บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลำไย

ลำไย (*Dimocarpus longan*, ภาพ 2.1) เป็นไม้ผลเขตกึ่งร้อนในวงศ์ Sapindaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางตอนใต้ของประเทศจีนซึ่งปลูกกันมานานหลายพันปี โดยปลูกมากในมณฑลฟูเกี้ยน กวางตุ้ง กวางสี ไต้หวัน และเสฉวน และได้แพร่กระจายไปสู่ อินเดีย ศรีลังกา พม่า ฟิลิปปินส์ ส่วนในแถบอเมริกาได้แก่ มลรัฐฮาวาย มลรัฐฟลอริด้า ประเทศสหรัฐอเมริกา คิวบา หมู่เกาะอินเดียตะวันตก และเกาะมาดากัสกา (พาวินและคณะ, 2547) เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จะสูง 10-12 เมตร ทรงพุ่มแผ่กว้างประมาณ 6-8 เมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลหรือสีเทาปนน้ำตาล แตกเป็นสะเก็ดและร่องขรุขระ ใบมีลักษณะเป็นใบรวม มีใบย่อยอยู่บนก้านใบร่วมกัน 3-5 คู่ ผลลำไยเป็นผลเดี่ยว เปลือกอาจขรุขระเป็นตุ่มหรือค่อนข้างเรียบ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

ภาพ 2.1 ลำไย (*Dimocarpus longan*)
ที่มา: เชียงใหม่นิวส์ (2552)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื้อลำไยสดโดยทั่วไปมีความหวาน 12 - 20 องศาบริกซ์ มีระดับความเป็นกรดด่าง 6.7 - 6.9 (มนัสวี , 2546) จัดเป็นผลไม้ที่ให้พลังงานแก่ผู้บริโภคสูง เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต มีน้ำตาลอยู่ 3 ชนิด คือ กลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ซึ่งอัตราส่วนของน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับกระบวนการเมตาบอลิซึม ระยะความแก่ และพันธุ์ของลำไย (Jiang *et al*., 2002) แพทย์แผนโบราณชาวจีนใช้ลำไยอบแห้งเป็นยา มีคุณสมบัติบำรุงหัวใจบำรุงเลือด บำรุงประสาท ช่วยย่อยเป็นอาหาร บำรุงกำลัง จึงเหมาะสำหรับผู้ที่มีร่างกายอ่อนแอ (พาวินและคณะ, 2547) มีรายงานผลการวิจัยคุณสมบัติของลำไยอบแห้งต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพว่า ลำไยอบแห้งมีฤทธิ์ยับยั้งความเป็นพิษของสารก่อมะเร็งในสิ่งแวดล้อมชื่อ 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ) โดยสารสกัดจากลำไยอบแห้งทำให้เซลล์มะเร็งตายแบบอะพอพโตซิส ในขณะที่สารสกัดจากลำไยสดไม่มีคุณสมบัติยับยั้งเซลล์มะเร็ง (อุษณีย์, 2548)

ในประเทศไทยมีแหล่งที่ปลูกลำไยทั้งสิ้น 26 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย พะเยา ลำปาง ลำพูน เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ตาก กำแพงเพชร สุโขทัย แพร่ น่าน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก เลย อุดรธานี หนองคาย ยโสธร อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ชัยภูมิ นครราชสีมา สุพรรณบุรี สระแก้ว จันทบุรี สมุทรสาคร และนครปฐม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552ก) ดังแสดงไว้ในภาพ 2.2 ในปี 2552 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกลำไยมากถึง 1,044,359 ไร่ โดยมีพื้นที่ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจาก 820,985 ไร่ในปี 2548 เป็น 968,717 ไร่ในปี 2552 มีผลผลิต 598,872 ตัน คิดเป็นผลผลิตต่อไร่เท่ากับ 618 กิโลกรัมต่อไร่ พื้นที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ลำไยปี 2548 - 2552 แสดงไว้ดังตาราง 2.1 ไทยเป็นผู้ส่งออกลำไยรายใหญ่ของโลก โดยตลาดหลักของไทยได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน อินโดนีเซีย และฮ่องกง การส่งออกส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของลำไยสดและลำไยอบแห้ง โดยในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา (ปี 2548 - 2552) ปริมาณการส่งออกลำไยสดและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องภายในประเทศและการส่งออกลดลงจาก 459,853 ตันในปี 2548 เป็น 409,952 ตันในปี 2552 แต่มีมูลค่าเพิ่มขึ้นจาก 4,992 ล้านบาท เป็น 6,824 ล้านบาท ตามลำดับ (ตาราง 2.2) สำหรับปริมาณและมูลค่าการส่งออก (ตาราง 2.3) ในปี 2552 สามารถแยกเป็นลำไยสดแช่แข็ง 240,032 ตัน มูลค่า 3,645.8 ล้านบาท ลำไยอบแห้ง 144,154 ตัน มูลค่า 2,589.6 ล้านบาท และลำไยกระป๋องอัดลม 25,766 ตัน มูลค่า 588.8 ล้านบาท ทั้งนี้ความต้องการของตลาดจีนซึ่งเป็นตลาดเก่าเพิ่มขึ้นอย่างมาก ส่วนตลาดใหม่ทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ก็เพิ่มขึ้นเช่นกัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552ค)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2.1 พื้นที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ลำไยปี 2548 - 2552

ปี	พื้นที่เพาะปลูก (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม/ไร่)
2548	820,985	712,178	867
2549	870,125	471,892	542
2550	939,029	495,457	528
2551	966,831	476,930	493
2552	968,717	598,872	618

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552ค)

ตาราง 2.2 การบริโภคลำไยสดและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องภายในประเทศและการส่งออกปี 2548 - 2552

ปี	ปริมาณการบริโภค	การส่งออก	
	(ตัน)	ปริมาณ (ตัน)	มูลค่า (ล้านบาท)
2548	100,000	459,853	4,992
2549	60,000	389,677	4,144
2550	65,000	545,957	4,946
2551	60,000	496,932	5,051
2552	55,000	409,952	6,824

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552ค)

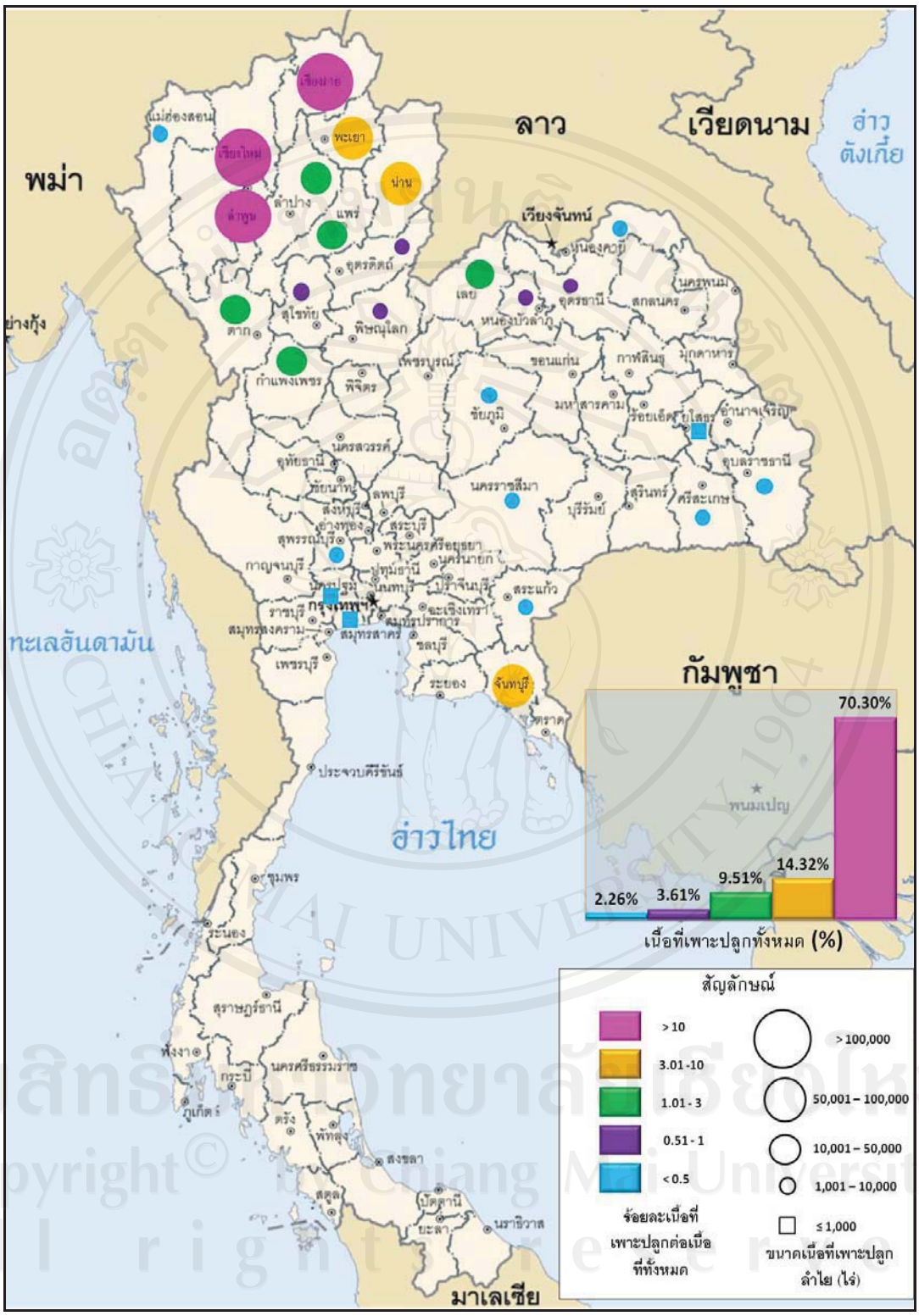
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2.3 ปริมาณ และมูลค่าส่งออกผลิตภัณฑ์ลำไย (ปี 2542 – 2552)

