บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การคัดเลือกยีสต์สำหรับผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง

ยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้จากน้ำตาลหลายชนิด เช่น กลูโคส ซูโครส ฟรุกโทส ซึ่งยีสต์ให้เป็นแหล่งคาร์บอน สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอนที่ยีสต์สามารถนำไปผลิตเอทานอลได้ จากการการวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลโดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography พบว่าน้ำตาลที่ได้จาการย่อยแป้งมันสำปะหลัง มีกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ มอลโตส และมอลโตไตรโอส เล็กน้อย ผลที่ได้สอดคล้องกับ Jones, Pamment, and Greenfield (1981) ที่ได้สรุปองค์ประกอบของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยมันสำปะหลัง จะประกอบไปด้วย กลูโคส มอลโตส และมอลโตไตรโอส

จากการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากยีสต์ 5 ชนิด ได้แก่ *Saccharomyces burgundy* (SB), *Saccharomyces* sp. (S1), *Saccharomyces cerevisiae* (S3), *Saccharomyces* sp. (TC2) และ *Saccharomyces* sp. (TC6) จากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 170.28 กรัมต่อลิตร ในสภาวะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่มีการเขย่า เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่ายีสต์ทั้ง 5 ชนิดให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยปริมาตร ให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก ค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือ ค่าอัตราผลผลิตเอทานอล และค่าปริมาณเอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ยกเว้นค่าอัตราผลผลิตยีสต์ ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แสดงว่ายีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบชนิดนี้ได้ไม่แตกต่างกัน จึงได้คัดเลือกยีสต์ TC6 ซึ่งได้ถูกจัดจำแนกแล้ว พบว่าเป็นยีสต์สายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกับ *S. cerevisiae* S12 AY218890 นำมาทดลองในขั้นต่อไป Panchal (1998) ได้กล่าวถึงหลักการในการคัดเลือกยีสต์เพื่อนำมาผลิตเอทานอลจะต้องมีลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ มีความทนทาน ต่อเอทานอล ทนต่อแรงดันออสโมติก มีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ มีความรวดเร็วและประสิทธิภาพในการหมัก และง่ายต่อการดำเนินการในการหมัก และการคัดแยกออกจากผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีเป้าหมายที่จะหายีสต์ที่มีความสามารถในการผลิต เอทานอลได้สูงโดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งยีสต์ *S. cerevisiae* TC6 แยกได้จากดินบริเวณน้ำทิ้งจากหอกลั่นแอลกอฮอล์ของโรงงานผลิตเอทานอล สามารถผลิตเอทนอลได้สูงภายในระยะเวลา 3 วัน มีการตกตะกอนที่ดีเมื่อสิ้นสุดการหมัก และง่ายต่อการขยายเพิ่มจำนวนเพื่อใช้ในการหมัก สอดคล้องกับหลักการในการคัดเลือกยีสต์ที่กล่าวมา

ข้างต้น เช่นเดียวกับการทดลองของ Sree, Sridhar, Suresh, Banat, and Rao (2000) ที่มีเป้าหมายในการทดลองหายีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้ ทนอุณหภูมิที่สูง และทนต่อแรงดันออสโมติก โดยคัดแยกยีสต์มาจากดินบริเวณโรงงานผลิตความร้อนในประเทศอินเดีย พบว่าได้ยีสต์มา 4 ชนิด โดยยีสต์ทั้ง 4 สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส และสามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส โดยมีความเข้มข้นของเอทานอลอยู่ระหว่าง 20 ถึง 55 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีสายพันธุ์หนึ่งมีความสามารถผลิตเอทานอลได้สูงถึง 75 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส

การศึกษาปัจจัยผลของชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการผลิตเอทานอลโดยยีสต์ที่คัดเลือกได้

นอกจากยีสต์จะใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญและผลิตเอทานอลแล้ว แหล่งไนโตรเจนก็มีส่วนช่วยในการผลิตเอทานอลโดยจะเป็นส่วนประกอบของโปรตีนและเอนไซม์ จากการศึกษาผลของปัจจัยชนิดของแหล่งไนโตรเจน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ การผลิตเอทานอลของยีสต์ที่คัดเลือกได้ พบว่าเมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ทุกระดับความเข้มข้น จะให้ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ น้อยกว่าการทดลองควบคุม ส่วนค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก ที่ระดับความเข้มข้น 2, 4 และ 8 กรัมต่อลิตร ก็ให้ค่าน้อยกว่าการทดลองควบคุมเหมือนกัน ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ให้ค่าสูงกว่าการทดลองควบคุมเล็กน้อย แสดงว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลให้กับยีสต์ แต่ไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Cruz, Batistate, and Ernandes (2002) ที่ได้ทำการผลิตเอทานอล ด้วย Baking Yeast และ Brewing Yeast โดยใช้น้ำตาล 2 ชนิด คือ กลูโคส และ มอลโตส ที่ระดับความเข้มข้น 15 % (w/v) พบว่า ถ้าใช้แอมโมเนียมซัลเฟต เข้มข้น 1 % (w/v) เป็นแหล่งไนโตรเจน จะไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล แต่ถ้าใช้ เปปโตน (Peptone) และ คาสมิโน แอซิด (Casamino Acid) จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล โดยการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ ปริมาณเอทานอล และช่วยให้ยีสต์รอดชีวิตมากขึ้น โดยผู้วิจัยกล่าวว่า เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักยีสต์จะมีการใช้พลังงานและแหล่งคาร์บอน ในการสร้างเซลล์โดยการสังเคราะห์กรดอะมิโนซึ่งได้รับมาจากแหล่งคาร์บอน และแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงทำให้เกิดโปรตอน (H^+) จำนวนมาก ในระหว่างการสังเคราะห์กรดอะมิโน ซึ่งโปรตอนจะถูกขับออกจาก

