

การศึกษาเบื้องต้นพบว่า ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Sweden สามารถเจริญได้ดีในน้ำมะม่วงแก้วที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 22 องศาบริกซ์ และความเป็นกรดทั้งหมด 6.5 กรัมต่อลิตร โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) 0.25 ต่อชั่วโมง เมื่อเลี้ยงแบบกะในระดัฟพลาสติก สำหรับการตรึงเซลล์ยีสต์พบว่า ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจินเตและแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์ให้ได้ขนาดเม็ดเซลล์ตรึงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร เพื่อใช้ในการผลิตไวน์มะม่วงแก้วโดยการหมักแบบกะคือ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และ 0.1 โมลาร์ ตามลำดับ

จากข้อมูลการศึกษาเบื้องต้นที่ได้จากการหมักแบบกะ ทำการหมักไวน์มะม่วงแก้วแบบต่อเนื่องโดยเซลล์ยีสต์ตรึงรูป โดยศึกษาปริมาตรเซลล์ยีสต์ตรึงรูปที่บรรจุในคอลัมน์และอัตราการเจือจางของน้ำมะม่วงแก้วที่เข้าสู่ระบบที่มีผลต่อการหมักไวน์มะม่วงแก้วในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบดบรรจุคอลัมน์เดี่ยวที่มีปริมาตรทำงาน 740 มิลลิลิตร อุณหภูมิการหมัก 20 องศาเซลเซียส โดยแปรผันปริมาตรเม็ดเซลล์ตรึงรูปที่บรรจุในคอลัมน์เป็น 20, 35 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทำงาน และแปรผันอัตราการเจือจางของน้ำมะม่วงเป็น 0.06 ($0.25\mu_{max}$), 0.13 ($0.50\mu_{max}$) และ 0.19 ($0.75\mu_{max}$) ต่อชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า ปริมาตรเม็ดเซลล์ตรึงรูป 35 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเจือจาง 0.06 ต่อชั่วโมง เหมาะสมต่อการหมักไวน์มะม่วงแก้วแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบดบรรจุคอลัมน์เดี่ยว ในแง่ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลและความคงตัวของเม็ดเซลล์ตรึงรูป โดยที่สภาวะนี้ได้รับความเข้มข้นเอทานอล 34.85 ± 3.23 กรัมต่อลิตร (4.42 ± 0.41 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) และอัตราผลผลิตเอทานอล 52.32 ± 4.80 กรัมต่อลิตรต่อวัน

เมื่อเพิ่มปริมาณทำงานของระบบโดยการใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบดบรรจุต่อกัน 3 คอลัมน์ (ปริมาณทำงานทั้งหมดของระบบเป็น 2220 มิลลิลิตร) จากนั้นศึกษาอัตราการเจือจางของน้ำมะม่วงแก้วที่เข้าสู่ระบบที่มีผลต่อการหมักไวน์มะม่วงแก้วแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบดบรรจุ 3 คอลัมน์ โดยใช้ปริมาณเซลล์ตั้งรูปที่บรรจุในแต่ละคอลัมน์ 35 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันอัตราการเจือจางของน้ำมะม่วงแก้วที่เข้าสู่แต่ละคอลัมน์เป็น 0.06, 0.13 และ 0.19 ต่อชั่วโมง พบว่า ที่อัตราการเจือจางที่เข้าสู่แต่ละคอลัมน์เป็น 0.06 ต่อชั่วโมง ได้ความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักที่ออกจากแต่ละคอลัมน์สูงสุด และระบบสามารถดำเนินการแบบต่อเนื่องภายใต้สภาวะนี้ได้ยาวนานอย่างน้อย 68 วัน โดยอัตราผลผลิตเอทานอลไม่ลดลง ความเข้มข้นเอทานอลเฉลี่ยในน้ำหมักที่ออกจากคอลัมน์ที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 68.91 ± 15.37 , 89.72 ± 10.96 และ 100.13 ± 8.36 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราผลผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้นในคอลัมน์ที่ 1 มีค่าสูงกว่าอัตราผลผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้นในคอลัมน์ที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ที่สภาวะนี้ (อัตราการเจือจางรวมของระบบเป็น 0.02 ต่อชั่วโมง) ระบบสามารถผลิตเอทานอลได้ 100.13 ± 8.36 กรัมต่อลิตร (12.70 ± 1.06 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) อัตราผลผลิตเอทานอล และผลได้เอทานอลมีค่า 48.06 ± 4.01 กรัมต่อลิตรต่อวัน และ 0.43 ± 0.04 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ (80 เปอร์เซ็นต์ของผลได้เอทานอลทางทฤษฎี) ตามลำดับ

การเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลในไวน์มะม่วงแก้วที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องโดยใช้เซลล์ตั้งรูปและการหมักแบบกะในระดับพลาสติกโดยใช้เซลล์ตั้งรูปและเซลล์อิสระพบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลและผลได้ของเอทานอลไม่แตกต่างกัน ในขณะที่อัตราผลผลิตเอทานอลเมื่อหมักแบบต่อเนื่องมีค่าสูงกว่าการหมักแบบกะโดยใช้เซลล์ตั้งรูปและการหมักแบบกะโดยใช้เซลล์อิสระ 2 เท่า และ 8 เท่า ตามลำดับ

