

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 การวิเคราะห์ประกอบในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน ยีสต์เอ็กซ์แทรก และกากเซลล์ยีสต์

pH และองค์ประกอบหลัก เช่น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ชนิดของน้ำตาล และแร่ธาตุบางชนิด ในคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ KKU 40 แสดงดังตารางที่ 4.1 ซึ่งพบว่าค่า pH ของน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานมีค่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ โดย Narendranath และ Power (2005) รายงานว่า ค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์คือ pH 4.0 ถึง 4.5 และพบว่า ในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานมีน้ำตาลซูโครสมากที่สุดคิดเป็น 53 เปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลที่เหลือคือ น้ำตาลฟรุกโตส และกลูโคส คิดเป็น 24 และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีโปรตีนในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน 5.9 กรัมต่อลิตร ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานมีแหล่งไนโตรเจนไม่สูงนัก และพบว่าธาตุหลักที่พบมากในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานคือ โพแทสเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม สำหรับองค์ประกอบของยีสต์เอ็กซ์แทรกและกากเซลล์ยีสต์ (ตารางที่ 1) พบว่า กากเซลล์ยีสต์มีปริมาณโปรตีนเพียง 67 เปอร์เซ็นต์ของยีสต์เอ็กซ์แทรก อย่างไรก็ตาม ยีสต์เอ็กซ์แทรกมีราคาสูงกว่ากากเซลล์ยีสต์ ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเบียร์ ดังนั้นกากเซลล์ยีสต์จึงเป็นแหล่งไนโตรเจนที่น่าสนใจ นอกจากนี้กากเซลล์ยีสต์ยังมีแร่ธาตุที่จำเป็นต่อยีสต์หลายชนิดสูงกว่ายีสต์เอ็กซ์แทรก เช่น ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส คอปเปอร์ และโมลิบดีนัม เป็นต้น

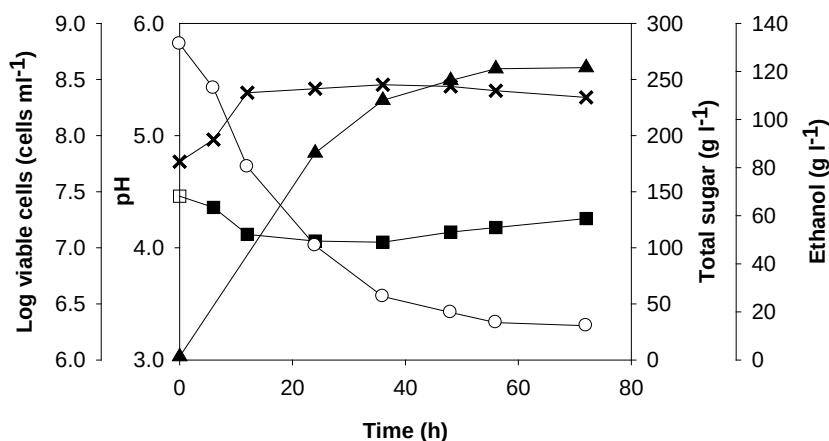
**ตารางที่ 4.1** องค์ประกอบของน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน ยีสต์เอ็กซ์แทรคและกากเซลล์ยีสต์