	ลำไยสดแช่แข็ง		ลำไยอบแห้ง		กระป๋องอัดลม	
ปี	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
2542	44,747	1,191.8	6,770	436.7	8,822	468.9
2543	102,927	2,160.6	55,904	2,414.9	11,715	476.3
2544	102,903	1,975.0	26,838	1,310.0	8,969	367.0
2545	114,403	1,986.8	29,917	1,326.1	11,507	412.7
2546	82,732	1,718.3	59.157	2,511.1	13,543	495.7
2547	116,042	2,191.5	71,563	1,534.2	11,321	403.3
2548	133,046	2,167.5	94,088	2.277.9	12,632	442.2
2549	119,138	2,120.6	78,363	1,604.8	11,279	402.9
2550	160,391	2,451.5	112,752	2,017.4	13,484	477.0
2551	168,632	2,630.2	91,567	1,832.6	26,130	588.2
2552	240,032	3,645.8	144,154	2,589.6	25,766	588.8

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553ก)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

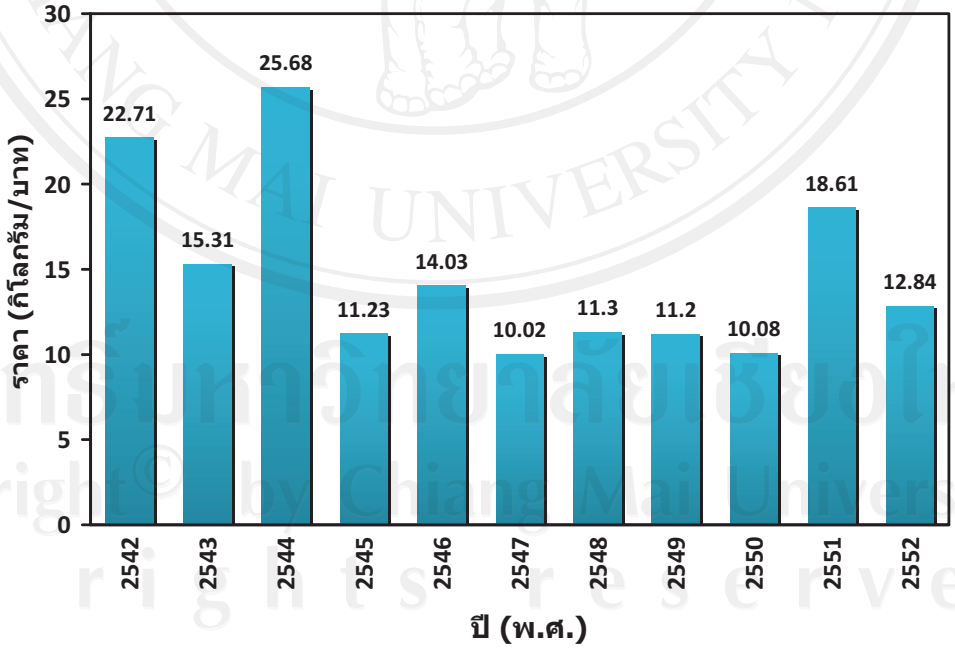


ภาพ 2.2 พื้นที่เพาะปลูกลำไยในประเทศไทย

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552ก)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อย่างไรก็ตามในแต่ละปีรัฐบาลได้ใช้งบประมาณหลายร้อยล้านบาท (กรุงเทพธุรกิจออนไลน์, 2553) ในการบริหารจัดการ แก้ไขปัญหาและบรรเทาความเดือดร้อนให้กับเกษตรกรผู้ปลูกลำไย เนื่องจากปัญหาการขยายเนื้อที่เพาะปลูกลำไยอย่างต่อเนื่องของเกษตรกร กระบวนการแปรรูปและคุณภาพลำไยอบแห้งที่ไม่ได้มาตรฐาน ผลผลิตลำไยจากภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ออกมาสู่ตลาดกระจุกตัวในช่วงสั้นระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม ทำให้เกิดการล้นตลาดส่งผลกระทบต่อการส่งออกและราคา (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2549; กรมวิชาการเกษตร, 2551) ส่วนภาคกลางจะมีผลผลิตมากในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ สำหรับปี 2552 ราคาลำไยสดชนิดดี (เกรด AA) และชนิดคละมีราคาลดลงจากปี 2551 โดยลดลงจากราคาเฉลี่ยกิโลกรัมละ 30.01 บาท และ 18.61 บาท เป็นเฉลี่ยราคากิโลกรัมละ 29.31 และ 17.63 บาท หรือลดลงเฉลี่ยร้อยละ 2.33 และ 5.27 ตามลำดับ ราคาลำไยสดชนิดรอง (เกรด A) มีราคาเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากปี 2551 โดยเพิ่มขึ้นจากราคาเฉลี่ยกิโลกรัมละ 26.25 บาท เป็นราคาเฉลี่ยกิโลกรัมละ 26.84 บาท หรือเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 2.25 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552ค) ส่วนราคาลำไยสดทั้งช่อคละมีราคาลดลงจากปี 2551 โดยลดลงจาก 18.61 บาทต่อกิโลกรัมเป็น 12.84 บาท ในปี 2552 ราคาลำไยสดทั้งช่อคละในช่วงปี 2542 – 2552 แสดงไว้ดังภาพ 2.3 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553ข)



ภาพ 2.3 ราคาลำไยทั้งช่อพันธุ์อีดอผลขนาดคละ ปี 2542 – 2552

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 เอทานอลและกระบวนการหมัก

2.2.1 เอทานอล

เอทานอล (ethanol, ethyl alcohol, C_2H_5OH) เป็นผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายแป้งและน้ำตาลด้วยเอนไซม์ในเชื้อจุลินทรีย์ (คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2550) โดยภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic fermentation) โมเลกุลไพรูเวตจะถูกเปลี่ยนให้เป็นเอทานอลด้วยวิถีการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน เพื่อที่จะผลิตนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+) ซึ่งจำเป็นในการดำเนินต่อไปของกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) (Science Encyclopedia, 2010)

เอทานอลมีสถานะเป็นของเหลวใสไม่มีสี ความหนาแน่น 0.789 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จุดเดือด 77.84 องศาเซลเซียส มีค่าออกเทนเท่ากับ 130 ซึ่งค่าออกเทนเป็นค่าที่แสดงเป็นร้อยละโดยมวลของไอโซออกเทนและเฮปเทนซึ่งเกิดจากการเผาไหม้ ที่ความดันบรรยากาศเมื่อเกิดการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์สามารถให้พลังงาน 6,440 กิโลแคลลอรี่ต่อกิโลกรัม หรือ 83,674 บีทียูต่อแกลลอน เปรียบเทียบกับน้ำมันเบนซินออกเทน 93 ซึ่งให้พลังงานประมาณ 120,242 บีทียูต่อแกลลอน (ชรินทร์, 2537) ปัจจุบันเอทานอลถูกนำมาใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนแทนเมธิลเทอร์เชียรี่บิวทิลอีเธอร์ (Methyl Tertiary Butyl Ether, MTBE) โดยผสมกับน้ำมันเบนซินในอัตราส่วนต่างๆ เป็นเชื้อเพลิงทางเลือกหลายชนิด ดังแสดงไว้ในตาราง 2.4

ตาราง 2.4 ส่วนประกอบ การใช้งาน และประเทศที่ใช้เชื้อเพลิงทางเลือกจากเอทานอล

ชนิด	ส่วนประกอบ (ร้อยละโดยปริมาตร)		การใช้งาน[9]	ประเทศ
	เอทานอล	น้ำมันเบนซิน		
E5	5	95	พาหนะทุกชนิด	อินเดีย[20] สวีเดน[14] ฟินแลนด์[14] แคนาดา[22] เดนมาร์ก[14]
E7	7	93	พาหนะทุกชนิด	คอสตาริก้า[4]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2.4 (ต่อ) ส่วนประกอบ การใช้งาน และประเทศที่ใช้เชื้อเพลิงทางเลือกจากเอทานอล

ชนิด	ส่วนประกอบ (ร้อยละ)		การใช้งาน[9]	ประเทศ
	เอทานอล	น้ำมันเบนซิน		
E10 (แก๊สโซฮอล์)	10	90	พาหนะที่มีอายุตั้งแต่ 15 ถึง 20 ปี	ฝรั่งเศส[14] แคนาดา[22] จีน[16] โคลัมเบีย[15] ออสเตรเลีย[21] จาไมก้า[5] นิวซีแลนด์[7] ปากีสถาน[19] ไทย[8] ออสเตรีย[14]
E15	15	85	พาหนะที่มีอายุตั้งแต่ 15 ถึง 20 ปี	-
E20	20	80	พาหนะที่มีเครื่องยนต์ออกแบบพิเศษ	บราซิล[3][12][23] ไทย[8]
E25	25	75	พาหนะที่มีเครื่องยนต์ออกแบบพิเศษ	บราซิล[3][12][23]
E70, E75	70, 75	30, 25	พาหนะที่มีเครื่องยนต์ออกแบบพิเศษ	สหรัฐอเมริกา[18] สวีเดน[17]
E 85	85	15	พาหนะที่มีเครื่องยนต์ออกแบบพิเศษ	สหรัฐอเมริกา[1] สวีเดน[17] ไทย[11]
ED95	95	ผสมสารเพิ่มการจุดระเบิดร้อยละ 5 แทนน้ำมัน	พาหนะที่มีเครื่องยนต์ดีเซลดัดแปลง	สวีเดน[2] สหราชอาณาจักร[2] สเปน[2] อิตาลี[2] เบลเยี่ยม[2] นอร์เวย์[2] บราซิล[13]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2.4 (ต่อ) ส่วนประกอบ การใช้งาน และประเทศที่ใช้เชื้อเพลิงทางเลือกจากเอทานอล

ชนิด	ส่วนประกอบ (ร้อยละ)		การใช้งาน[9]	ประเทศ
	เอทานอล	น้ำมันเบนซิน		
E100	100	0	พาหนะที่มีเครื่องยนต์ออกแบบพิเศษ	บราซิล[12]

ที่มา : [1] E85prices,2010; [2] Green Car Congress, 2010; [3] Diário Oficial da União, 2010; [4] Agüero, 2009(a,b); [5] Jamaica Information Service, 2008; [6] American coalition for ethanol, 2008; [7] Datamonitor, 2008; [8] Biofuels Digest, 2008; [9] The Royal Society, 2008; [10] Galbraith, 2008; [11] Green Car Congress, 2008; [12] Puerto Rico J.A.,2008; [13] Green Car Congress, 2007a; [14] Alliance Internationale de Tourisme/Fédération Internationale de l'Automobile Information Centre, 2007; [15] Rey, 2007; [16] Green Car Congress, 2007b; [17] Vägverket (Swedish Road Administration), 2007; [18] Ethanol Promotion and Information Council, 2007; [19] Pakistan State Oil, 2006; [20] Green Car Congress, 2006; [21] Shell Australia, 2006;[22] Canadian Renewable Fuels Association, 2000; [23] Casa Civil da Presidência de República, 1993.

