8 ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ จากการหมักแบบแบตช์ ที่มีการแปรผันความเร็วในการกวนเป็น 50, 100, 200 และ 400 รอบต่อนาที (RPM.) โดยใช้การทดลองควบคุม (C) เป็นการเติมแหล่งไนโตรเจน แต่ไม่มีการกวน

RPM.	Parameters					
	V	P	S	Yp/s	Yx/s	E _T
C	8.40±0.15***	65.98±1.19***	60.11±6.75**	0.47±0.02**	0.04±0.00**	92.63±3.48**
50	6.35±0.31 *	49.89±2.43*	74.54±6.28***	0.46±0.02**	0.07±0.00***	88.98±3.61**
100	8.00±0.17**	62.77±1.36**	66.48±2.30***	0.58±0.00***	0.07±0.00***	113.02±0.23****
200	10.12±0.86****	79.35±6.77****	55.51±3.59*	0.51±0.03***	0.04±0.00**	100.07±6.41***
400	9.11±0.29***	71.51±2.25***	72.54±3.09***	0.44±0.01*	0.03±0.00*	84.28±1.27*

* คือ $p < 0.05$

V คือ ความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (% (v/v))

P คือ ความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก กรัมต่อลิตร (g/l)

S คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมัก กรัมต่อลิตร (g/l)

Yp/s คือ ผลผลิตเอทานอล มีหน่วยเป็นกรัมต่อกรัมต่อลิตร (g/g/l)

Yx/s คือ ผลผลิตมวลเซลล์ มีหน่วยเป็นกรัมต่อกรัมต่อลิตร (g/g/l)

E_T คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี (%)

ผลของการกวนต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมักพบว่า เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจาก 50 เป็น 200 รอบต่อนาที ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจะมีแนวโน้มลดลง แต่เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนเป็น 400 รอบต่อนาที ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมักน้อยที่สุดเท่ากับ 55.51 กรัมต่อลิตร

ผลของการกวนต่อผลผลิตเอทานอลพบว่า เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจาก 50 เป็น 100 รอบต่อนาที ค่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนให้สูงขึ้นไปอีกกลับพบว่าค่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มที่ลดลง โดยการกวนด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที จะให้ผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 0.58 กรัมต่อกรัมต่อลิตร

ผลของการกวนต่อผลผลิตมวลเซลล์ พบว่าค่าผลผลิตยีสต์มีแนวโน้มคงที่เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจาก 50 เป็น 100 รอบต่อนาที และจะมีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนให้สูงขึ้น โดยที่ความเร็วในการกวน 50 และ 100 รอบต่อนาที จะให้ค่าผลผลิตมวลเซลล์สูงที่สุดเท่ากับ 0.07 กรัมต่อกรัมต่อลิตร

ผลของการกวนต่อปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี พบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจาก 50 เป็น 100 รอบต่อนาที ค่าปริมาณเอทานอลจะมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนให้สูงขึ้นกลับพบว่าค่าปริมาณเอทานอลจะมีแนวโน้มลดลง โดยที่ความเร็วในการกวน 100 รอบต่อนาที จะให้ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีสูงที่สุดเท่ากับ 113.02 %

เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนัก นำมาทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยให้ค่านัยสำคัญเท่ากับ 0.000 ทั้งสองพารามิเตอร์ จึงนำมาทดสอบหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) โดยทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan's New Multiple Range Test พบว่าในสภาวะการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะในการหมักแบบอื่น ๆ ดังนั้นจึงใช้สภาวะการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที และเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ในการทดลองขั้นต่อไป

การหมักเอทานอลแบบเฟดแบคซ์โดยขยายขนาดเป็น 3 ลิตร

การผลิตเอทานอลแบบเฟดแบคซ์ จะทำการเลี้ยงยีสต์เช่นเดียวกับการผลิตเอทานอลแบบแบคซ์ แต่จะใช้ปริมาตรในการผลิตเริ่มต้น (Initial Volume) 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลาย SCS ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นประมาณ 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 670 มิลลิลิตร มีการเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ลงไปปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทำการหมักแบบแบคซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการหมักแบบเฟดแบคซ์ โดยมีกำหนดอาหารการเติมอาหาร (Feed Rate, F) ลงไปด้วยอัตราเร็ว 3 อัตรา โดยคำนวณอัตราการเติมอาหารจากสูตร $F = F_0 e^{\mu t}$ ให้ค่า $\mu = \mu_{\max}$ $\mu = 2/3 \mu_{\max}$ และ $\mu = 1/3 \mu_{\max}$ ตามลำดับ ทำการเติมอาหารลงไปแบบทวีคูณ (Exponential Feed) โดยมีการปรับความเร็วในการเติมอาหารลงไป 3 ครั้ง ที่เวลา 6, 8 และ 10 ชั่วโมง จากนั้นจึงใช้การเติมอาหารเป็นแบบคงที่ (Constant Feed) ทำให้มีอัตราความเร็วในการเติมอาหารแบบคงที่หลังจากชั่วโมงที่ 10 เท่ากับ 0.1309, 0.0706 และ 0.0441 ลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งจะใช้สารละลาย SCS ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร เป็นอาหารที่ใช้เติม (Feed Medium) ทำให้มีปริมาตรในการหมักทั้งหมดเท่ากับ 3,000 มิลลิลิตร ใช้ความเร็วในการกวน 200 รอบต่อนาที สำหรับการทดลองควบคุมจะไม่มีกวน แต่จะมีการเติมแหล่งในโตรเจนลงไป ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4-9