| องค์ประกอบ                      | น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน | ยีสต์เอ็กซ์แทรค        | กากเซลล์ยีสต์          |
|---------------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|
| pH                              | 4.43                     | -                      |                        |
| ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด | 16.6 °Brix               | -                      |                        |
| ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด             | 145.82 <sup>a</sup>      | -                      |                        |
| ฟรุคโตส                         | 33.84 <sup>a</sup>       | -                      |                        |
| กลูโคส                          | 33.01 <sup>a</sup>       | -                      |                        |
| ซูโครส                          | 76.15 <sup>a</sup>       | -                      |                        |
| โปรตีน                          | 5.90 <sup>a</sup>        | 745,000 <sup>c</sup>   | 501,200 <sup>c</sup>   |
| ซัลเฟอร์ (S)                    | 28.53 <sup>b</sup>       | -                      |                        |
| ฟอสฟอรัส (P)                    | 655.30 <sup>b</sup>      | 10,960.00 <sup>c</sup> | 13,130.00 <sup>c</sup> |
| โพแทสเซียม (K)                  | 4,236.00 <sup>b</sup>    | 60,720.00 <sup>c</sup> | 18,275.00 <sup>c</sup> |
| โซเดียม (Na)                    | 36.93 <sup>b</sup>       | -                      | -                      |
| แคลเซียม (Ca)                   | 1,148.00 <sup>b</sup>    | 254.00 <sup>c</sup>    | 1,579.50 <sup>c</sup>  |
| แมกนีเซียม (Mg)                 | 352.45 <sup>b</sup>      | 247.00 <sup>c</sup>    | 2,015.00 <sup>c</sup>  |
| เหล็ก (Fe)                      | 4.752 <sup>b</sup>       | 59.39 <sup>c</sup>     | 65.11 <sup>c</sup>     |
| แมงกานีส (Mn)                   | 0.990 <sup>b</sup>       | 1.35 <sup>c</sup>      | 4.17 <sup>c</sup>      |
| คอปเปอร์ (Cu)                   | 0.110 <sup>b</sup>       | 1.47 <sup>c</sup>      | 3.58 <sup>c</sup>      |
| สังกะสี (Zn)                    | 0.875 <sup>b</sup>       | 68.26 <sup>c</sup>     | 48.90 <sup>c</sup>     |
| โมลิบดีนัม (Mo)                 | 0.044 <sup>b</sup>       | 0.055 <sup>c</sup>     | 4.78 <sup>c</sup>      |
| นิกเกิล (Ni)                    | 0.031 <sup>b</sup>       | 0.52 <sup>c</sup>      | 0.54 <sup>c</sup>      |

<sup>a</sup> = หน่วยกรัมต่อลิตร, <sup>b</sup> = หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร และ <sup>c</sup> = หน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

#### 4.2 การผลิตเอทานอลแบบกะโดยใช้อาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล

รูปที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในระหว่างการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรการผลิตเอทานอล ซึ่งพบว่า pH เริ่มต้นของน้ำหมักมีค่า 4.46 และลดลงในช่วงเวลาที่ 12 หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ความเข้มข้นเซลล์ยีสต์เริ่มต้น  $5.85 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพิ่มขึ้นเป็น  $2.40 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ช่วงเวลาที่ 12 และมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดการทดลอง เมื่อพิจารณาความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดพบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นมีค่า 281.66 กรัมต่อลิตร น้ำตาลทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงช่วงเวลาที่ 36 และเริ่มคงที่ในช่วงเวลาที่ 56 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเหลือความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด 30.55 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นเอทานอลพบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ช่วงเวลาที่ 0 ถึง 36 และเริ่มคงที่ในช่วงเวลาที่ 56

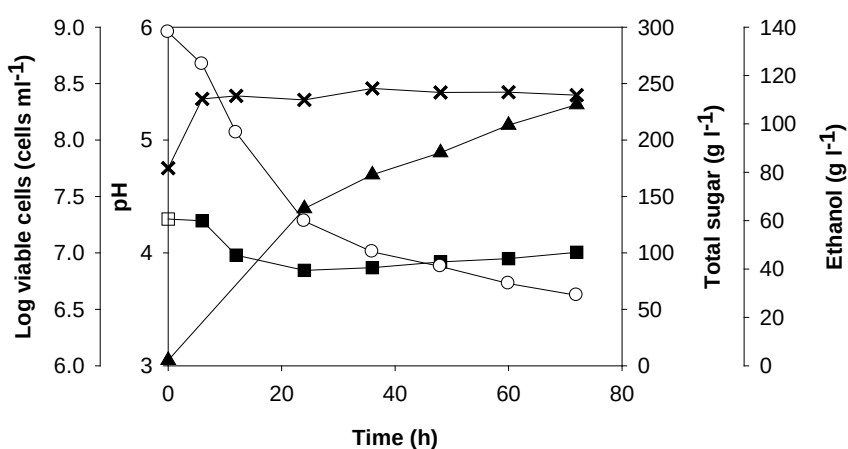


รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล : ■ = pH, × = เซลล์ยีสต์ที่มีชีวิต, ○ = น้ำตาลทั้งหมด และ ▲ = เอทานอล