ข้อดีของการใช้เอทานอลจากวัสดุเกษตรเป็นพลังงานทดแทน สรุปได้ดังนี้

1. เกษตรกรมีแหล่งหรือทางเลือกในการขายวัตถุดิบเพิ่มขึ้น
2. เกษตรกรสามารถสร้างโรงผลิตในแหล่งวัตถุดิบกระจายออกไปทั่วประเทศ
3. สามารถผลิตใช้เอง
4. สร้างงานให้เกษตรกรเพิ่มขึ้น ลดปัญหาการว่างงาน และกระจายแหล่งงานสู่ชนบท
5. ช่วยให้ประเทศชาติมีแหล่งพลังงานเพิ่มขึ้น
6. เพิ่มอำนาจการต่อรองให้กับเกษตรกร
7. ยกระดับราคาพืชไร่และเสถียรภาพด้านราคา
8. ลดมลพิษในอากาศจากสารเพิ่มค่าออกเทน MTBE โดยใช้เอทานอลผสมแทน
9. ตัดค่าขนส่งและค่าประกันทั้งในการส่งออกผลผลิตจากพืชไร่ไปยังตลาดต่างประเทศ และการนำเข้าเชื้อเพลิง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

10. ทำให้มีเงินทุนหมุนเวียนเพิ่มขึ้นเป็นการส่งเสริมเศรษฐกิจของประเทศ (คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2550)

2.2.2 กระบวนการผลิตเอทานอลโดยการหมัก (คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2550)

การเตรียมวัตถุดิบก่อนการหมัก ขั้นตอนแรกในกระบวนการผลิตเอทานอล คือการเตรียมวัตถุดิบก่อนการหมัก ซึ่งมีอยู่หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ ตัวอย่างวัตถุดิบที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ง่าย ได้แก่ กากน้ำตาล เพียงเจือจางด้วยน้ำเพื่อปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมก็สามารถนำไปหมักได้ ส่วนวัตถุดิบที่จุลินทรีย์นำไปใช้ได้ยาก เช่น หัวมันสำปะหลังซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีแป้งและเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ ในขณะที่วัตถุดิบประเภทเยื่อใย จะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลด้วยกรดหรือเอนไซม์ก่อนจะทำการหมัก

การเตรียมหัวเชื้อ (inoculum) เพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่แข็งแรงและมีปริมาณเพียงพอสำ-หรับใช้ในการหมัก รวมทั้งต้องปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการ เมื่อเตรียมหัวเชื้อเรียบร้อยแล้วจึงถ่ายลงถังหมักผสมกับวัตถุดิบ จากนั้นทำการปรับและควบคุมสภาวะการหมัก เช่น อัตราการให้อากาศ (aeration rate) อัตราการกวน (agitation rate) ระดับความเป็นกรดด่าง (pH level) และอุณหภูมิระหว่างการหมัก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดการหมัก ชนิดของผลิตภัณฑ์และชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก

การหมัก เมื่อเตรียมวัตถุดิบพร้อมแล้วนำมาถ่ายใส่ถังหมัก วัตถุดิบอาจผ่านหรือไม่ผ่านการฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับชนิดของการหมักและวัตถุดิบที่ใช้ เช่น กากน้ำตาลสามารถนำไปทำเป็นแอลกอฮอล์โดยไม่ต้องทำการฆ่าเชื้อก่อน (คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2550) เนื่องจากกากน้ำตาลที่ยังไม่ได้เจือจาง มีค่าปริมาณน้ำต่ำสุดในอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโต (water activity หรือ ค่า a_w) เท่ากับ 0.65 ซึ่งมีเชื้อราบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ที่บริเวณผิวหน้า (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2546; Food Science and Technology of Virginia Tech, 2010)

ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยเชื้อจุลินทรีย์มีด้วยกันสองช่วง ได้แก่ ช่วงที่มีการเจริญแบบใช้ออกซิเจน (aerobic cultivation) และช่วงที่ผลิตเอทานอล (ethanol production) ในช่วงแรกจะให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อากาศหรือออกซิเจนอย่างเต็มที่กระทั่งค่าอัตราการส่วนการหายใจ (respiratory quotient, RQ) ซึ่งเป็นอัตราส่วนโดยโมลระหว่างปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตได้ ต่อปริมาณออกซิเจนที่ใช้ไปอยู่ในช่วง 1 - 4 จากนั้นจึงทำการลดอัตราการไหลเข้าของอากาศลงเพื่อกระตุ้นให้เชื้อจุลินทรีย์ผลิตเอทานอลอันส่งผลให้ค่า RQ เพิ่มสูงขึ้นถึงช่วง 12 - 25 (Shin and Rogers, 1996a,b)

ช่วงที่ 1 ช่วงที่จุลินทรีย์มีการเจริญแบบใช้ออกซิเจน

เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นกลูโคส/ฟรุกโตส

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O \quad (1)$$

เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นซูโครส

$$2C_{12}H_{12}O_{11} + 19O_2 \rightarrow 24CO_2 + 12H_2O \quad (2)$$

Shuler and Kargi (1992) ระบุว่าในทางทฤษฎีค่าสัดส่วนมวลชีวภาพต่อปริมาณกลูโคสที่ใช้ไป ($Y_{X/S}$) คือ 0.4 กรัมมวลแห้งของเซลล์ต่อกรัมกลูโคส และเปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้จริงในช่วง 0.38 – 0.51 กรัมต่อกรัม

ช่วงที่ 2 ช่วงที่จุลินทรีย์มีการผลิตเอทานอล

เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นกลูโคส/ฟรุกโตส

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 \quad (3)$$

จากสมการเคมีคำนวณค่าสัดส่วนเอทานอลที่ผลิตได้ต่อปริมาณกลูโคสที่ใช้ไป ($Y_{P/S}$)

= 2(46)/180

= 0.511 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคสหรือฟรุกโตส ($Y_{P/S}$ ในทางทฤษฎี)

เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นซูโครส

$$6C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \rightarrow 4C_2H_5OH + 4CO_2 \quad (4)$$

จากสมการเคมีคำนวณค่าสัดส่วนเอทานอลที่ผลิตได้ต่อปริมาณซูโครสที่ใช้ไป ($Y_{P/S}$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

= 4(46)/342

= 0.538 กรัมเอทานอลต่อกรัมซูโครส ($Y_{P/S}$ ในทางทฤษฎี)

ทั้งนี้ค่าที่วัดได้จริงจะมีค่าประมาณร้อยละ 90 – 95 ของ $Y_{P/S}$ ในทางทฤษฎี เพราะน้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนรูปให้เป็นมวลชีวภาพและสารอื่นๆ ในกระบวนการเมตาโบลิซึม (Shuler and Kargi, 1992)

Dien *et al.* (2003) อธิบายสถานภาพในปัจจุบันของแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทดแทน พบว่าในช่วงระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมามีการใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรมกับเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เพื่อพัฒนาให้เหมาะสมกับการผลิตเอทานอลระดับอุตสาหกรรม เช่น ในกรณีสารตั้งต้นที่เป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรอย่างลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) ซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรตซับซ้อนต่างๆ เชื้อจุลินทรีย์ต้องสามารถใช้น้ำตาลหลายหลากชนิดในกระบวนการหมัก โดยเฉพาะน้ำตาลที่ยีสต์สำหรับหมักไวน์ *Saccharomyces cerevisiae* นำไปใช้ไม่ได้ ตัวอย่างของแบคทีเรียแกรมลบที่ถูกปรับแต่งสายพันธุกรรมจนนำไปใช้ในกระบวนการหมักได้ดี คือ *Escherichia coli, Klebsiella oxytoca* และ *Zymomonas mobilis* เกณฑ์การคัดเลือกจุลินทรีย์ในการผลิตเอทานอล คือค่าสัดส่วนเอทานอลที่ผลิตได้ต่อสารตั้งต้นที่ถูกใช้ไป (ethanol yield) เนื่องจากค่าใช้จ่ายกว่า 1 ใน 3 ของอุตสาหกรรมผลิตเอทานอลคือค่าวัตถุดิบ ค่า yield ที่สูงเป็นสิ่งระบุว่าเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์นั้นๆ สามารถผลิตเอทานอลโดยมีสารผลิตภัณฑ์ข้างเคียงเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยและใช้น้ำตาลกลุ่มหลักๆ อย่าง กลูโคส ไซโลส แอราบิโนส กาแลกโตส และ แมนโนส ได้ทั้งหมด

การนำ *E. coli* มาใช้ในการผลิตเอทานอลมีข้อดีหลายประการได้แก่ ความสามารถในการใช้น้ำตาลหลายชนิดในการหมัก ปัจจัยในการเจริญไม่ซับซ้อน นอกจากนั้นยังเคยเป็นที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมมาก่อนแล้วในการผลิตโปรตีนหลายชนิด อย่างไรก็ตามข้อเสียในการใช้แบคทีเรียชนิดนี้คือ ช่วงระดับความเป็นกรดด่างที่เจริญได้ค่อนข้างแคบและอยู่ในช่วงที่เป็นกลางระหว่าง 6.0 – 8.0 มีความทนทานน้อยกว่ายีสต์ และอาจเป็นอันตรายในกรณีสายพันธุ์ที่ใช้ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยทั่วไปมักใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำและอาหาร (index of faecal contamination) (สุมณฑา, 2549) และไม่มีข้อมูลที่ยืนยันความปลอดภัยในการใช้เซลล์ของ *E. coli* ที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เหลือจากการหมักไปเป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงสัตว์ ทำให้การใช้ *E. coli* เพื่อผลิตเอทานอลไม่ค่อยเป็นที่นิยม