เซลล์เพื่อรักษาสภาวะความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ให้คงที่ ส่งผลให้เกิดสภาวะความเป็นกรดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงส่งผลต่อการเจริญ และการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตของยีสต์ได้

เมื่อเติมยูเรียทุกระดับความเข้มข้น พบว่าจะช่วยเพิ่มค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก และค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือให้ดีขึ้นกว่าการทดลองควบคุม แต่ค่าพารามิเตอร์อื่น ๆ ยังมีค่าน้อยกว่าการทดลองควบคุม แสดงให้เห็นว่าการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน ไม่ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล แต่จะช่วยให้ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลได้ดีขึ้น เนื่องจากค่าอัตราผลผลิตเอทานอลยังมีค่าน้อยกว่าการทดลองควบคุม โดยปริมาณเอทานอลที่สูงขึ้นน่าจะเกิดจากยีสต์สามารถใช้น้ำตาลได้มากขึ้น ซึ่งจะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลที่มากกว่าการใช้ แอมโมเนียมซัลเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน และการทดลองควบคุม ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Jones and Ingledew (1994) ซึ่งได้การทดลองหมักเอทานอลแบบแบตช์จากข้าวสาลีป่น (Wheat Mash) ที่ความเข้มข้น 36.5 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร โดยใช้ยีสต์แห้ง และเติมยูเรีย ลงไป 16 mM (1 กรัมต่อลิตร) พบว่า ยูเรียไม่ได้เพิ่มประสิทธิภาพในการหมัก แต่จะช่วยเพิ่มความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร เพิ่มการใช้แหล่งคาร์บอน และช่วยลดเวลาในการหมักได้

เมื่อเติมสารสกัดจากยีสต์ทุกระดับความเข้มข้น พบว่าจะช่วยเพิ่มค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ให้ดีกว่าการทดลองควบคุม ยกเว้นค่าอัตราผลผลิตยีสต์ที่ยังให้ค่าน้อยกว่า (ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 กรัมต่อลิตร) หรือเท่ากับ (ระดับความเข้มข้น 4 และ 8 กรัมต่อลิตร) การทดลองควบคุม แสดงว่าการใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้ และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลของยีสต์อีกด้วย เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากสารสกัดจากยีสต์อุดมสมบูรณ์ไปด้วยแหล่งอาหารต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นแหล่งไนโตรเจน วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ จึงช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล และการเจริญให้กับยีสต์ ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Thomas and Ingledew (1990) ที่ได้ทดลองหมักเอทานอลแบบแบตช์ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยใช้ข้าวสาลีป่นเป็นอาหาร ซึ่งมีความเข้มข้น 35 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีการเติมสารอาหาร เช่น Yeast Extract Cassamino Acid หรือ Single Amino Acid เช่น Glutamic Acid ลงไป พบว่า เมื่อเติม 0.9 % Yeast extract (9 กรัมต่อลิตร) ลงไปจะช่วยลดเวลาในการหมักจาก 8 วัน ลงเป็น 3 วันได้ แ ละเพิ่มค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรเท่ากับ 17.1 % (v/v)

เมื่อเติมแป้งถั่วเหลืองทุกระดับความเข้มข้น พบว่าจะให้ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ สูงกว่าการทดลองควบคุม เช่นเดียวกับการเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองลงไปทุกระดับความเข้มข้น แสดงว่าการใช้แป้งถั่วเหลือง หรือน้ำแป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต

เอทานอล และเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลของยีสต์ได้ เนื่องจากแป้งถั่วเหลืองอุดมสมบูรณ์ไปด้วยโปรตีนและลิปิด ที่ง่ายต่อการนำไปใช้ของยีสต์ (Li, 1995) โดยแป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ประกอบไปด้วยสารอาหารหลายชนิด โดยคิดเป็นน้ำหนักต่อ 100 กรัมของแป้งถั่วเหลือง ดังนี้ โปรตีน 34.2 กรัม ไขมันอิ่มตัว 3.4 กรัม น้ำตาล 5.5 กรัม โซเดียม 19.5 มิลลิกรัม วิตามินบีหนึ่ง (B1) 0.01 มิลลิกรัม วิตามินบีสอง (B2) 0.02 มิลลิกรัม แคลเซียม 272 มิลลิกรัม และเหล็ก 5.86 มิลลิกรัม เป็นต้น (ภาคผนวก ก ข้อ 3.1) ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Damiano and Wang (1985) ที่ทดลองผลิตเอทานอลด้วยวิธีแบบแบตช์ และแบบต่อเนื่องด้วยยีสต์ *S. cerievisiae* และเติมแป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเมื่อให้ความเข้มข้นของแป้งถั่วเหลือง 1 และ 2 กรัมต่อลิตร จะเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก 15.5 % และ 20.2 % ตามลำดับ Viegas, Correia, and Novais (1985, a) ได้ทำการทดลองหมักเอทานอลแบบแบตช์ด้วยยีสต์ *S. Bayanus* โดยใช้อาหารอย่างง่าย (Simple Medium) และเติมแป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนและลิปิด พบว่าเมื่อเติมแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 4 % (w/v) จะสามารถช่วยเพิ่มจำนวนการรอดชีวิตของเซลล์ยีสต์ได้ และช่วยให้การหมักเอทานอลได้เอทานอลที่ความเข้มข้น 12.8 % (w/v) ภายในเวลา 64 ชั่วโมง และ Viegas, Correia, and Novais (1985, b) ได้ทำการทดลองหมักเอทานอลอย่างรวดเร็วด้วยยีสต์ *S. bayanus* โดยมีการเติมแป้งถั่วเหลืองลงไปเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเมื่อทำการหมักเอทานอลด้วยอาหารอย่างง่าย (Simple Medium) และเติมแป้งถั่วเหลืองลงไป 2 กรัมต่อลิตร จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการหมัก ด้วยการเพิ่มอัตราการผลิตเอทานอล ช่วยในการย่อยน้ำตาลได้ดี และทำให้ได้เปอร์เซ็นต์เอทานอลสูงถึง 14 % (v/v) แต่ในการใช้แป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจนจะพบว่าให้ค่าอัตราผลผลิตยีสต์ที่สูงมาก โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.07-0.08 สาเหตุน่าจะเกิดจากตะกอนของแป้งถั่วเหลือง ที่เกิดขึ้นในการหมักจะทำให้ค่าน้ำหนักยีสต์แห้งสูงขึ้น จึงส่งผลทำให้ได้ค่าอัตราผลผลิตยีสต์ที่สูงมาก

จากการทดลองแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การใช้แหล่งไนโตรเจนที่ต่างชนิดกันจะให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะของโครงสร้างและองค์ประกอบของแหล่งไนโตรเจน โดยสารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลืองที่มีองค์ประกอบซับซ้อน และมีสารอาหารต่าง ๆ มากมาย จะช่วยเพิ่มการผลิตเอทานอลได้ดีกว่าการใช้ แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ที่มีองค์ประกอบไม่ซับซ้อน และไม่มีสารอาหาร โดย Cruz, Batistote, and Ernandes (2003) ได้กล่าวว่า ผลของการผลิตเอทานอล ผลผลิตมวลเซลล์และการรอดชีวิตของยีสต์จากการหมักที่แตกต่างกัน นอกจากจะเกิดจากการใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบที่ซับซ้อนแตกต่างกันแล้ว ยังขึ้นอยู่กับ ชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ กระบวนการเมเทบอลิซึมของยีสต์ และชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ส่วนการใช้แหล่งไนโตรเจน

ชนิดเดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า การใช้แหล่งไนโตรเจนบางชนิดเมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น การผลิตเอทานอลก็จะเพิ่มขึ้นด้วย เช่น การใช้ สารสกัดจากยีสต์ และน้ำแป้งถั่วเหลือง เป็นต้น แต่การใช้แหล่งไนโตรเจนบางชนิดเมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น การผลิตเอทานอลจะมีค่าคงที่ เช่น ยูเรีย และการใช้แหล่งไนโตรเจนบางชนิดเมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น การผลิตเอทานอล กลับมีค่าลดลง เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต และแป้งถั่วเหลือง เป็นต้น โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของค่าการผลิตเอทานอลเมื่อเติม สารสกัดจากยีสต์ และน้ำแป้งถั่วเหลือง จะมีค่าไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) คล้ายกับการทดลองของ Li (1995) ที่ได้ทำการหมักเอทานอลจากน้ำตาลหัวบีท โดยใช้แป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจนพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งถั่วเหลืองจาก 1 กรัมต่อลิตร ไปจนถึง 3 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าปริมาณเอทานอลโดยปริมาตรมีค่าสูงขึ้น แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก นำมาทำการทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) และทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้การทดสอบหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) ทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan's New Multiple Range Test พบว่าปัจจัยชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารสกัดจากยีสต์ แป้งถั่วเหลือง และน้ำแป้งถั่วเหลือง จะให้ค่าไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบด้วยกันเอง แต่จะให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับแหล่งไนโตรเจนแหล่งอื่นและการทดลองควบคุม ส่วนปัจจัยระดับความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน ไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างแหล่งไนโตรเจน แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุม แสดงให้เห็นว่าการใช้แหล่งไนโตรเจนทั้ง 3 ชนิดนี้ให้ปริมาณเอทานอลที่สูงไม่แตกต่างกัน แต่เนื่องจากการใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจนจะมีต้นทุนที่สูง ส่วนการใช้แป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน จะก่อให้เกิดปัญหาในการหมัก คือเกิดตะกอนทำให้รบกวนการหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้งได้ ดังนั้นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดคือ น้ำแป้งถั่วเหลือง โดยใช้ที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร

การหมักเอทานอลแบบแบตช์โดยขยายขนาดเป็น 3 ลิตร

นอกจากปัจจัยของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน จะส่งผลต่อการผลิตเอทานอลแล้ว ปัจจัยทางกายภาพ เช่น การกวน ก็มีผลต่อการผลิตเอทานอลเช่นกัน จากการศึกษาผลของความเร็วในการกวนของการผลิตเอทานอลแบบแบตช์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาตรในการหมักทั้งหมด 3 ลิตร เมื่อพิจารณาผลของปัจจัยความเร็วในการกวนต่อการผลิตเอทานอล

จากการทดลองของ Bossewll, Nienow, and Hewitt (2002) ที่ทำการหมักเอทานอลจากเวิร์ตที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 16 °P ใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* โดยมีการแปรผันกวนด้วยความเร็ว 150, 300, 450 และ 600 รอบต่อนาที พบว่า เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจะช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการหมัก และทำให้เวลาในการหมักสั้นลง แต่ไม่ส่งผลต่อค่าความเข้มข้นของเอทานอล นอกจากนี้การกวนในระดับที่ทำให้เกิดการปั่นป่วน (Turbulence) จะทำให้เกิดการส่งผ่านของสาร และกระบวนการเมแทบอลิซึมเพิ่มขึ้น จากการทดลองเมื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนัก พบว่า เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจาก 50 เป็น 200 รอบต่อนาที ค่าการผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนเป็น 400 รอบต่อนาที ค่ากลับมีแนวโน้มลดลง ส่วนเมื่อพิจารณาค่าผลผลิตเอทานอล พบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนจาก 50 เป็น 100 รอบต่อนาที ค่าผลผลิตเอทานอลจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มความเร็วในการกวนเป็น 200 รอบต่อนาที ค่าจะมีแนวโน้มคงที่ แต่เมื่อเพิ่มความเร็วเป็น 400 รอบต่อนาที ค่ากลับมีแนวโน้มลดลง โดยปกติแล้วค่าพารามิเตอร์ทั้งสามจะมีความสัมพันธ์สอดคล้องกัน แสดงว่าน่าจะมีปัจจัยอย่างอื่น ที่ส่งผลร่วมต่อการผลิตเอทานอลด้วยโดย Walker (1998) ได้กล่าวว่า อัตราการผลิตเอทานอลจะถูกจำกัดโดยอัตราการใช้น้ำตาลของยีสต์ โดยกระบวนการขนส่งน้ำตาลของยีสต์จะเป็นปฏิกิริยาควบคุมอันดับแรกของกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลในกระบวนการหมักของยีสต์ (Does & Bisson, 1989) ซึ่งจากการทดลองพบว่า การใช้น้ำตาลของยีสต์ในแต่ละปัจจัยคือ การกวนด้วยความเร็ว 50, 100, 200 และ 400 รอบต่อนาที และการทดลองควบคุม จะมีค่าเท่ากับ 109.82, 108.68, 155.04, 166.02 และ 139.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าการกวนด้วยความเร็ว 400 รอบต่อนาที จะมีการใช้น้ำตาลที่ดีที่สุด แสดงว่าความเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการส่งผ่านน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์ได้ดีที่สุด ส่งผลให้ในการกวนด้วยความเร็วนี้มีค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนักสูงกว่าการทดลองควบคุม ในขณะที่การกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จะมีประสิทธิภาพการส่งผ่านน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์ได้สูงกว่าการทดลองควบคุมเช่นกัน นอกจากนี้ยังให้ค่าผลผลิตเอทานอล ค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎี ที่สูงอีกด้วย จึงส่งผลให้ได้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนักสูงที่สุด ส่วนการกวนด้วยความเร็ว 50 และ 100 รอบต่อนาที จะมีประสิทธิภาพในการส่งผ่านน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์ได้น้อยกว่าการทดลองควบคุม จึง ส่งผลให้ได้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตรและโดยน้ำหนักน้อยกว่าการทดลองควบคุมถึงแม้ว่าการกวนด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที จะมีค่าผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดก็ตาม สำหรับค่าผลผลิตเอทานอล พบว่า เมื่อใช้ความเร็วในการกวนเท่ากับ 100 และ 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าผลผลิตเอทานอลที่สูงกว่าการทดลองควบคุม ส่วนการกวนด้วยความเร็ว 50 และ 400 รอบต่อนาที จะให้ค่าต่ำกว่าการทดลองควบคุม โดยการกวนด้วยความเร็ว