เมื่อคำนวณค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญของการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล พบว่า ได้ความเข้มข้นเอทานอล ผลได้ และอัตราผลผลิตเอทานอล  $121.13 \pm 0.24$ ,  $0.49 \pm 0.00$  และ  $2.16 \pm 0.00$  ตามลำดับที่ ระยะเวลาการหมัก 56 ชั่วโมง

#### 4.3 การผลิตเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการเติมสารอาหาร

รูปที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการเติมสารอาหาร ซึ่งพบว่า pH เริ่มต้นของน้ำหมักมีค่า 4.30 และลดลงในชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ความเข้มข้นเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตเพิ่มขึ้นจาก  $5.64 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร (0 ชั่วโมง) เป็น  $2.32 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 6 และมีค่าค่อนข้างคงที่หลังจากนั้น ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดที่เวลา 0 ชั่วโมง มีค่า 295.50 กรัมต่อลิตร จากนั้นน้ำตาลทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก และค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 72 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองหลงเหลือน้ำตาลทั้งหมดประมาณ 62.44 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาเอทานอลที่ผลิตขึ้นพบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 24 และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนถึงชั่วโมงที่ 72

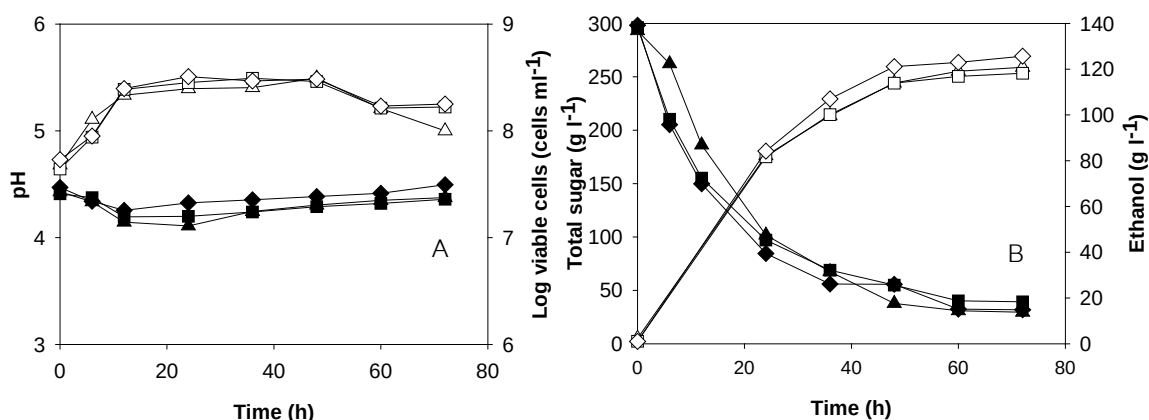


รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการเติมสารอาหาร : ■ = pH, × = เซลล์ยีสต์ที่มีชีวิต, ○ = น้ำตาลทั้งหมด และ ▲ = เอทานอล

เมื่อคำนวณค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการเติมสารอาหาร พบว่า ได้ค่าความเข้มข้นเอทานอล ผลได้ และอัตราผลผลิตเอทานอล  $107.96 \pm 0.51$ ,  $0.46 \pm 0.00$  และ  $1.50 \pm 0.01$  ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการหมัก 72 ชั่วโมง