ในกระบวนการหมัก *E. coli* เปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอลและกรดอินทรีย์ โดยใช้เอนไซม์ไพรูเวตฟอร์เมตไลเอส (pyruvate formate lyase, PFL) เปลี่ยนไพรูเวตให้เป็นเอทานอล การผลิตเอทานอลในลักษณะนี้ต้องใช้ NADH + H^+ สุทธิ 1 โมเลกุลต่อการผลิตเอทานอล 1 โมเลกุล (ผลิต NADH + H^+ หนึ่งโมเลกุลในกระบวนการไกลโคไลซิสเพื่อผลิตไพรูเวตหนึ่งโมเลกุล และใช้ NADH + H^+ ไปสองโมเลกุลในการเปลี่ยนไพรูเวตหนึ่งโมเลกุลให้เป็นเอทานอล) ดังนั้นเพื่อให้เกิดสมดุลของ NADH + H^+ จึงต้องมีการผลิตกรดแอซีติกและกรดซัคซินิคขึ้น ในขณะที่ยีสต์และ *Z. mobilis* ผลิตแต่เอทานอล (homoethanol fermentative) เพราะใช้เอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส (pyruvate decarboxylase, PDC) เปลี่ยนไพรูเวตเป็นแอเซตาลดีไฮด์ (acetaldehyde) และคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นจึงใช้เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) เปลี่ยนแอเซตาลดีไฮด์ไปเป็นเอทานอล ซึ่งในปฏิกิริยาหลังนี้ต้องใช้ NADH + H^+ ไปหนึ่งโมเลกุล ดังนั้นการผลิตเอทานอลของยีสต์และ *Z. mobilis* จึงเป็นการผลิตที่เกิดสมดุลของ NADH + H^+ (Dien *et al.*, 2003)

Z. mobilis เป็นจุลินทรีย์แกรมลบที่มีคุณสมบัติเด่นหลายข้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทา-นอล โดยผ่านวิถีแบบ homoethanol fermentative pathway ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเอทานอลเพียงอย่างเดียว ทนทานต่อเอทานอลความเข้มข้นสูงได้ถึง 120 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับ *S. cerevisiae* แล้ว *Z. mobilis* มีค่า yield ในการผลิตเอทานอลสูงกว่ายีสต์ร้อยละ 5 - 10 เมื่อใช้สารตั้งต้นคือกลูโคส และสัดส่วนอัตราการผลิตเอทานอลต่อหนึ่งหน่วยเวลา (ethanol productivity) สูงกว่า 2.5 เท่าอีกด้วย (Rogers *et al.*, 1982) นอกจากนี้ *Z. mobilis* ยังเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัย (GRAS – Generally Recognized As Safe) ในช่วงทศวรรษ 1970s และ 1980s ทีมนักวิจัยบางกลุ่มประกาศว่าแบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถที่เหนือกว่า *S. cerevisiae* ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นเอทานอล อย่างไรก็ตาม *S. cerevisiae* ยังคงเป็นที่นิยมในโรงงานอุตสาหกรรมเพราะมีความทนทาน แม้ว่าการทดลองใช้ *Z. mobilis* เพื่อผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมโดย Doelle *et al.* (1989) และ Millichip and Doelle (1989) จะประสบความสำเร็จ เหตุผลที่ *Zymomonas* มีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลและผลิตผลที่สูงเนื่องมาจากลักษณะเฉพาะทางกายภาพของ *Zymomonas* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์เพียงกลุ่มเดียวที่สามารถใช้กลูโคสด้วยกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยผ่านวิถี Entner - Doudoroff (ED) pathway แทนที่จะเป็น Embden - Meyerhoff-Parnas (EMP) (ไกล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โคไลซิส) ทำให้สร้างอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ขึ้นน้อยกว่ากระบวนการไกลโคไลซิสสองเท่า ดังนั้นมวลชีวภาพจึงเกิดขึ้นน้อยกว่า และส่งผลให้ผลิตเอทานอลได้มากขึ้น โดย *Z. mobilis* ใช้น้ำตาลได้สามชนิดคือ กลูโคส ฟรุกโตสและซูโครส (Dien *et al.*, 2003) จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลจากลำไยซึ่งมีน้ำตาลทั้งสามชนิดเป็นองค์ประกอบ

งานวิจัยของ Chomsri *et al.* (2003) ทดลองผลิตเอทานอลโดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* HK-4 และ *S. bayanus* EC1118 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำลำไย 4 สูตร คือลำไยทั้งลูก เนื้อลำไย เนื้อลำไยพร้อมเมล็ด และลำไยที่เอาเมล็ดออกแล้ว ซึ่งผ่านการปรับความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นให้เท่ากันที่ 180 กรัมต่อลิตร พบว่า *S. bayanus* เจริญได้รวดเร็วกว่า *S. cerevisiae* และผลิตเอทานอลได้ประมาณ 80 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของน้ำลำไยต่างสูตรกัน มีผลกระทบต่ออัตราการหมักและการใช้น้ำตาลกระทั่งกระบวนการหมักเสร็จสิ้น นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความเป็นกรดในช่วงร้อยละ 0.8 - 1.0 มีผลยับยั้งการเจริญของยีสต์ทั้งสองด้วย และพบว่าการหมักเสร็จสิ้นในขณะที่ยังมีน้ำตาลเหลืออยู่ แสดงให้เห็นว่าเชื้อยีสต์นี้อาจยังไม่เหมาะสมที่สุดในการนำมาหมักลำไยสดและ/หรือลำไยอบแห้ง

Palakul *et al.* (2006) ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อตรวจสอบการผลิตเอทานอลจากยีสต์ *S. cerevisiae* โดยทำการทดลองในขวดรูปชมพู่เพื่อเปรียบเทียบผลกระทบของความเข้มข้นของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในน้ำลำไยที่ 5, 10, 15 และ 20 องศาบริกซ์ ที่มีต่อการผลิตแอลกอฮอล์โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าที่ 20 องศาบริกซ์ สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ระดับสูงสุดเท่ากับร้อยละ 7.70 โดยปริมาตร และเมื่อเปรียบเทียบการใช้ยีสต์ในรูปแบบต่างๆ กันในรูปผง ผงที่ผ่านการกระตุ้นด้วยน้ำอุ่นที่ 30 - 40 องศาเซลเซียส และหัวเชื้อยีสต์เหลว พบว่าการใช้หัวเชื้อยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ได้ระดับสูงสุดเท่ากับร้อยละ 7.00 โดยปริมาตร การทดลองเปรียบเทียบแหล่งไนโตรเจนต่างชนิดได้แก่ น้ำต้มเนื้อ ไข่ผง และสารสกัดจากยีสต์ พบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 0.035, 7 และ 10 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใช้ไข่ผงเป็นแหล่งไนโตรเจนในน้ำลำไยทำให้ผลิตแอลกอฮอล์ต่ำกว่ากรณีไม่เติมแหล่งไนโตรเจนร้อยละ 0.90 โดยปริมาตร ส่วนการทดลองในถังหมักแบบกะขนาด 5 ลิตร ในช่วงอุณหภูมิ 27 - 30 องศาเซลเซียส โดยรักษาอัตราการหมุนของใบพัดในถังไว้ที่ 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มมวลชีวภาพ ตามด้วยการกระตุ้นให้เกิดการผลิตแอลกอฮอล์โดยลดอัตราการหมุนลงเหลือ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 68 ชั่วโมง สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 4.20 โดยปริมาตร การทดลองต่อมาในระบบป้อนกะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยเติมน้ำลำไย 15 องศาบริกซ์ ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 80 เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลในถังหมักชีวภาพ ทำให้ระดับแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นถึงระดับร้อยละ 5.52 โดยปริมาตร ในชั่วโมงที่ 112

พรชัย (2548) ใช้ไวน์ยีสต์ผสมเข้ากับลำไยอบแห้งและน้ำ แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาข้ามคืน พบว่ามีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นมาก อาจเป็นหลักฐานที่ระบุถึงค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC แต่ยีสต์ในการทดลองดังกล่าวอาจมีมวลชีวภาพไม่เพียงพอ และ/หรือสัมผัสกับอากาศได้น้อยจึงทำให้การผลิตเอทานอลในสภาวะขาดออกซิเจนเป็นไปได้ไม่ดี จากการตรวจสอบปริมาณเอทานอลพบว่าได้แอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 14 โดยปริมาตร

พรรณทิวาและคณะ (2551) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 15 สายพันธุ์ ได้แก่ *C. utilis* จำนวน 6 สายพันธุ์ (TISTR 5001, 5032, 5043, 5046, 5198 และ 5352) *S. cerevisiae* จำนวน 3 สายพันธุ์ (TISTR 5020, 5339 และ 5606) *Z. mobilis* จำนวน 3 สายพันธุ์ (TISTR 405, 548 และ 550) *E. coli* จำนวน 2 สายพันธุ์ (TISTR 361 และ1261) และ *Klebsiella* sp. จำนวน 1 สายพันธุ์ (TISTR 1383) ในสภาวะตั้งนิ่งที่อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส ระดับ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งและกากน้ำตาลในอัตราส่วน 1 : 1 พบว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอลได้ดีที่สุด คือ *S. cerevisiae* TISTR 5020 ได้ระดับความเข้มข้น 43.4 $\pm$ 4.0 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ *S. cerevisiae* TISTR 5606 เท่ากับ 41.8 $\pm$ 1.2 กรัมต่อลิตร และ *Z. mobilis* TISTR 550 เท่ากับ 38.1 $\pm$ 2.5 กรัมต่อลิตร โดยสัดส่วนการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 0.50, 0.53 และ 0.43 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป ตามลำดับ