100 รอบต่อนาที จะให้ค่าสูงกว่าการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที แสดงให้เห็นว่าการกวนด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที จะมี ประสิทธิภาพในการหมักดีกว่าการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที สำหรับค่าผลผลิตมวลเซลล์ พบว่าเมื่อกวนด้วยความเร็ว 50 และ 100 รอบต่อนาที จะให้ค่าสูงกว่าการทดลองควบคุม ส่วนการกวนด้วยความเร็ว 200 และ 400 รอบต่อนาที จะให้ค่าเท่ากับและน้อยกว่าการทดลองควบคุม ตามลำดับ ผลที่ได้นี้ตรงข้ามกับรายงานของ Boswell, Nienow, and Hewitt (2002) ที่กล่าวว่า การเพิ่มความเร็วในการกวนให้สูงขึ้นปริมาณมวลเซลล์จะสูงขึ้นด้วย แสดงว่าน่าจะมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลร่วมต่อผลผลิตมวลเซลล์ เช่น ผลของความเข้มข้นของเอทานอล โดย Jones, Pamment, and Greenfield (1981) ได้กล่าวว่า เอทานอลเป็นปัจจัยแรกที่ส่งผลต่อการผลิตเอทานอล การเจริญของยีสต์ และการหมัก เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นก็จะส่งผลทำให้อัตราการเจริญของยีสต์ลดลง ในการวิจัยครั้งนี้พบว่า การกวนด้วยความเร็ว 200 และ 400 รอบต่อนาที จะให้ปริมาณเอทานอลที่สูง และให้ค่าผลผลิตมวลเซลล์ที่ต่ำ แสดงว่าการลดลงของผลผลิตมวลเซลล์เป็นผลมาจากการกวนด้วยความเร็วที่สูง รวมกับผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่สูง ซึ่งในขั้นตอนการวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์ยีสต์แห้ง (Cell Dry Weight) จะทำการปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ยีสต์ออกจากน้ำหมักด้วยความเร็วที่สูง (10,000 รอบต่อนาที) จึงอาจทำให้เซลล์ยีสต์แตกได้ทำให้โครงสร้างภายในของเซลล์ละลายปนออกมากับน้ำหมัก ส่งผลทำให้ได้ค่ามวลเซลล์น้อยลง

เมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ เพื่อทำการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตเอทานอลแบบแบตช์ พบว่า การกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที น่าจะเป็นปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากเป็นปัจจัยที่ช่วยให้เกิดการส่งผ่านน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์ และมีทำให้ยีสต์กระบวนการเมแทบอลิซึมที่ดี โดยสังเกตจากค่าการผลิตเอทานอลที่สูงที่สุดคือมีค่า 10.12 % (v/v) และ79.35 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าการใช้น้ำตาลได้ดี คือ 155.04 กรัมต่อลิตร และยังให้ค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลืองจากการหมักน้อยที่สุดด้วย นอกจากนี้ยังให้ค่าผลผลิตเอทาอล และค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีที่สูง

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยอื่น ๆ ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล ได้แก่ Ueda, Zenin, Monteiro, and Park (1981) ได้ทำการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง 5 ชนิด โดยนำแป้งมันสำปะหลัง 180 กรัมมาย่อยด้วยเอ็นไซม์จากเชื้อรา และทำการหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisisae* พบว่าเมื่อใช้แป้งมันสำปะหลัง SRT-59 จะได้เอทานอลเข้มข้น 16.54 กรัม โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอลเทียบกับทฤษฎีสูงเท่ากับ 99.6 % แต่เมื่อใช้แป้งมันสำปะหลัง IAC จะได้เอทานอลเข้มข้น 19.57 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เอทานอลเทียบกับทฤษฎีได้เท่ากับ 97.4 % ตามลำดับ กัลยา อยู่นาน, จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และกนก รัตนะกนกชัย (2547) ได้ทำการผลิตเอทานอลแบบแบตช์โดยใช้ *S. cerevisiae* จากเปลือกมันสำปะหลัง โดยใช้ปริมาณ