#### 4.4 การผลิตเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมสารอาหาร

รูปที่ 4.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมสารอาหารต่างๆ ได้แก่ 1) กากเซลล์ยีสต์ หรือ DSY 2) ยีสต์เอ็กซ์แทรคพร้อมกับโลหะ (YeMe) และ 3) กากเซลล์ยีสต์พร้อมกับโลหะ (DSYMe) ซึ่งพบว่า รูปแบบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมสารอาหารทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะคล้ายคลึงกัน โดยมีค่า pH เริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.41 - 4.47 และมีค่าลดลงเล็กน้อยในช่วง 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้น pH มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ความเข้มข้นเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตเพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 12 และมีค่าค่อนข้างคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 48 จากนั้นความเข้มข้นเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตมีค่าลดลงเล็กน้อย เมื่อพิจารณาความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดพบว่า ใน 24 ชั่วโมงแรก การเติมเฉพาะ DSY จะมีการใช้น้ำตาลได้ช้ากว่าการเติม YeMe และ DSYMe แต่หลังจากนั้นการลดลงของน้ำตาลในอาหารทั้ง 3 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน โดยน้ำตาลทั้งหมดเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 60 เมื่อสิ้นสุดการทดลองในทั้ง 3 สภาวะ มีน้ำตาลทั้งหมดเหลือประมาณ 30 - 39 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นเอทานอลที่ผลิตขึ้นพบว่า ใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก การเติมสารอาหารทั้ง 3 สภาวะสามารถผลิตเอทานอลได้ไม่แตกต่างกัน แต่หลังจากนั้นการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรคพร้อมกับโลหะหรือ YeMe จะได้ความเข้มข้นเอทานอลสูงกว่าอีก 2 สภาวะ (รูปที่ 4.3)



**รูปที่ 4.3** การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมสารอาหาร : ▲, △ = กากเซลล์ยีสต์ (DSY); ◆, ◇ = ยีสต์เอ็กซ์แทรคพร้อมกับโลหะ (YeMe) และ ■, □ = กากเซลล์ยีสต์พร้อมกับโลหะ (DSYMe); รูป A : สัญลักษณ์ทึบ = pH, สัญลักษณ์โปร่ง = เซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตรอด, รูป B : สัญลักษณ์ทึบ = น้ำตาลทั้งหมด, สัญลักษณ์โปร่ง = เอทานอล

เมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ของการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมสารอาหารต่างๆ (ตารางที่ 4.2) พบว่าสภาวะที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงสุดจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานคือ การเติมยีสต์เอ็กซ์แทรคพร้อมกับโลหะ (YeMe) โดยได้ความเข้มข้นเอทานอล ผลได้ และ

อัตราผลผลิตเอทานอล  $121.10 \pm 1.54$ ,  $0.50 \pm 0.01$  และ  $2.53 \pm 0.02$  ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง การเติม DSY และ DSY ร่วมกับโลหะ (DSYMe) สามารถผลิตเอทานอลได้ใกล้เคียงกัน คือ  $119.13 \pm 0.86$  และ  $117.15 \pm 0.22$  กรัมต่อลิตร ที่เวลาในการหมัก 60 ชั่วโมง ระยะเวลาการหมักของการเติม DSY และการเติม DSYMe นานกว่า ทำให้อัตราผลผลิตเอทานอล ( $Q_p$ ) ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ  $Q_p$  ของการเติม YeMe ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า การเติมโลหะร่วมกับ DSY ไม่ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล เมื่อเทียบกับการเติม DSY เพียงอย่างเดียว

