บทที่ 5
บทสรุป

5.1 สรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้แบคทีเรีย *Cl. acetobutylicum* TISTR 1462 เพื่อผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ (แอซิโตน บิวทานอล และเอทานอล) โดยใช้วัตถุดิบจากแป้งมันสำปะหลังเป็นแห่งอาหารหลัก เสริมด้วยสารสกัดจากยีสต์ที่เหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์เป็นแหล่งไนโตรเจนในกระบวนการหมักแบบกะ จากการทดลองพบว่า แบคทีเรีย *Cl. acetobutylicum* TISTR 1462 สามารถใช้วัตถุดิบจากมันสำปะหลังซึ่งมีอยู่มากในประเทศและราคาถูกในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ผลของการเตรียมตัวอย่างมันสำปะหลังก่อนนำเข้าสู่กระบวนการหมักโดยการย่อยด้วยเอนไซม์นั้น ไม่ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์แต่อย่างใด เมื่อเปรียบเทียบปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่ได้กับตัวอย่างมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการเตรียมตัวอย่างก่อน สำหรับการเตรียมตัวอย่างก่อนการหมักด้วยกรดไฮโดรคลอลิกเจือจาง พบว่าทำให้การผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ลดลงจาก 21.20 g/L เหลือ 17.07 g/L หรือคิดเป็น 19.48% เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการเตรียมตัวอย่างก่อน ซึ่งเชื่อว่าสาเหตุน่าจะมาจากสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Growth inhibitor substance) ที่เกิดขึ้นในขณะเตรียมตัวอย่างก็เป็นได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการควบคุมค่า pH ของน้ำหมักให้คงที่ที่ pH 5.5 สามารถผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการควบคุมค่า pH ถึง 1.5 เท่า ส่วนผลของการเปรียบเทียบชนิดของแหล่งไนโตรเจน พบว่าการใช้สารสกัดจากยีสต์ที่เหลือใช้จากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์เป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้ 18.46 g/L ซึ่งเทียบเท่ากับใช้สารสกัดจากยีสต์ทางการค้า ที่ผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งหมดได้เท่ากับ 20.86 g/L จากข้อมูลทั้งหมดที่กล่าวมา แสดงให้เห็นว่าวัตถุดิบจากมันสำปะหลังสามารถใช้เพื่อผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากกว่า 19 g/L โดยมีการย่อยตัวอย่างเพียงบางส่วนก่อนทำการหมักเท่านั้น ยิ่งไปกว่านั้น กระบวนการหมักวัตถุดิบจากแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีราคาถูก และมีอยู่มากตลอดทั้งปีในประเทศไทย โดยการใช้วิธีการการควบคุมค่า pH ของน้ำหมักที่ pH 5.5 ร่วมกับการใช้สกัดจากยีสต์ที่เหลือใช้จากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ ถือว่าเป็นวัตถุดิบที่มีประสิทธิภาพอีกทางเลือกหนึ่ง ที่สามารถใช้เพื่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรมที่ยั้งยืนต่อไปได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่มุ่งเน้นไปที่การผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ (แอซิโตน บิวทานอล และเอทานอล) ในกระบวนการหมักแบบกะ โดยใช้วัตถุดิบจากมันสำปะหลัง ทั้งแป้งมัน กากมัน และมันเส้น ซึ่งมีอยู่มากภายในประเทศ ที่สำคัญราคาถูกและสามารถหาได้ง่ายตลอดทั้งปีอีกด้วย ซึ่งในการวิจัยนี้จะใช้แบคทีเรีย *Cl. acetobutylicum* TISTR 1462 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารละลายอินทรีย์ที่ต้องการได้ในปริมาณมาก และเป็นแบคทีเรียที่ได้รับความนิยมมากที่สุดสำหรับการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรมด้วย นอกจากนี้แบคทีเรียดังกล่าวยังมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยวัตถุดิบประเภทแป้งอีกด้วย อย่างไรก็ตามในกรณีของการใช้ตัวอย่างกากมันซึ่งมีองค์ประกอบของเส้นใยอยู่ในปริมาณมากนั้น แบคทีเรียจะไม่สามารถใช้วัตถุดิบดังกล่าวในการเจริญและสร้างตัวทำละลายอินทรีย์ได้โดยตรง เนื่องจากไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ที่มีคุณสมบัติในการย่อยองค์ประกอบของโมเลกุลที่เป็นเส้นใยได้ ดังนั้นจะต้องมีการเตรียมตัวอย่างโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ หรือกรดก่อนนำเข้าสู่กระบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนโมเลกุลที่ซับซ้อนของตัวอย่าง ให้กลายเป็นน้ำตาลที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักได้ ทั้งนี้จากการทดลองพบว่าการเตรียมตัวอย่างกากมันด้วยกรดนั้น มีผลทำให้ประสิทธิภาพของการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ของแบคทีเรียลดลงประมาณ 19% เมื่อเปรียบเทียบกับการเตรียมตัวอย่างโดยการใช้เอนไซม์ แต่ทั้งนี้การเตรียมตัวอย่างด้วยกรดก่อนการหมักมีข้อได้เปรียบในเรื่องของต้นทุนการผลิต ประกอบกับเป็นวิธีการที่ค่อนข้างสะดวก รวดเร็ว และประหยัดในการผลิตน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจากอนุพันธ์ของสารที่ซับซ้อน เช่น Polysaccharide ดังนั้นถ้าจะใช้ตัวอย่างกากมันในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ ในการวิจัยนี้จึงขอแนะนำให้เลือกวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยกรดเจือจาง ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ต้นทุนต่ำและมีประสิทธิภาพสูงอีกด้วย