น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 12.41 กรัมต่อลิตร ได้เอทานอลเข้มข้น 5.54 กรัมต่อลิตร Amutha and Gunasekaran (2001) ได้ทำการผลิตเอทานอลแบบแบตช์จากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Z. mobilis* และ *S. diastaticus* ที่ถูกตรึงเซลล์ไว้ร่วมกัน พบว่าสามารถผลิตเอทานอลเข้มข้น 46.7 กรัมต่อลิตร จากแป้งมันสำปะหลัง 150 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ในการทดลองหมักแบบแบตช์ซ้ำ พบว่าจะให้ปริมาณเอทานอลเข้มข้นถึง 53.5 กรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก นำมาทำการทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) และทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้การทดสอบหลังการวิเคราะห์ ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) ทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan's New Multiple Range Test พบว่า ในสภาวะการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะในการหมักแบบอื่น แสดงว่าที่การกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบแบตช์ โดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน และใช้น้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน

การหมักเอทานอลแบบเฟดแบตช์โดยขยายขนาดเป็น 3 ลิตร

จากการศึกษาผลของอัตราการเติมอาหาร(Feed Rate, F) เมื่อคำนวณอัตราการเติมอาหารจากสมการ $F=F_0e^{\mu t}$ โดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ $\mu=2/3\mu_{max}$ และ $\mu=1/3\mu_{max}$ ต่อการผลิตเอทานอลแบบเฟดแบตช์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาตรในการผลิตเริ่มต้นเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร โดยประกอบด้วย สารละลาย SCS ปริมาตร 670 มิลลิลิตร หัวเชื้อยีสต์ปริมาตร 300 มิลลิลิตร และน้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทำให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นประมาณ 100 กรัมต่อลิตร ทำการหมักแบบแบตช์จนถึงเวลา 6 ชั่วโมง จึงมีการเติมสารละลาย SCS (Feed Medium) ที่เตรียมไว้ 2,000 มิลลิลิตร ลงไป ด้วยอัตราการเติมดังกล่าวข้างต้น ซึ่งในการเติมแต่ละครั้งจะมีการปรับความเร็วในการเติมอาหารให้เพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ (Exponential Feed) ในชั่วโมงที่ 6, 8 และ 10 หลังจากชั่วโมงที่ 10 จึงทำการปรับความเร็วในการเติมอาหารให้คงที่ (Constant Feed) ทำการหมักจนครบเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า เมื่อปรับอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ และ $\mu=2/3\mu_{max}$ จะให้ค่าการผลิตเอทานอลสูงกว่าการทดลองควบคุม โดยการปรับอัตราการเติมให้ค่า $\mu=2/3\mu_{max}$ จะให้ค่าการผลิตเอทานอลสูงที่สุด รองลงมาคือการปรับอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ ส่วนการปรับอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=1/3\mu_{max}$ จะให้ค่า การผลิตเอทานอลน้อยกว่าการทดลองควบคุม ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาค่า

ผลผลิตเอทานอล พบว่าการปรับอัตราการให้อาหารโดยให้ค่า $\mu=1/3\mu_{max}$ จะมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ การปรับอัตราการให้อาหารโดยให้ค่า $\mu=2/3\mu_{max}$ และ $\mu=\mu_{max}$ ตามลำดับ ซึ่งโดยปกติแล้วค่าพารามิเตอร์ทั้งสามจะมีความสัมพันธ์สอดคล้องกัน แสดงว่าที่อัตราการเติมโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ และ $\mu=2/3\mu_{max}$ ที่ให้ค่าการผลิตเอทานอลได้สูงนั้นน่าจะเกิดจากปัจจัยอื่นร่วมด้วย โดยเมื่อพิจารณาค่าการใช้น้ำตาลจะพบว่าในการปรับอัตราการเติมอาหารให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ $\mu=2/3\mu_{max}$ และ $\mu=1/3\mu_{max}$ จะมีค่าเท่ากับ 148.19, 143.69 และ 129.27 กรัมต่อลิตรตามลำดับ แสดงว่าการปรับอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ จะมีการส่งผ่านน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์ได้มากที่สุด เนื่องจากเป็นการเติมน้ำตาลลงไปสัมพันธ์กับการเจริญของยีสต์ จึงทำให้ได้ค่าการผลิตเอทานอลที่สูง แต่ให้ค่าผลผลิตเอทานอล และค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีน้อยที่สุด และการปรับอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=2/3\mu_{max}$ ที่มีการส่งผ่านน้ำตาลได้ดีกว่าการทดลองควบคุม เนื่องจากเป็นการเติมอาหารลงไปด้วยความเร็วที่ใกล้เคียงกับการเจริญของยีสต์ นอกจากนี้ยังให้ค่าผลผลิตเอทานอลที่สูงกว่าการทดลองควบคุม จึงทำให้ได้ค่าการผลิตเอทานอลที่สูงที่สุด ส่วนการปรับอัตราการเติมอาหารโดย ให้ค่า $\mu=1/3\mu_{max}$ ที่ให้ค่าการผลิตเอทานอลที่น้อยกว่าการทดลองควบคุม แต่ให้ค่าผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดนั้น เกิดจากการเติมน้ำตาลลงไปด้วยอัตราที่ช้ากว่าการเจริญของยีสต์มาก ทำการส่งผ่านน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์ได้น้อยลงแต่ยีสต์จะมีการใช้น้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงทำให้ได้ค่าการผลิตเอทานอลที่น้อยลง แต่จะให้ค่าผลผลิตเอทนอลและเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้เทียบกับทฤษฎีสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าสภาวะที่จะทำให้มีการผลิตเอทานอลได้ดีที่สุด คือสภาวะที่ทำให้เกิดการส่งผ่านน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์ได้มากที่สุด และทำให้ยีสต์มีกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ดีที่สุด