การประเมินความชอบของผู้บริโภคต่อไวน์มะม่วงแก้ว 4 ชนิด คือ ไวน์มะม่วงแก้วที่หมักแบบต่อเนื่องโดยใช้เซลล์ยีสต์ตั้งรูปบ่มนาน 2 เดือน และ 5 เดือน ไวน์มะม่วงแก้วที่หมักแบบกะโดยใช้เซลล์ยีสต์ตั้งรูปบ่มนาน 2 เดือน และไวน์มะม่วงแก้วที่หมักแบบกะโดยใช้เซลล์ยีสต์อิสระบ่มนาน 2 เดือน พบว่า ไวน์มะม่วงแก้วที่หมักแบบต่อเนื่องโดยใช้เซลล์ยีสต์ตั้งรูปบ่มนาน 2 เดือน ได้คะแนนความชอบโดยรวมสูงสุด สำหรับปริมาณสารระเหยหลักในไวน์มะม่วงแก้ว พบว่า สารระเหยที่มีอิทธิพลต่อกลิ่นรสในไวน์มะม่วงแก้วทั้ง 4 ชนิด คือ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ เอทิลอะซิเตท เอทิลบิวทิลเรต เอทิลดีคาโนเอท และเฟอฟูรอล นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ และน้ำตาล และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ในไวน์มะม่วงแก้วทั้ง 4 ชนิด ด้วย

Preliminary studies revealed that *Saccharomyces cerevisiae* strain Sweden could grow in Kaew mango juice containing total soluble solids of 22°brix and total acidity of 6.5 g l⁻¹ with the maximum specific growth rate (μ_{\max}) of 0.25 h⁻¹ under batch culture in flask. The optimum concentrations of sodium alginate and calcium chloride for yeast immobilization to obtain the stable 3-mm diameter beads for Kaew mango wine production under batch process were found to be 2% (w/v) and 0.1 M respectively.

The immobilized cells were packed in the glass column of the packed bed bioreactor with the working volume of 740 ml for continuous fermentation. The effect of bead volume packed in the column at 20, 35 and 50% of the working volume and dilution rates of Kaew mango juice at 0.06 (0.25 μ_{\max}), 0.13 (0.50 μ_{\max}) and 0.19 (0.75 μ_{\max}) h⁻¹ on Kaew mango wine production were studied. It was found that the bead volume at 35% and the dilution rate at 0.06 h⁻¹ was the most suitable for continuous Kaew mango wine production in terms of efficiency of ethanol production and stability of bead morphology resulting in the ethanol concentration and its productivity of 34.85 ± 3.23 g l⁻¹ (4.42 ± 0.41 % v/v) and 52.32 ± 4.80 g l⁻¹ d⁻¹ respectively.

A three-stage column packed bed bioreactor was established to increase the total working volume up to 2220 ml. The effect of dilution rate of the juice on ethanol production in the three-stage column bioreactor was investigated using the bead volume at 35 % of the working volume and the dilution rates of the juice fed to each column at 0.06, 0.13 and 0.19 h⁻¹. The results showed that the highest ethanol concentration in the fermentation broth from each column was

obtained at the dilution rate of 0.06 h^{-1} . Continuous fermentation under this condition could be carried out for at least 68 days without diminution of ethanol concentration and its productivity. The average ethanol concentrations in the broth from columns 1, 2 and 3 were 68.91 ± 15.37 , 89.72 ± 10.96 and $100.13 \pm 8.36 \text{ g l}^{-1}$ respectively. In addition, the results indicated that the ethanol productivity in column 1 was higher than that in columns 2 and 3 respectively. Under this condition (the dilution rate of the whole system of 0.02 h^{-1}), the average ethanol concentration, its productivity and its yield in the Kaew mango wine production were $100.13 \pm 8.36 \text{ g l}^{-1}$ ($12.70 \pm 1.06 \text{ \% v/v}$), $48.06 \pm 4.01 \text{ g l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ and 0.43 ± 0.04 (80% of its theoretical yield) respectively.

Ethanol production in Kaew mango wines produced under continuous fermentation by immobilized yeasts and under batch fermentation in flask by immobilized yeasts and free cells was compared. The results showed that ethanol concentration and its yield were similar among the Kaew mango wines, while ethanol productivity in the Kaew mango wine produced under continuous fermentation by immobilized yeasts was 2-fold and 8-fold higher than that of the Kaew mango wines produced under batch fermentation in flask by immobilized yeasts and free cells respectively.

The degree of liking on 4 different Kaew mango wines, i.e. Kaew mango wines produced under continuous fermentation by immobilized yeasts and aging for 2 and 5 months, Kaew mango wines produced under batch fermentation in flask by immobilized yeasts and free cells and aging for 2 months, was evaluated. The results showed that the Kaew mango wine produced under continuous fermentation by immobilized yeasts and aging for 2 months got the highest scores of overall liking. Major volatile compounds in the Kaew mango wines were analyzed. The results showed that volatile compounds affecting the flavor of the 4 Kaew mango wines were isoamyl alcohol, ethyl acetate, ethyl butyrate, ethyl decanoate and furfural. Other chemical components such as organic acids, sugar and sulfurdioxide in the 4 different Kaew mango wines were also compared.