**ตารางที่ 4.2** ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมสารอาหาร

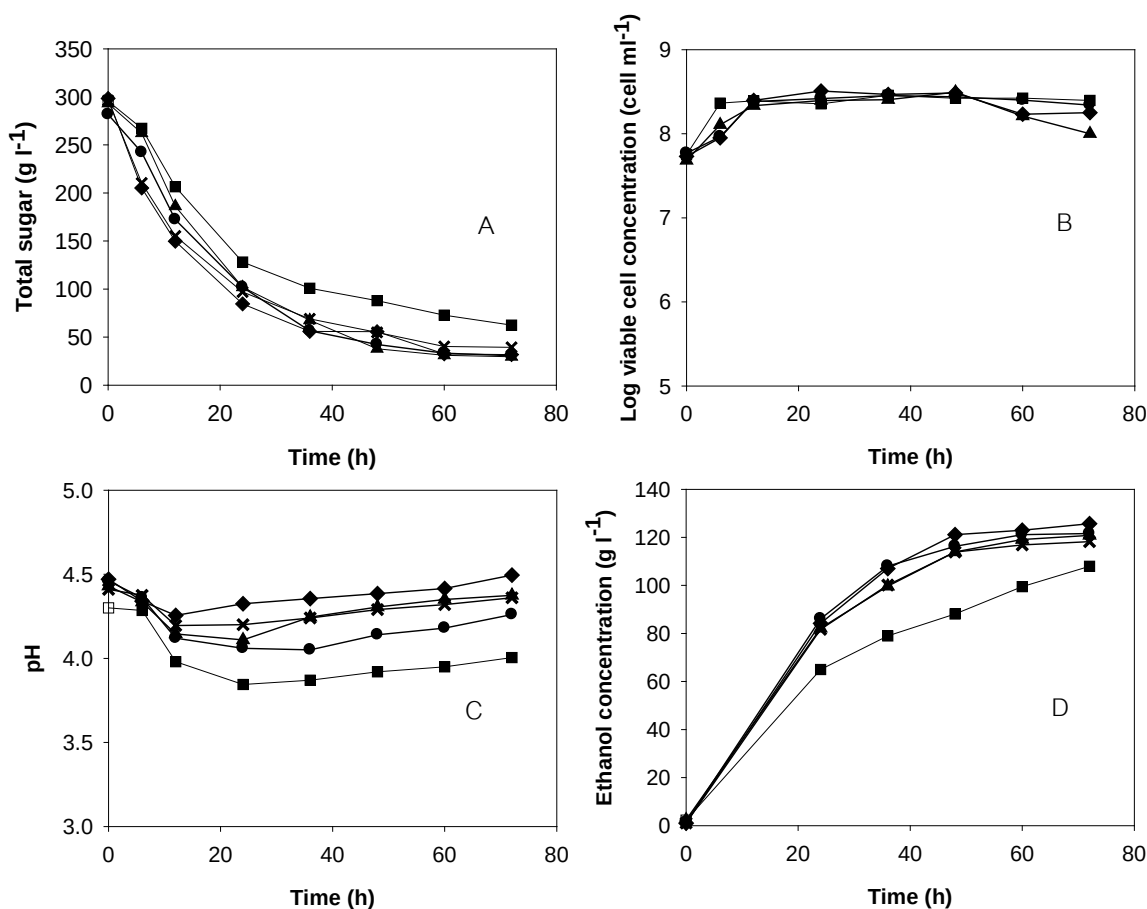
| สภาวะการทดลอง | ความเข้มข้นเอทานอล (P), กรัมต่อลิตร | ผลได้ ( $Y_{p/s}$ ), กรัมต่อกรัม | อัตราผลผลิต ( $Q_p$ ), กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง | เวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง) |
|---------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------|
| *DSY          | $119.13 \pm 0.86$                   | $0.46 \pm 0.00$                  | $1.99 \pm 0.02$                              | 60                            |
| *YeMe         | $121.10 \pm 1.54$                   | $0.50 \pm 0.01$                  | $2.53 \pm 0.02$                              | 48                            |
| *DSYMe        | $117.15 \pm 0.22$                   | $0.48 \pm 0.01$                  | $1.95 \pm 0.01$                              | 60                            |

\* DSY = กากเซลล์ยีสต์ 13.34 กรัมต่อลิตร, YeMe (ยีสต์เอ็กซ์แทรคพร้อมกับโลหะ) = ยีสต์เอ็กซ์แทรค 9, สังกะสี 0.01, แมกนีเซียม 0.05 และ แมงกานีส 0.04 กรัมต่อลิตร และ DSYMe (กากเซลล์ยีสต์พร้อมกับโลหะ) = กากเซลล์ยีสต์ 13.14, สังกะสี 0.01, แมกนีเซียม 0.05 และ แมงกานีส 0.04 กรัมต่อลิตร

#### 4.5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลแบบกะจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอลและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน

รูปที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในระหว่างการหมักเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานที่เติมและไม่เติมสารอาหารเสริม และในอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรการผลิตเอทานอล ผลการทดลองพบว่า ในสภาวะที่ไม่มีการเติมสารอาหารเสริม (ชุดควบคุม) จะมีอัตราการใช้น้ำตาลต่ำสุดและเหลือปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุด คือ 62.44 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการหมัก 72 ชั่วโมง (รูปที่ 4.4A) ในขณะที่ในอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรการผลิตเอทานอล และในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่เติมสารอาหารเสริมต่างๆ มีความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดเหลือน้อยกว่าในสภาวะที่ไม่มีการเติมสารอาหาร โดยมีค่าอยู่ในช่วง 30 ถึง 40 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของเซลล์ในน้ำหมักพบว่า สารอาหารเสริม (Ye, DSY และ Me) ที่เติมลงไปในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานไม่มีผลต่อการเจริญและการมีชีวิตรอดของเซลล์ยีสต์ (รูปที่ 4.4B) จำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรก และมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดการทดลอง อย่างไรก็ตามในสภาวะที่เติม DSY เพียงอย่างเดียวและ YeMe ความเข้มข้นเซลล์ยีสต์มีค่าลดลงในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งอาจเป็นเพราะ 2 สภาวะนี้มีความเข้มข้นเอทานอลสูงกว่าสภาวะอื่นจึงมีความเป็นพิษต่อเซลล์ยีสต์มากกว่า เมื่อพิจารณาค่า pH ในระหว่างการหมักพบว่า มีแนวโน้มลดลงในช่วง 12 ชั่วโมง (รูปที่ 4.4C) และหลังจากชั่วโมงที่ 24 pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ตลอดระยะเวลาในการหมักพบว่า pH ภายใต้อาหารที่ทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 3.90 ถึง 4.47 โดยในสภาวะที่ไม่มีการเติมสารอาหาร (ชุดควบคุม) pH มีค่าต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะอื่นๆ อย่างไรก็ตามช่วง pH ดังกล่าวเป็นช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอทานอลของยีสต์ (Narendranath และ Power 2005) และเมื่อพิจารณาความ

เข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมัก พบว่าในสถานะที่ไม่เติมสารอาหาร ความเข้มข้นเอทานอลมีค่าต่ำสุดคือ  $107.96 \pm 0.51$  กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.4D) ในขณะที่ในอาหารสังเคราะห์ สถานะที่มีการเติม DSY, YeMe และ DSYMe ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นโดยมีค่าอยู่ในช่วง 117 – 121 กรัมต่อลิตร



**รูปที่ 4.4** การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล และน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมและไม่เติมสารอาหารเสริม ■ = ชุดควบคุม, × = อาหารสังเคราะห์, ▲ = กากเซลล์ยีสต์ (DSY), ◆ = ยีสต์เอ็กซ์แทรคพร้อมกลูโคส (YeMe) และ ● = กากเซลล์ยีสต์ร่วมกับกลูโคส (DSYMe)

เมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรการผลิตเอทานอลและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีและไม่มีการเติมสารอาหาร (ตารางที่ 4.3) พบว่าสถานะที่ให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงสุด คือ ในสถานะที่มีการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรคพร้อมกลูโคส หรือ YeMe โดยได้ความเข้มข้นเอทานอล ( $P$ )  $121.10 \pm 1.54$  กรัมต่อลิตร ผลได้ ( $Y_{p/s}$ )  $0.50 \pm 0.01$  กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาล และอัตราผลผลิต ( $Q_p$ )  $2.53 \pm 0.02$  กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง หากพิจารณาเฉพาะค่า  $P$  และ  $Y_{p/s}$  ของน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่เติม YeMe ได้ค่า  $P$  และ  $Y_{p/s}$  ไม่แตกต่างกับเมื่อใช้อาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล อย่างไรก็ตามการใช้น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่เติม YeMe มีระยะเวลาในการหมัก (48 ชั่วโมง) สั้นกว่าเมื่อใช้อาหารสังเคราะห์ (56 ชั่วโมง) จึงทำให้ค่า  $Q_p$  ของน้ำคั้นที่เติม YeMe สูงกว่า การเติมเฉพาะ DSY ลงในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานสามารถผลิตเอทานอลได้ค่าที่ใกล้เคียงกับในสถานะที่มีการเติม YeMe (ตาราง 4.3) แต่มีระยะเวลา