Koshimizu, et. al. (1984) กล่าวว่าในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมจะใช้เวลาในการเติมอาหารให้เต็มถังหมักอยู่ระหว่าง 5 ถึง 10 ชั่วโมง โดยการเติมอาหารลงไปถ้าใช้เวลาน้อยกว่า 5 ชั่วโมงจะทำให้เกิดฟองในการหมักได้ ส่วนการเติมอาหารลงไปถ้ามากกว่า 10 หรือ 12 ชั่วโมง จะทำให้ได้ค่าอัตราการผลิตที่น้อยลงได้ ผลที่ได้คล้ายกับการทดลองในที่นี้ ซึ่งพบว่าเมื่อลดอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ $\mu=2/3\mu_{max}$ และ $\mu=1/3\mu_{max}$ จะมีระยะเวลาในการเติมอาหารมากขึ้นเท่ากับ 19, 41 และ 59 ชั่วโมงตามลำดับ และได้อัตราการผลิตเอทานอลที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงน้อยลงโดยมีค่าเท่ากับ 0.96, 0.96 และ 0.91 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาค่าอัตราการผลิตเอทานอลที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะพบว่าเมื่อลดอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ $\mu=2/3\mu_{max}$ และ $\mu=1/3\mu_{max}$ จะมีแนวโน้มที่สูงขึ้นโดยให้ค่าเท่ากับ 1.80, 2.38 และ 2.65 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ผลที่ได้สอดคล้องกับ Carvalho, et. al. (1990) ที่กล่าวว่าการ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ปรับอัตราการเติมอาหารโดยใช้การเติมอาหารแบบทวีคูณ (Exponential Feed) จะช่วยเพิ่มอัตราผลผลิตเอทานอลในช่วงระยะเวลาในการเติมอาหารลงไปเท่านั้น

เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนัก นำมาทำการทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) และทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้การทดสอบหลังการวิเคราะห์ ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) ทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan's New Multiple Range Test พบว่า สภาวะการให้อาหารโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ และ $\mu=2/3\mu_{max}$ จะมีค่านัยสำคัญที่เท่ากัน และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะในการหมักแบบอื่น

ในการเปรียบเทียบการหมักแบบแบตช์ และการหมักแบบเฟดแบตช์ โดยพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยน้ำหนัก นำมาทำการทดสอบทางสถิติโดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง (Multiple Factor ANOVA) และทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้การทดสอบหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Post Hoc Comparison) ทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple Comparison) แบบ Duncan's New Multiple Range Test พบว่า สภาวะการหมักแบบแบตช์โดยใช้การกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะในการหมักแบบอื่น ๆ ผลที่ได้นี้คล้ายกับการทดลอง Roukas (1996) ที่ได้ทดลองหมักเอทานอลจากน้ำตาลจากหัวบีท ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* ในรูปแบบตัวเซลล์ และรูปแบบตรึงเซลล์ พบว่าในการหมักแบบแบตช์โดยใช้ตัวเซลล์ เมื่อใช้น้ำตาลเริ่มต้น 150 กรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมงจะได้เอทานอลเข้มข้น 43 กรัมต่อลิตร และเมื่อทำการหมักแบบเฟดแบตช์ โดยใช้น้ำตาลเริ่มต้น 150 กรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่าจะได้เอทานอลเข้มข้น 25 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อใช้น้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร จะได้เอทานอลเข้มข้น 53 กรัมต่อลิตร แต่ในการทดลองของ Caylak (1998) ได้ทำการหมักเอทานอลด้วยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย ซูโครส 22 % Yeast Extract 3% Peptone 0.5 % $(NH_4)_2HPO_4$ 0.15 % และ $MgSO_4$ 3 % ทำการหมักแบบแบตช์ เฟดแบตช์ ต่อเนื่อง (Continuous) และกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous) พบว่าการหมักแบบแบตช์จะมีความเข้มข้นของน้ำตาลในการหมักเท่ากับ 220 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการหมักนาน 96 ชั่วโมง จึงเสร็จสิ้นการหมัก ได้ความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และโดยน้ำหนักเท่ากับ 8.76 % (v/v) และ 96.71 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการหมักแบบเฟดแบตช์ จะมีความเข้มข้นของน้ำตาลในการหมักเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร และมีความเข้มข้นของน้ำตาลใน Feed Medium เท่ากับ 540 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการหมักนาน 240 ชั่วโมง จึงเสร็จสิ้นการหมัก ได้ความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และโดยน้ำหนัก