พูนศิริและคณะ (2551) ทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 15 สายพันธุ์ ที่สภาวะเดียวกันในสารสกัดลำไยอบแห้งเพียงอย่างเดียว พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ได้ทั้งน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส และจุลินทรีย์ผลิตเอทานอลได้ดีที่สุดคือ *S. cerevisiae* TISTR 5020 ที่ระดับความเข้มข้น 45.0 $\pm$ 6.1 กรัมต่อลิตร และมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.56 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป (ค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลในทางทฤษฎีเท่ากับ 0.54 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป) รองลงมาคือ *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้น 37.8 $\pm$ 3.1 กรัมต่อลิตร และมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.41 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป และ *Z. mobilis* TISTR 550 ผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นได้มากเป็นอันดับสามเท่ากับ 28.4 $\pm$ 5.1 กรัมต่อลิตร และมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.33 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พีรวัสและคณะ (2551) เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *C. utilis* TISTR 5032, 5046 และ 5352 ในสภาวะตั้งนิ่งที่ 25.6 องศาเซลเซียส ระดับ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งและกากน้ำตาลในอัตราส่วนต่างๆ กัน พบว่าที่อัตราส่วน 50 : 50 ยีสต์ *C. utilis* TISTR 5352 ผลิตเอทานอลได้มากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 3.20 $\pm$ 0.41 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามที่สภาวะเดียวกันนี้และระดับความเข้มข้นน้ำตาลน้อยกว่านี้ *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่าประมาณ 10 เท่า และมีค่าสัดส่วนเอทานอลที่ผลิตได้ต่อปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไปใกล้เคียงกับค่าในทางทฤษฎี (ตติยาและคณะ, 2552; รติกรและคณะ, 2552; พรรณทิวาและคณะ, 2551; พูนศิริและคณะ, 2551)

รติกรและคณะ (2552) ทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 15 สายพันธุ์นี้เช่นกัน ในสภาวะตั้งนิ่งระดับ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งบดที่เน่าเสียแล้ว อายุ 6 ปี ที่ผ่านการปรับระดับความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส กลูโคส และ ฟรุกโตส ให้ได้สัดส่วนน้ำตาลแต่ละชนิดเหมือนกับกรณีสารละลายกากน้ำตาลเข้มข้น เพื่อประโยชน์ในการเปรียบเทียบ และไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนอื่นเพิ่มเติม พบว่ามีจุลินทรีย์จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* TISTR 361, *Z. mobilis* TISTR 550, *Klebseilla* sp. TISTR 1383, *S. cerevisiae* TISTR 5339, *E. coil* TISTR 1261 และ *C. utilis* TISTR 5198 ที่สามารถใช้น้ำตาลจนกระทั่งเหลือความเข้มข้นสุดท้ายในระดับที่ต่ำกว่า 4 กรัมต่อลิตร โดย *S. cerevisiae* TISTR 5020 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเพียง 6.77 $\pm$ 2.2 กรัมต่อลิตร เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้มีแหล่งอาหารคาร์บอนและไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อการผลิตเอทานอล และสาร อินทรีย์อื่นๆ ต่อมาเมื่อทำการศึกษาจลนพลศาสตร์ของ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ในระดับ 1,500 มิลลิลิตร พบค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลระดับสูงเท่ากับ 0.51 $\pm$ 0.09 กรัมต่อกรัม โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน แบ่งเป็นกรณีไม่เติมและเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า ของทั้งสองกรณีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยในกรณีไม่เติมแหล่งอาหารไนโตรเจนมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลทั้งหมดที่ใช้ไปที่ 24 และ 36 ชั่วโมง ต่ำกว่าสัดส่วนสูงสุดในทางทฤษฎี (ไม่เกิน 0.54 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป) เท่ากับ 0.22 $\pm$ 0.06 และ 0.38 $\pm$ 0.02 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไปตามลำดับ สำหรับกรณีที่มีการเติมไนโตรเจนมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลทั้งหมดที่ใช้ไปที่ 24 และ 36 ชั่วโมง ใกล้เคียงสัดส่วนสูงสุดในทางทฤษฎี เท่ากับ 0.57 $\pm$ 0.03 และ 0.66 $\pm$ 0.04 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตติยาและคณะ (2552) ทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 15 สายพันธุ์นี้เช่นกัน ในสภาวะตั้งนิ่งระดับ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งบดที่เน่าเสียแล้ว อายุ 6 ปี ที่ผ่านการปรับระดับความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส กลูโคส และ ฟรุกโตส เช่นเดียวกับรติกรและคณะ (2552) ผสมกากน้ำตาลเข้มข้นในอัตราส่วน 1:1 และไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5606 และ *S. cerevisiae* TISTR 5020 สามารถผลิตเอทานอลได้ระดับความเข้มข้นมากที่สุดสองอันดับแรกเท่ากับ 38.4 $\pm$ 1.3 และ 28.8 $\pm$ 2.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาจลนพลศาสตร์ของ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ในระดับ 1,500 มิลลิลิตร โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน ผสมกากน้ำตาลเข้มข้นในอัตราส่วน 1 : 1 แบ่งเป็นกรณีไม่เติมและเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและเวลาในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่าของทั้งสองกรณี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

Agustina (2009) ศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 15 สายพันธุ์ นี้เช่นกัน โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 6 ปี และสารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน ที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน ในสภาวะที่มีการเติมอากาศบางส่วน และรายงานว่าในกรณีที่ใช้สารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 6 ปี เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน *C. utilis* TISTR 5001 ผลิตเอทานอลได้มากที่สุดเพียง 1.26 $\pm$ 0.82 กรัมต่อลิตร เนื่องจากมีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นค่อนข้างน้อยดังนี้ ซูโครส 0.0005 $\pm$ 0.0001 และกลูโคส 0.0017 $\pm$ 0.0002 กรัมต่อลำไยแห้ง และไม่พบน้ำตาลฟรุกโตส ส่วนในกรณีที่ใช้สารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน ซึ่งมีปริมาณซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส เท่ากับ 0.318 $\pm$ 0.0027, 0.053 $\pm$ 0.0006 กรัมต่อกรัมลำไยอบแห้ง และ 0.154 $\pm$ 0.0023 กรัมต่อกรัมลำไยอบแห้ง พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5606 ผลิตเอทานอลได้สูงสุดได้ระดับความเข้มข้น 24.7 $\pm$ 3.3 กรัมต่อลิตร และมีค่าสัดส่วนเอทานอลที่ผลิตได้ต่อน้ำตาลที่ใช้ไปเท่ากับ 0.20 $\pm$ 0.09 กรัมต่อกรัม เมื่อทำการศึกษาจลนพลศาสตร์ของ *C. utilis* TISTR 5198 และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน ในสภาวะที่มีการเติมอากาศบางส่วน พบว่าที่ 15 ชั่วโมง *C. utilis* TISTR 5198 ผลิตเอทานอลได้สูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 28.0 $\pm$ 1.3 กรัมต่อลิตร ขณะที่ *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดถึง 75.5 $\pm$ 3.6 กรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมงและใช้น้ำตาลไปมากกว่า สำหรับการผลิตมวลชีวภาพพบว่า *C. utilis* TISTR 5198 ผลิตมวลชีวภาพได้มากกว่า *S. cerevisiae* TISTR 5606 เล็กน้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Chaweekunlayakun *et al.* (2010) ทำการศึกษาผลของระดับความเข้มข้นอาหารเลี้ยงเชื้อ (ร้อยละ 1, 5, และ 10 โดยปริมาตร) เพื่อหาวิธีการลดต้นทุนสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในสารสกัดลำไยอบแห้งจากเดิมใช้ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร และทำการศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลไปพร้อมกันด้วย โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับ 1,500 มิลลิลิตร ที่สภาวะตั้งนิ่งเป็นเวลา 36 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร สามารถผลิตเอทานอลได้ระดับความเข้มข้นสูงสุด และมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 53.8 $\pm$ 0.50 กรัมต่อลิตร และ 0.49 $\pm$ 0.01 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นยังให้ค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 7.47 $\pm$ 0.080 กรัมต่อลิตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากกรณีการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.39 $\pm$ 0.10 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร มีค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งที่ต่ำกว่าเท่ากับ 6.31 $\pm$ 0.11 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการให้คะแนนโดยพิจารณาถึงค่าต้นทุน (สัดส่วนร้อยละ 20) การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (สัดส่วนร้อยละ 30) และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ (สัดส่วนร้อยละ 50) พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่เหมาะสมที่สุดคือ อาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร รองลงมาคือ อาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 โดยปริมาตร ซึ่งได้คะแนนเท่ากับ 91.2, 82.3, และ 79.5 คะแนน ตามลำดับ และเมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบแหล่งอาหารคาร์บอนจากสารสกัดลำไยอบแห้ง (dried longan extract, DLE) และแหล่งอาหารคาร์บอนจากการย่อยเนื้อลำไยอบแห้งด้วยการไฮโดรไลซิส (digested dried longan flesh hydrolysate, DDLFH) พบว่า DLE เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงแบบกะที่ระดับ 1,500 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเติมอากาศที่เวลาเริ่มต้นนาน 12 ชั่วโมง จากเวลาการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส เนื่องจากการผลิตเอทานอลจากจุลินทรีย์ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ที่ใช้ DLE เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน มีระดับความเข้มข้นเอทานอลและสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 73.8 $\pm$ 0.50 กรัมต่อลิตร และ 0.53 $\pm$ 0.01 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป ตามลำดับ ในขณะที่ไม่มีการผลิตเอทานอลเลยเมื่อใช้ DDLFH เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน ในแง่ของความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง เมื่อใช้ DLE เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนสามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ระดับความเข้มข้น 10.8 $\pm$ 0.10 กรัมต่อลิตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จาก DDLFH ซึ่งผลิตมวลชีวภาพได้ความเข้มข้น 0.17 $\pm$ 0.08 กรัมต่อลิตร ต่อมาทำการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้แหล่งอาหารคาร์บอนทั้ง 2 ชนิด ในระบบป้อนกะซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษของ DDLFH เมื่อเทียบกับ DLE ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้น 24.9 $\pm$ 1.1 กรัมต่อลิตร และมีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ป้อนกะด้วยแหล่งอาหารคาร์บอน DDLFH ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ระดับความเข้มข้นเพียง 8.61 ± 0.56 กรัมต่อลิตร แต่ค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลสำหรับการใช้ DLE และ DDLFH เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.50 ± 0.02 และ 0.51 ± 0.04 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป ตามลำดับ ในแง่ความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง เมื่อใช้ DLE เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนสามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ระดับความเข้มข้น 5.72 ± 0.13 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณีที่ใช้ DDLFH เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน ที่ผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ระดับความเข้มข้น 3.00 ± 0.17 กรัมต่อลิตร