การหมักนานกว่าประมาณ 12 ชั่วโมง โดยที่สภาวะที่เติม DSY ได้  $P$ ,  $Y_{p/s}$  และ  $Q_p$  เท่ากับ  $119.13 \pm 0.86$  กรัมต่อลิตร,  $0.46 \pm 0.00$  กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาล และ  $1.99 \pm 0.02$  กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า DSY มีศักยภาพที่สามารถนำมาใช้แทนยีสต์เอ็กซ์แทรกต์ได้ นอกจากนี้พบว่า  $Y_{p/s}$  ของอาหารทุกสภาวะ ( $0.46 - 0.50$ ) มีค่าต่ำกว่า  $Y_{p/s}$  ทางทฤษฎี ( $0.54$ ) แสดงให้เห็นว่า *S. cerevisiae* NP01 น่าจะสร้างผลพลอยได้ (by-product) อย่างอื่น เช่น กลีเซอรอล (glycerol) เป็นต้น

**ตารางที่ 4.3** ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบจากอาหารสังเคราะห์สูตรมาตรฐานการผลิตเอทานอลและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่สภาวะต่างๆ

| สภาวะการทดลอง   | ความเข้มข้นเอทานอล ( $P$ ),<br>กรัมต่อลิตร | ผลได้ ( $Y_{p/s}$ ),<br>กรัมต่อกรัม | อัตราผลผลิต ( $Q_p$ ),<br>กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง | เวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง) |
|-----------------|--------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|
| อาหารสังเคราะห์ | $121.13 \pm 0.24$                          | $0.49 \pm 0.00$                     | $2.16 \pm 0.00$                                 | 56                            |
| *ชุดควบคุม      | $107.96 \pm 0.51$                          | $0.46 \pm 0.00$                     | $1.50 \pm 0.01$                                 | 72                            |
| **DSY           | $119.13 \pm 1.22$                          | $0.46 \pm 0.00$                     | $1.99 \pm 0.02$                                 | 60                            |
| **YeMe          | $121.10 \pm 1.54$                          | $0.50 \pm 0.01$                     | $2.53 \pm 0.02$                                 | 48                            |
| **DSYMe         | $117.15 \pm 0.22$                          | $0.46 \pm 0.01$                     | $1.95 \pm 0.00$                                 | 60                            |

\*ในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน

\*\*DSY = กากเซลล์ยีสต์ 13.34 กรัมต่อลิตร, YeMe = ยีสต์เอ็กซ์แทรกต์ 9, สังกะสี 0.01, แมกนีเซียม 0.05 และ แมงกานีส 0.04 กรัมต่อลิตร และ DSYMe = กากเซลล์ยีสต์ 13.14, สังกะสี 0.01, แมกนีเซียม 0.05 และ แมงกานีส 0.04 กรัมต่อลิตร

Bai และคณะ (2008) รายงานว่า ภายใต้สภาวะการหมักเอทานอลแบบ VHG ปริมาณไนโตรเจนที่นำไปใช้ได้ (fermentable nitrogen) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในอาหารที่ใช้หมัก ในการผลิตเอทานอลโดยใช้ *S. cerevisiae* นอกจากจะผลิตชีวมวลและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์แล้วยังมีการสร้างผลพลอยได้ (by-product) อื่นๆ เช่น กลีเซอรอล และกรดอินทรีย์ (เช่น กรดอะซิติก กรดไพรูวิก และกรดซักซินิก) เป็นต้น (Aili และ Xun, 2008) ดังนั้นจึงทำให้ได้ผลได้ของเอทานอล ( $Y_{p/s}$ ) ต่ำกว่าผลได้ในทางทฤษฎี