ตารางที่ 4-9 ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ จากการหมักแบบเฟดเบคซ์โดยมีการแปรผันอัตราในการเติมอาหาร โดยให้ค่า $\mu = \mu_{\max}$, $\mu = 2/3\mu_{\max}$ และ $\mu = 1/3\mu_{\max}$ ตามลำดับ โดยมี การทดลองควบคุม (C) เป็นการเติมแหล่งไนโตรเจน แต่ไม่มีการกวน

Feed Rate	Parameters					
	V	P	S	Yp/s	Yx/s	E _T
C	8.40±0.15*	65.98±1.19*	60.11±6.75**	0.47±0.11*	0.04±0.00*	92.63±3.48*
$\mu = \mu_{\max}$	8.81±0.23**	69.18±1.78**	43.50±2.14*	0.47±0.01*	0.05±0.00***	91.35±1.05*
$\mu = 2/3\mu_{\max}$	8.83±0.20**	69.34±1.56**	70.99±4.72***	0.49±0.01*	0.05±0.00**	94.46±1.23*
$\mu = 1/3\mu_{\max}$	8.36±0.04*	65.63±0.33*	64.56±4.26***	0.51±0.01**	0.05±0.00***	99.41±2.79**

* คือ $p < 0.05$

V คือ ความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (% (v/v))

P คือ ความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก กรัมต่อลิตร (g/l)

S คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมัก กรัมต่อลิตร (g/l)

Yp/s คือ ผลผลิตเอทานอล มีหน่วยเป็นกรัมต่อกรัมต่อลิตร (g/g/l)

Yx/s คือ ผลผลิตมวลเซลล์ มีหน่วยเป็นกรัมต่อกรัมต่อลิตร (g/g/l)

E_T คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี (%)

จากตารางที่ 4-9 เมื่อพิจารณาผลของปัจจัยอัตราการเติมอาหาร ต่อความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนัก พบว่าเมื่อปรับลดอัตราการเติมอาหาร โดยให้ค่า $\mu = \mu_{\max}$ เป็น $\mu = 2/3\mu_{\max}$ ค่าการผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ แต่เมื่อปรับลดอัตราการเติมอาหาร โดยให้ค่า $\mu = 1/3\mu_{\max}$ ค่าการผลิตเอทานอลจะลดลง โดยการปรับระดับอัตราการเติมอาหารให้ค่า $\mu = 2/3\mu_{\max}$ จะให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตร และโดยน้ำหนักสูงที่สุดเท่ากับ 8.83 % (v/v) และ 69.34 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลของอัตราการเติมอาหารต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมัก พบว่าเมื่อปรับลดอัตราการเติมอาหาร โดยให้ค่า $\mu = \mu_{\max}$ เป็น $\mu = 2/3\mu_{\max}$ ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่เมื่อปรับลดอัตราการให้อาหารให้ค่า $\mu = 1/3\mu_{\max}$ ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย โดยการปรับระดับอัตราการเติมอาหารให้ค่า $\mu = \mu_{\max}$ จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมักน้อยที่สุดเท่ากับ 43.50 กรัมต่อลิตร

ผลของอัตราการเติมอาหารต่อค่าผลผลิตเอทานอล พบว่าเมื่อปรับลดอัตราการเติมอาหารไปเรื่อย ๆ ค่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยเมื่อปรับอัตราการเติมอาหารให้ค่า

$\mu = 1/3\mu_{\max}$ จะให้ค่าผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 0.51 กรัมต่อกรัมต่อลิตร

ผลของอัตราการเติมอาหารต่อค่าผลผลิตมวลเซลล์ พบว่าเมื่อปรับลดอัตราการเติมอาหารไปเรื่อย ๆ ค่าผลผลิตมวลเซลล์จะมีแนวโน้มคงที่ โดยให้ค่าผลผลิตมวลเซลล์เท่ากับ 0.05 กรัมต่อกรัมต่อลิตร

ผลของอัตราการเติมอาหารต่อปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี พบว่าเมื่อปรับลดอัตราการเติมอาหารไปเรื่อย ๆ ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีจะมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยการปรับระดับอัตราการเติมอาหารให้ค่า $\mu = 1/3\mu_{\max}$ จะให้ค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีที่สูงที่สุดเท่ากับ 99.41 %

เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตร และโดยน้ำหนัก นำมาทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยให้ค่านัยสำคัญเท่ากับ 0.014 ทั้งสองพารามิเตอร์ จึงนำมาทดสอบหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) โดยทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan พบว่าในสภาวะการปรับอัตราการเติมอาหาร โดยให้ค่า $\mu = \mu_{\max}$ และ $\mu = 2/3\mu_{\max}$ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะในการหมักแบบอื่น ๆ

เมื่อทำการเปรียบเทียบการหมักแบบแบคทีเรีย และการหมักแบบเฟดแบคทีเรีย โดยพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนัก นำมาทำการทดสอบทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) จะพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่านัยสำคัญเท่า 0.000 ทั้งสองพารามิเตอร์ และเมื่อนำมาทดสอบหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) โดยทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan's New Multiple Range Test พบว่า สภาวะการหมักแบบแบคทีเรียโดยใช้การกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะการหมักอื่น ๆ