Tangsuntornkhan *et al.* (2010) ทำการศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลกลุ่มจุลินทรีย์ *C. utilis* จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ TISTR 5001, 5032, 5043, 5046, 5198 และ 5352 เพื่อทดสอบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ใดสามารถใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพที่ดีที่สุดสำหรับการผลิต PAC โดยทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในสารสกัดลำไยอบแห้ง ภายใต้สภาวะตั้งนิ่งเป็นเวลา 192 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่าเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอทานอลและมีสัดส่วนการผลิตสูงสุดคือ *C. utilis* TISTR 5352 มีค่าเท่ากับ 41.2 ± 1.6 กรัมต่อลิตร และ 0.42 ± 0.02 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป เมื่อเทียบกับ *C. utilis* TISTR 5198 พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในแง่การผลิตเอทานอล แต่ในส่วนการผลิตเอทานอลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยเทียบกับ *C. utilis* TISTR 5198 สามารถผลิตเอทานอลและมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 22.6 ± 0.40 กรัมต่อลิตร และ 0.40 ± 0.01 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป สำหรับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งพบว่า *C. utilis* TISTR 5198 สามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 6.43 ± 0.12 กรัมต่อลิตร และมีค่าอัตราการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพแห้งมากที่สุดเท่ากับ 0.034 ± 0.02 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับ *C. utilis* TISTR 5352 ที่มีค่าอัตราการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพแห้งเท่ากับ 0.015 ± 0.005 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สำหรับค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยพบว่า *C. utilis* TISTR 5352 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 0.015 ± 0.05 ต่อชั่วโมง แต่ไม่มีความแตกต่างจาก *C. utilis* TISTR 5032 และ *C. utilis* TISTR 5032 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 0.010 ± 0.008 และ 0.010 ± 0.005 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ต่อมาทำการศึกษาจลนพลศาสตร์ของ *C. utilis* TISTR 5352 ในระดับ 1,500 มิลลิลิตร โดยพิจารณาเลือกเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้จากปริมาณความเข้มข้นเอทานอลที่ผลิตได้ และสัดส่วนการผลิตเอทานอล เมื่อใช้สารสกัดลำไยอบแห้งเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนพบว่าสามารถผลิตเอทานอล และมวลชีวภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แห้งได้ระดับความเข้มข้น 6.28 ± 0.10 และ 9.87 ± 0.37 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยเท่ากับ 0.004 ± 0.002 ต่อชั่วโมง โดยสอดคล้องกับเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนจุ-ลินทรีย์เป็นสองเท่า (doubling time) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 156 ± 60 ชั่วโมง สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยง *C. utilis* TISTR 5198 และ 5352 ที่ระดับ 1,500 มิลลิลิตร โดยใช้แหล่งอาหารคาร์บอนที่ได้จากการย่อยเนื้อลำไยอบแห้งด้วยวิธีไฮโดรไลซิส (DDLFH) ในกรณีที่มีระดับของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 20 และ 40 องศาบริกซ์ แสดงถึงการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อย่างสมบูรณ์และไม่มีการผลิตเอทานอลเลย

Saikeaw *et al.* (2010) ได้ทำการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายเส้นโค้งจลนพลศาสตร์เกี่ยวกับการใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครสในการผลิตเอทานอลและมวลชีวภาพแห้ง จากระบบการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ที่ใช้สารสกัดลำไยอบแห้งเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน เริ่มจากทำการศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับ 1,500 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะตั้งนิ่งเป็นเวลานาน 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส หรือซูโครสเพียงชนิดเดียว ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน พบว่ายีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้มากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากกรณีที่ใช้น้ำตาลฟรุกโตสเท่านั้นซึ่งยีสต์สามารถใช้ได้มากเป็นอันดับสอง โดยน้ำตาลทั้งสองถูกใช้ไปเท่ากับ 37.0 ± 0.90 และ 30.1 ± 0.70 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำตาลซูโครสถูกใช้ไปเล็กน้อยเพียง 9.60 ± 1.7 กรัมต่อลิตร ในส่วนของการผลิตเอทานอล *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถผลิตเอทานอลมากที่สุดเท่ากับ 14.7 ± 0.90 กรัมต่อลิตร และมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.40 ± 0.03 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเท่านั้นเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อใช้น้ำตาลฟรุกโตสเท่านั้นเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนซึ่งมีค่าสัดส่วนการผลิต เอทานอลมากที่สุดเท่ากับ 0.43 ± 0.01 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลฟรุกโตสที่ใช้ไป และสามารถผลิตเอทา-นอลได้ระดับความเข้มข้น 12.9 ± 0.20 กรัมต่อลิตร ส่วนในกรณีที่ใช้น้ำตาลซูโครสเท่านั้นสามารถผลิตเอทานอลและมีค่าสัดส่วนการผลิตเท่ากับ 0.84 ± 0.1 กรัมต่อลิตร และ 0.070 ± 0.01 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลซูโครสที่ใช้ไป ในแง่ของความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง เมื่อใช้น้ำตาลฟรุกโตสเท่านั้นเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน สามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้มากที่สุดเท่ากับ 6.17 ± 0.10 กรัมต่อลิตร และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณีที่ใช้น้ำตาลกลูโคส หรือซูโครสเท่านั้นเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน โดยสามารถมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เท่ากับ 2.83 $\pm$ 0.030 และ 2.44 $\pm$ 0.060 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับอัตราการเจริญเติบจำเพาะเฉลี่ยของทั้งสามกรณี ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีค่าอยู่ในช่วง 0.08 – 0.09 ต่อชั่วโมง จากการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สร้างเส้นโค้งทำนายจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโต พบว่าแบบจำลองสามารถสร้างเส้นโค้งที่มีแนวโน้มตามข้อมูลจากการทดลองได้ดี โดยมีค่า $R^2 > 0.98$ และมีค่า residual sum of squares (RSS) สำหรับการเพาะเลี้ยงที่ใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส หรือซูโครสเท่านั้นเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนเท่ากับ 25.9, 67.7, และ 83.0 ตามลำดับ

สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ในลำดับถัดไปโดยใช้แหล่งอาหารคาร์บอนเป็นน้ำตาลรวมสามชนิดที่ 4 ระดับความเข้มข้นในหน่วยกรัมต่อลิตร (กลูโคส/ฟรุกโตส/ซูโครส เท่ากับ 20/20/20, 30/30/30, 40/40/40 และ 60/60/60) ภายใต้สภาวะเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงด้วยน้ำตาลชนิดเดียว ผลปรากฏว่าในกรณี 40/40/40 สามารถผลิตเอทานอลได้ระดับความเข้มข้นมากที่สุดเท่ากับ 49.8 $\pm$ 0.50 กรัมต่อลิตร และมีมวลชีวภาพแห้งความเข้มข้น 2.70 $\pm$ 0.03 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือกรณี 60/60/60 ที่สามารถผลิตเอทานอลและมวลชีวภาพแห้งได้ระดับความเข้มข้น 46.1 $\pm$ 1.0 และ 2.39 $\pm$ 0.050 กรัมต่อลิตร ส่วนในกรณี 30/30/30 สามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้มากที่สุดเท่ากับ 2.85 $\pm$ 0.020 กรัมต่อลิตร และผลิตเอทานอลได้ระดับความเข้มข้น 31.2 $\pm$ 0.70 กรัมต่อลิตร ส่วนกรณี 20/20/20 สามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งและเอทานอลได้ระดับความเข้มข้น 2.39 $\pm$ 0.090 และ 24.6 $\pm$ 1.0 กรัมต่อลิตร และทุกระดับความเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งในแง่ของความสามารถในการผลิตเอทานอลและมวลชีวภาพ สำหรับสัดส่วนการผลิตเอทานอลและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ย ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับทุกกรณี โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.50 – 0.54 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป และ 0.08 - 0.09 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สร้างเส้นโค้งทำนายจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโต พบว่าแบบจำลองสามารถทำนายข้อมูลจากการทดลองได้ดี โดยมีค่า $R^2 > 0.94$ และมีค่า RSS สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เมื่อใช้น้ำตาลรวม กลูโคส/ฟรุกโตส/ซูโครส: 20/20/20, 30/30/30, 40/40/40 และ 60/60/60 เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนเท่ากับ 68.7, 227, 101, และ 83.8 ตามลำดับ

การทดลองขั้นต่อไป ทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ระดับ 1,500 มิลลิลิตร โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งที่มีระดับความเข้มข้นน้ำตาลรวม 3 ระดับ ได้แก่ 60 (LG60), 120 (LG120) และ 180 (LG180) กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน ภายใต้สภาวะเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงด้วยน้ำตาลชนิดเดียวและสามชนิด พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทั้งแง่การผลิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เอทานอลและมวลชีวภาพแห้ง สำหรับทุกกรณี โดย LG180 สามารถผลิตเอทานอลและมวลชีวภาพแห้งได้ระดับความเข้มข้นมากที่สุดเท่ากับ 70.3 $\pm$ 0.010 และ 5.49 $\pm$ 0.080 กรัมต่อลิตร ส่วน LG120 เป็นกรณีที่สามารถผลิตเอทานอลและมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้นมากเป็นอันดับสอง เท่ากับ 59.2 $\pm$ 0.40 และ 4.73 $\pm$ 0.10 กรัมต่อลิตร ส่วนกรณี LG60 ผลิตเอทานอลและมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้นเท่ากับ 29.8 $\pm$ 0.40 และ 2.91 $\pm$ 0.020 กรัมต่อลิตร ถึงแม้ว่า LG180 จะสามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุดแต่มีสัดส่วนการผลิตเอทานอลน้อยที่สุดเท่ากับ 0.48 $\pm$ 0.02 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป และแตกต่างจากกรณี LG60 และ LG120 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งมีค่าสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.52 $\pm$ 0.01 และ 0.53 $\pm$ 0.01 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ไปใช้ สำหรับการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ช่วง 0.07 – 0.08 ต่อชั่วโมง เมื่อใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สร้างเส้นโค้งทำนายจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโต พบว่าแบบจำลองสามารถสร้างเส้นโค้งที่มีแนวโน้มตามข้อมูลจากการทดลองได้ดี โดยมีค่า $R^2 > 0.94$ และมีค่า RSS สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ในกรณี LG60, LG120 และ LG120 เท่ากับ 183, 320, และ 359 ตามลำดับ