เนื่องจากปริมาณการใช้ไนโตรเจนมีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล และผลพลอยได้จะถูกผลิตสูงขึ้นเมื่อสภาวะการหมักของยีสต์อยู่ในสภาวะเครียด (osmolytic stress) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงวัดปริมาณ fermentable nitrogen และกลีเซอรอลในน้ำหมัก ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.4 ซึ่งพบว่า ปริมาณ fermentable nitrogen เริ่มต้นในชุดควบคุม DSY และ DSYMe มีค่าอยู่ในช่วง  $311.05 \pm 0.00$  ถึง  $399.50 \pm 4.40$  มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ในสภาวะที่มีการเติม YeMe มีปริมาณ fermentable nitrogen เริ่มต้นสูงสุดคือ  $693.60 \pm 5.71$  มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือสภาวะที่เติมอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอลซึ่งมีค่า  $628.84 \pm 1.15$  มิลลิกรัมต่อลิตร การที่ความเข้มข้นของ fermentable nitrogen ใน DSY และ DSYMe ไม่เท่ากับใน YeMe ทั้งๆที่ DSY 13.14 g/l มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับในยีสต์เอ็กซ์แทรกต์ 9 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าใน DSY มีไนโตรเจนในรูปที่ยีสต์ไม่สามารถนำไปใช้ได้สูงกว่าในยีสต์เอ็กซ์แทรกต์ และเมื่อพิจารณาการใช้ fermentable nitrogen ในการหมักเอทานอล พบว่าในสภาวะที่เติม YeMe ปริมาณ fermentable nitrogen ถูกใช้สูงสุดคือ  $381.38 \pm 3.83$  มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับความเข้มข้นเอทานอลที่ผลิตได้สูงสุดเช่นกัน

อย่างไรก็ตามสถานะที่ใช้น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการเติมอาหารเสริม (ชุดควบคุม) และสถานะ DSYMe มีปริมาณการใช้ fermentable nitrogen ใกล้เคียงกัน (235 – 255 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่สถานะควบคุมผลิตเอทานอลได้น้อยกว่าสถานะ DSYMe ถึง 10 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณ fermentable nitrogen ที่ *S. cerevisiae* NP01 ใช้ อาจไม่มีผลโดยตรงต่อความเข้มข้นเอทานอลที่สร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก

ในการเจริญภายใต้สถานะ osmotic stress เซลล์ยีสต์จะผลิตกลีเซอรอลออกมาสะสมภายในเซลล์เพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์แตก (Aili และ Xun, 2008, Siderius และคณะ, 2000) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นกลีเซอรอลในแต่ละสถานะมีค่าใกล้เคียงกัน คือ  $11.27 \pm 0.09$  ถึง  $12.43 \pm 0.11$  กรัมต่อลิตร ซึ่งความเข้มข้นกลีเซอรอลจากการศึกษานี้มีค่าใกล้เคียงกับที่รายงานโดย Chan-u-tit (2012) ซึ่งได้ความเข้มข้นกลีเซอรอลประมาณ 12 กรัมต่อลิตร ในการผลิตเอทานอลภายใต้สถานะการหมักแบบ VHG

**ตารางที่ 4.4** ปริมาณ fermentable nitrogen ที่ถูกใช้ และความเข้มข้นกลีเซอรอลที่ผลิตขึ้นในระหว่างการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอลและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่สถานะต่างๆ

| สถานะการทดลอง   | ปริมาณ fermentable nitrogen<br>(มิลลิกรัมต่อลิตร) |                   | ความเข้มข้นกลีเซอรอล<br>(กรัมต่อลิตร) |
|-----------------|---------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|
|                 | ปริมาณก่อนหมัก                                    | ปริมาณที่ถูกใช้   |                                       |
| อาหารสังเคราะห์ | $628.84 \pm 1.15$                                 | $317.51 \pm 1.93$ | $12.36 \pm 0.11$                      |
| *ชุดควบคุม      | $311.05 \pm 0.00$                                 | $255.60 \pm 5.74$ | $11.27 \pm 0.09$                      |
| **DSY           | $399.50 \pm 4.40$                                 | $314.83 \pm 3.29$ | $11.83 \pm 0.45$                      |
| **YeMe          | $693.60 \pm 5.71$                                 | $381.38 \pm 3.83$ | $11.93 \pm 0.35$                      |
| **DSYMe         | $386.53 \pm 1.91$                                 | $235.32 \pm 3.83$ | $12.43 \pm 0.11$                      |

\* ในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน

\*\* DSY = กากเซลล์ยีสต์ 13.34 กรัมต่อลิตร, MeYe = ยีสต์เอ็กซ์แทรค 9, สังกะสี 0.01, แมกนีเซียม 0.05 และแมงกานีส 0.01 กรัมต่อลิตร และ MeDSY = กากเซลล์ยีสต์ 13.14, สังกะสี 0.01, แมกนีเซียม 0.05 และ แมงกานีส 0.01 กรัมต่อลิตร