เท่ากับ 9.88 % (v/v) และ 341.06 กรัมต่อลิตร และ ในการหมักแบบเฟดแบตช์ ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าจะให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยน้ำหนักประมาณ 120 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าการทดลองแบบแบตช์

จากรายงานการทดลองดังกล่าวข้างต้น พบว่าการหมักแบบแบตช์ และเฟดแบตช์มีปัจจัยหลายอย่างที่แตกต่างกัน เช่น ระยะเวลาในการหมัก พบว่าการหมักแบบแบตช์จะใช้เวลาในการหมัก 3-4 วันก็เสร็จสิ้นกระบวนการหมัก ส่วนการหมักแบบเฟดแบตช์จะใช้เวลาในการหมักประมาณ 7-10 วัน จึงเสร็จสิ้นกระบวนการหมัก โดยสาเหตุที่การหมักแบบเฟดแบตช์ใช้เวลานานกว่า เนื่องจากต้องใช้เวลาในการเติมอาหารลงไปในถังหมัก ระดับความเข้มข้นของอาหารที่ใช้ในถังหมัก พบว่าการหมักแบบแบตช์จะใช้ความเข้มข้นของอาหารเริ่มต้นในถังหมักระดับเดียว ส่วนการหมักแบบเฟดแบตช์ในช่วงแรกของการหมักจะใช้ความเข้มข้นของอาหารน้อยกว่าการหมักแบบแบตช์ แต่หลังจากนั้นระดับความเข้มข้นของอาหารในถังหมักจะขึ้นอยู่กับอัตราการเติม Feed Medium ลงไป และระดับความเข้มข้นของอาหารใน Feed Medium

อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ยังไม่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจนว่าการผลิตเอทานอลแบบแบตช์ให้ผลดีกว่าการผลิตเอทานอลแบบเฟดแบตช์ เนื่องจากข้อจำกัดของปัจจัยในการทดลองบางอย่าง คือ ในการหมักแบบเฟดแบตช์ไม่ได้ศึกษาอัตราการเติมอาหารให้เพียงพอเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักแบบเฟดแบตช์ การควบคุมความเข้มข้นของน้ำตาลใน Feed Medium ที่พอเหมาะในการเติมลงไปในถังหมัก และระยะเวลาในการหมักแบบเฟดแบตช์ที่พอเพียง

สรุปผลการวิจัย

1. ยีสต์ *S. cerevisiae* TC6 ที่คัดเลือกมาจากบริเวณน้ำทิ้งจากหอกลั่นเอทานอลของโรงงานผลิตเอทานอล มีความสามารถในการผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีเท่ากับยีสต์ที่ใช้กันทั่วไปในโรงงานอุตสาหกรรม

2. การปรับปรุงการหมักโดยเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ลงไปเป็นแหล่งไนโตรเจน จะช่วยเพิ่มการผลิตเอทานอลให้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เปรียบเทียบกับการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต และ ยูเรีย ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 4 และ 8 กรัมต่อลิตร และ การทดลองควบคุม โดยมีความเหมาะสมในการนำไปเป็นแหล่งไนโตรเจนมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากยีสต์ และแป้งถั่วเหลือง

3. การปรับปรุงการหมักแบบแบตช์โดยมีการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที และมีการเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ลงไปเป็นแหล่งไนโตรเจน จะช่วยเพิ่มการผลิต

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอทานอลให้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะการกวนด้วยความเร็ว 50, 100 และ 400 รอบต่อนาที และการทดลองควบคุม

4. การปรับปรุงการหมักแบบเฟดแบตช์โดยการปรับอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=\mu_{max}$ และ $\mu=2/3\mu_{max}$ โดยมีการกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที และมีการเติมน้ำแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ลงไปเป็นแหล่งไนโตรเจน จะช่วยเพิ่มการผลิตเอทานอลให้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับการปรับอัตราการเติมอาหารโดยให้ค่า $\mu=2/3\mu_{max}$ และการทดลองควบคุม

5. เมื่อเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลแบบแบตช์ และการผลิตเอทานอลแบบเฟดแบตช์ โดยพิจารณาเฉพาะค่าความเข้มข้นเอทานอลโดยปริมาตร และค่าความเข้มข้นของเอทานอลโดยน้ำหนัก พบว่าสภาวะการหมักแบบแบตช์โดยใช้การกวนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะในการหมักแบบอื่น

ข้อเสนอแนะ

1. การผลิตเอทานอลแบบเฟดแบตช์ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอัตราการเติมอาหารเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต

2. ศึกษาหาระยะเวลาที่เสร็จสิ้นการหมักของการผลิตเอทานอลแบบเฟดแบตช์

3. ต้องมีการควบคุมระดับความเข้มข้นของน้ำตาลใน Feed Medium ให้พอเหมาะในการเติมลงไปในถังหมัก เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลในถังหมักเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University