2.3 กระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นเพื่อผลิตฟีนิลแอซิติลคาร์บินอล

ฟีนิลแอซิติลคาร์บินอล (phenylacetylcarbinol, PAC) เป็นสารเคมีมีค่าที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมการผลิตยาแอฟีดริน และซูโดแอฟีดริน มีคุณสมบัติบรรเทาอาการของโรคภูมิแพ้และหอบหืด PAC เกิดจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างเบนซาลดีไฮด์และไพรูเวต โดยมีเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และมีผลิตภัณฑ์ข้างเคียง ได้แก่ แอเซตาลดีไฮด์และแอเซโตอิน (ภาพ 2.4) กระบวนการทางเคมีนี้เรียกว่า Knoll procedure ซึ่งเป็นกระบวนการไบโอ-ทรานส์ฟอร์เมชั่นชิ้นแรกๆ ของโลกที่พัฒนาขึ้นเพื่อการผลิตทางการค้า (Hildebrandt and Kla-vehn, 1932; 1934)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นแบบแรกที่ใช้ผลิต PAC เป็นกระบวนการที่ใช้ยีสต์มีชีวิต (live yeast based process) Rosche *et al.* (2002a) รายงานความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้จากกระบวนนี้ได้ความเข้มข้น PAC อยู่ในช่วง 12 – 20 กรัมต่อลิตร ในช่วงเวลา 10 – 14 ชั่วโมง และมีสัดส่วนการผลิตอยู่ในช่วงร้อยละ 65 – 70 เมื่อเทียบกับเบนซาลดีไฮด์ที่ใช้ไป Miyata (2000) รายงานการ

ผลิต PAC จากกระบวนการที่ใช้เซลล์ยีสต์มีชีวิตจาก *Torulopsis glabrata* ได้ความเข้มข้นที่ระดับ 30 กรัมต่อลิตร และมีสัดส่วนการผลิตร้อยละ 70 เมื่อเทียบกับเบนซาลดีไฮด์ที่ใช้ไป กระบวนการที่ใช้เซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตนี้ถูกจำกัด โดยการสูญเสียค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC เนื่องมาจากความเป็นพิษของเบนซาลดีไฮด์ทำให้เอนไซม์ PDC เสื่อมสภาพ และไพรูเวตสะสมในยีสต์มีไม่เพียงพอที่จะผลิต PAC ได้ในระดับสูง นอกจากนี้เบนซาลดีไฮด์ยังถูกเปลี่ยนไปเป็นเบนซิลแอลกอฮอล์จากค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase, ADH) และ/หรือ ผลของกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ในปฏิกริยาออกซิเดชั่นหรือรีดักชั่นอื่นๆ ทำให้ผลิต PAC ได้ความเข้มข้นลดลง

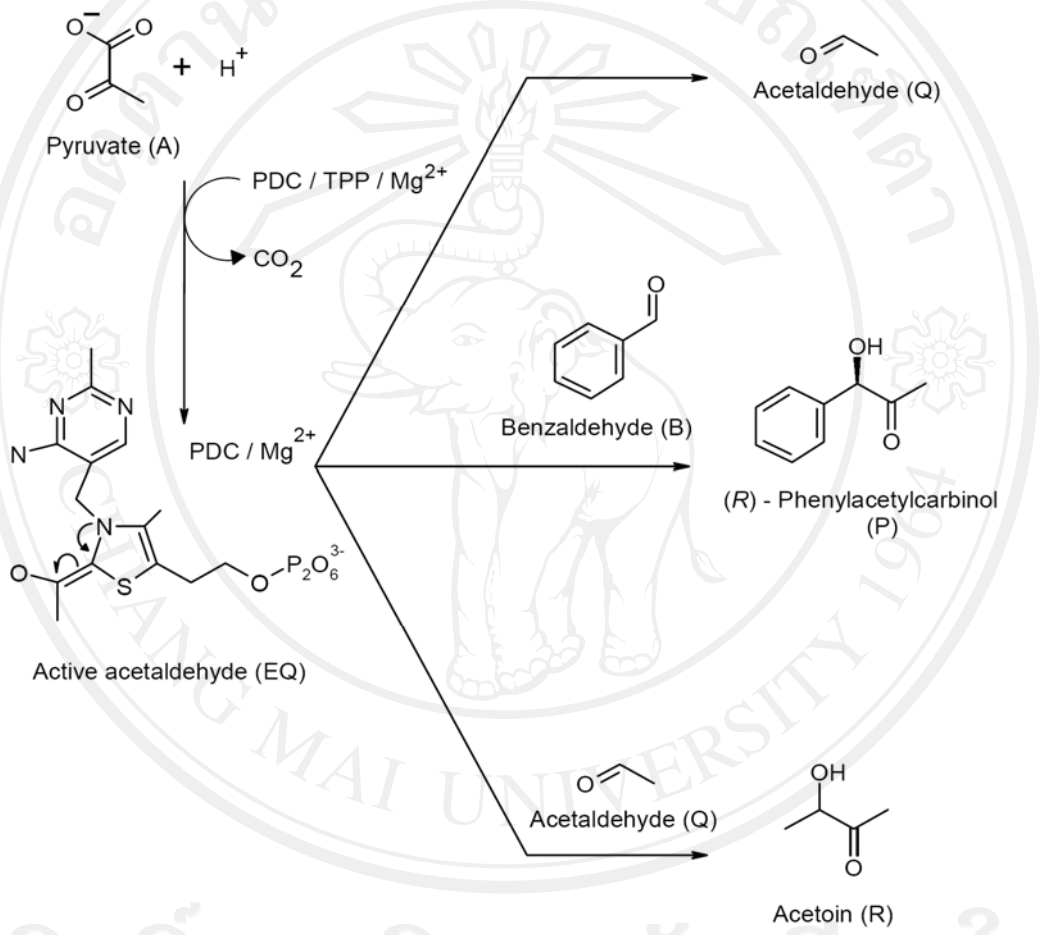
กระบวนการอีกแบบหนึ่งที่ใช้ผลิต PAC คือ กระบวนการที่ใช้เอนไซม์ (enzyme-based process) ซึ่งเป็นการใช้เอนไซม์ PDC ที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วน (partially purified enzyme) ร่วมกับสารตั้งต้นไพรูเวตและเบนซาลดีไฮด์ Rosche *et al.* (2002b) ได้รายงานถึงข้อดีของกระบวนการที่ใช้เอนไซม์นี้ว่า ทำให้ได้อัตราการผลิต PAC ความเข้มข้นสุดท้ายของ PAC ที่ผลิตได้ และสัดส่วนการผลิต PAC ต่อเบนซาลดีไฮด์ที่ใช้ไป ในระดับสูง อย่างไรก็ตาม Shin and Rogers (1996b) รายงานผลจากกระบวนการที่ใช้เอนไซม์ในระบบเบนซาลดีไฮด์อิมัลชั่น (benzaldehyde emulsion) ว่าได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ PAC ที่น้อยกว่าเท่ากับ 28 กรัมต่อลิตร หลังจากผ่านไป 8 -10 ชั่วโมง และมีสัดส่วนการผลิตสูงถึงร้อยละ 96 ของทฤษฎี (คิดจากเบนซาล-ดีไฮด์ที่ใช้ไป) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่รายงานการใช้เอนไซม์ PDC จาก *Z. mobilis* และการประยุกต์ใช้ในการผลิต PAC แบบต่อเนื่อง จากสารตั้งต้นคือไพรูเวตและเบนซาลดีไฮด์ในถังหมักแบบเยื่อเลือกผ่านการตรึงที่มีเอนไซม์ (enzyme – membrane bioreactor) ซึ่งทำให้ได้ระดับการผลิตต่อหนึ่งหน่วยเวลาในระดับสูง แต่ได้ความเข้มข้นของ PAC ต่ำเพียง 3.3 กรัมต่อลิตร (Iwan *et al.*, 2001)

ส่วนระบบเบนซาลดีไฮด์อิมัลชั่นเป็นระบบที่สารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ ปรากฏอยู่รวมกันในชั้นน้ำ (aqueous phase) และมีบัฟเฟอร์เป็นองค์ประกอบหลักเพื่อต่อต้านการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรดด่าง ที่เป็นผลจากการใช้โปรตอน (Rosche *et al.*, 2002a,b)

PDC เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการขจัดคาร์บอนไดออกไซด์ (decarboxylation) ออกจากไพรูเวต โดยไม่ใช้ปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidative reaction) ตามด้วยการเชื่อมต่อพันธะคาร์บอน (Sergienko and Jordan, 2002; Iding *et al.*, 1998) PDC จะเปลี่ยนไพรูเวตซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของกระบวนการไกลโคไลซิสเป็นแอเซตาลดีไฮด์ ซึ่งเป็นตัวกลางสำคัญในกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้ยีสต์ (ภาพ 2.5) (Neuberg and Ohle, 1922; Neuberg and Hirsch, 1921; Neuberg and