ถ้าจะมีการทดลองครั้งต่อไป ควรที่จะนำโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่สามารถวิเคราะห์ผลทางสถิติ เช่น โปรแกรม Response Surface Methodology (RSM) มาช่วยวิเคราะห์ผลการทดลองเพื่อหาจุดที่เหมาะสมอย่างแท้จริง ของแต่ละปัจจัยซึ่งมีผลต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ที่ได้ศึกษาไป ไม่ว่าจะเป็นการควบคุมค่า pH ของน้ำหมัก ความเข้มข้นเริ่มต้นของตัวอย่างที่ใช้ ตลอดจนเพิ่มปัจจัยอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ ซึ่งเชื่อว่าน่าจะมีผลต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยแบคทีเรียกลุ่มนี้อย่างมาก เพื่อให้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ควรมีการเพิ่มการศึกษาถึงระบบการหมักแบบต่อเนื่อง โดยการเลี้ยงแบบ Chemostat และ Turbidostat ตลอดจนควรมีการศึกษาถึงการเลี้ยงแบคทีเรีย *Cl. acetobutylicum* TISTR 1462 โดยวิธีการตรึงเซลล์ (Immobilized) แบบต่างๆ ด้วย

5.2 อุปสรรค

ในระหว่างการดำเนินการวิจัยพบปัญญาหลัก คือ การเกิดการกลายพันธุ์หรือเสื่อมสภาพ (Strain degeneration) ของแบคทีเรียที่ใช้ ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ลดลง หรือไม่พบการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์เลย จะพบเฉพาะการผลิตกรดอินทรีย์เท่านั้น ทั้งนี้แบคทีเรีย *Cl. acetobutylicum* TISTR 1462 เป็นแบคทีเรียที่เจริญและสร้างตัวทำละลายอินทรีย์ในสภาวะไร้ออกซิเจน (Strictly anaerobic bacteria) จึงทำให้เกิดความยุ่งยากในการดำเนินการวิจัย ทั้งในเรื่องของการควบคุมสภาวะของกระบวนการหมัก การเตรียมกล้าเชื้อเพื่อใช้ในกระบวนการหมัก ตลอดจนการเก็บรักษาแบคทีเรียที่จะใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการหมัก ในการนี้ได้แก้ปัญหาโดยทำการควบคุมสภาวะในระหว่างทำการหมัก โดยการไล่ออกซิเจนในน้ำหมักก่อนการถ่ายกล้าเชื้อด้วยแก๊สไนโตรเจนทุกครั้งและจะให้แก๊สไนโตรเจนต่อไปอีกเรื่อยๆ จนกระทั่งพบว่าแบคทีเรียเริ่มมีการเจริญและสร้างแก๊สได้เอง (คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน) จึงจะหยุดการให้แก๊สไนโตรเจน สำหรับการเก็บ Stock กล้าเชื้อนั้น จะเก็บในรูปของสปอร์โดยละลายในน้ำกลั่นแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะนำกล้าเชื้อนั้นไปใช้ เนื่องจากแบคทีเรียในรูปของสปอร์สามารถทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสม หรือมีออกซิเจนอยู่ได้ และที่สำคัญการเก็บกล้าเชื้อในรูปของสารละลายสปอร์นั้น สามารถป้องกันการเกิดการกลายพันธุ์และเสียสภาพธรรมชาติของแบคทีเรียได้อีกด้วย