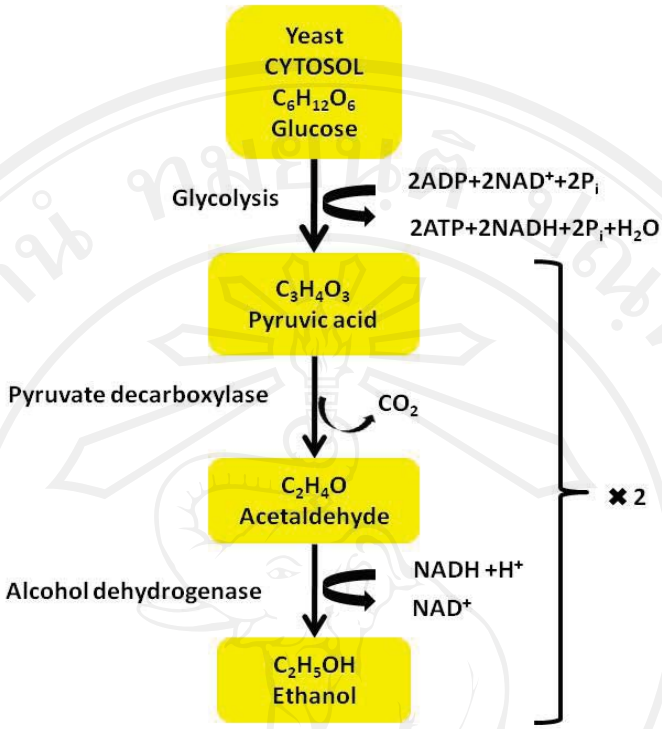
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Karczag, 1911) พบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รา และพืช (Neuser *et al.*, 2000; Iding *et al.*, 1998; Pohl, 1997; Bringer-Meyer *et al.*,1986)



ภาพ 2.4 กระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นเพื่อผลิต PAC และผลิตภัณฑ์ข้างเคียง
ที่มา : Leksawasdi *et al.* (2004)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 2.5 การผลิตเอทานอลในเซลล์ยีสต์

ที่มา: University of Miami, Department of Biology (2010)

Iwan *et al.* (2001) นำ PDC ที่ได้จาก *Z. mobilis* มาผลิต PAC จากไพรูเวตความเข้มข้น 90 มิลลิโมลาร์ และเบนซาลดีไฮด์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ พบว่าได้อัตราการผลิต PAC ที่ระดับ 27.4 กรัมต่อลิตรต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบ PDC จากยีสต์ (*Saccharomyces sp.* และ *Candida sp.*) กับ PDC จากแบคทีเรีย (*Zymomonas sp.*) ที่มีความจำเพาะกับเบนซาลดีไฮด์น้อยกว่าและถูกยับยั้งได้ง่ายด้วยเบนซาลดีไฮด์ (Ward และ Singh, 2000; Bringer - Meyer และ Sahm, 1988) ถึงแม้ PDC จากแบคทีเรียจะมีความจำเพาะเจาะจงกับไพรูเวตได้เท่ากับหรือมากกว่าจากยีสต์ แต่อัตราการผลิต PAC เมื่อใช้ PDC จากยีสต์มีค่าสูงกว่า *Z. mobilis* เกือบ 25 เท่า (Bringer - Meyer และ Sahm, 1988)

Rosche *et al.* (2002b) ศึกษากระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นในระบบเบนซาลดีไฮด์อิมัลชั่นโดยใช้ PDC จาก *Rhizopus javanicus* พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระดับความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 และใช้ 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid (MOPS) บัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์ เป็นสภาวะที่เหมาะสม และผลิต PAC ได้ถึง 50.6 กรัมต่อลิตร (337 มิลลิโมลาร์) จากความ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เข้มข้นเบนซาลดีไฮด์ 400 มิลลิโมลาร์ และความเข้มข้นไพรูเวต 600 มิลลิโมลาร์ ใน 29 ชั่วโมง และประยุกต์ใช้สภาวะดังกล่าวกับเอนไซม์ PDC จาก *C. utilis* ได้ผลดีระดับเดียวกันในแง่ของการผลิต PAC โดยในเวลา 21 ชั่วโมง อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส PDC จาก *R. javanicus* และ *C. utilis* ที่ระดับ 8.4 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร สามารถผลิตได้ 49.3 และ 51.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

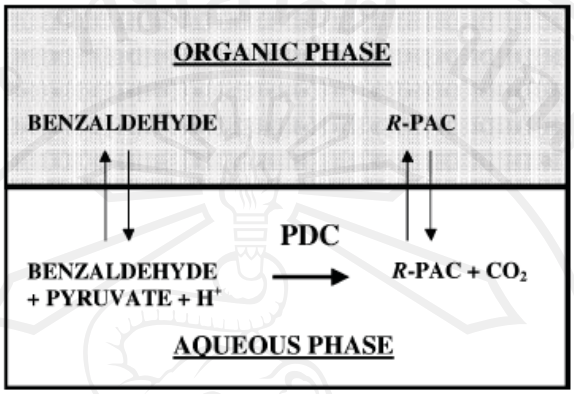
Leksawasdi *et al.* (2004) ศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นแบบกะ จาก *C. utilis* สายพันธุ์ 70940 เกี่ยวกับผลกระทบของค่าระดับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC ความเข้มข้นของไพรูเวตและเบนซาลดีไฮด์ต่ออัตราการผลิต PAC เริ่มต้น ในระยะเวลา 30 นาที พบว่าความเข้มข้น PAC เพิ่มขึ้น เมื่อระดับค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิต PAC เริ่มต้นกับระดับการทำงานของเอนไซม์ในช่วง 0 – 5.0 หน่วยต่อมิลลิลิตร ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง ส่วนความเข้มข้นของไพรูเวตที่เพิ่มขึ้นในช่วง 10 - 250 มิลลิโมลาร์ ส่งมีผลให้ความเข้มข้น PAC เพิ่มขึ้นด้วย โดยอัตราการผลิต PAC จะเปลี่ยนแปลงมากเมื่อใช้ไพรูเวตความเข้มข้น 10 - 50 มิลลิโมลาร์ แต่จะเปลี่ยนแปลงน้อยลงตั้งแต่ความเข้มข้น 100 - 250 มิลลิโมลาร์ สำหรับความเข้มข้นเบนซาลดีไฮด์ในช่วง 10 – 150 มิลลิโมลาร์ พบว่าเมื่อใช้เบนซาลดีไฮด์ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทำให้ได้ความเข้มข้น PAC เพิ่มขึ้นด้วย แต่ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเบนซาลดีไฮด์กับอัตราการผลิต PAC จะเป็นเส้นโค้งแบบซิก-มอยด์ (sigmoidal)

พูนศิริและคณะ (2551) ทำการทดลองไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นด้วยมวลชีวภาพเปียก 2.01 กรัมต่อลิตร เทียบเท่ามวลชีวภาพแห้ง ในสภาวะตั้งนิ่งสำหรับระบบเบนซาลดีไฮด์อิมัลชั่นเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.5 ที่ความเข้มข้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0, 300, 600, และ 900 มิลลิโมลาร์ พบว่า *C. utilis* TISTR 5198 ผลิต PAC ได้ความเข้มข้นลดลงเพียง 2.73 $\pm$ 0.18 มิลลิ-โมลาร์ เมื่อไม่มีการเติมฟอสเฟตเหลือเพียง 0.18 มิลลิโมลาร์ เมื่อใช้บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 900 มิลลิ-โมลาร์ ในขณะที่ *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถผลิต PAC ได้ระดับความเข้มข้น 1.19 $\pm$ 0.01 มิลลิโมลาร์ เมื่อใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้นเดียวกัน

การใช้บัฟเฟอร์ความเข้มข้นสูงที่ช่วยรักษาระดับความเป็นกรดด่าง หรือการมีระบบควบคุมระดับความเป็นกรดด่างในกรณีที่ใช้บัฟเฟอร์ความเข้มข้นต่ำ เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับระบบเบนซาลดีไฮด์อิมัลชั่น และสามารถใช้ในการพัฒนาระบบของเหลวสองชั้น (Rosche *et al.*, 2002b) โดยระบบนี้จะแยกชั้นสารอินทรีย์ที่มีเบนซาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นสูงในตอนเริ่มต้น และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

PAC ที่ผลิตได้ในตอนสุดท้ายออกจากชั้นบัฟเฟอร์ที่มีเอนไซม์ PDC (ภาพ 2.6) ซึ่งช่วยลดผลการยับยั้งเอนไซม์จากเบนซาลดีไฮด์ PAC และการเกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงอย่างแอเซโตอิน ซึ่งทำให้ช่วยเพิ่มการผลิต PAC ได้ (Sandford, 2002)



ภาพ 2.6 กระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบอิมัลชั่นเพื่อผลิต PAC
ที่มา : Rosche *et al.* (2002b)

Sandford (2002) ศึกษาสารอินทรีย์หลายชนิดเพื่อนำมาใช้เป็นตัวทำละลายชั้นสารอินทรีย์ในกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นที่ใช้เอนไซม์ PDC จาก *C. utilis* พบว่าออกทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิต PAC ในระบบของเหลวสองชั้นเมื่อเทียบกับ บิวทานอล (butanol) เพนทานอล (pantanol) โนนานอล (nonanol) เฮกเซน (hexane) เฮปเทน (heptane) ออกเทน (octane) นาเนน (nanane) โดเดเคน (dodecane) เมธิลไซโคลเฮกเซน (methylcyclohexane) เมธิลเทอทบิวทิวอีเธอร์ (methyl tert butyl ether) และโทลูอีน (toluene) ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (partitioning coefficient) ที่มีค่าระดับสูงของเบนซาลดีไฮด์ในออกทานอล ทำให้มีความเข้มข้นเบนซาลดีไฮด์ในระดับที่ไม่เกิน 50 มิลลิโมลาร์ ปรากฏอยู่ในชั้นบัฟเฟอร์ซึ่งช่วยเอนไซม์ PDC ในการเร่งกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระหว่างเบนซาลดีไฮด์กับไพรูเวตให้กลายเป็น PAC ในชั้นบัฟเฟอร์ จากนั้น PAC และแอเซโตอิน จึงจะแพร่เข้าสู่ชั้นออกทานอลอย่างต่อเนื่องซึ่งช่วยลดการยับยั้ง และการทำเอนไซม์เสื่อมสภาพที่เกิดจากแอเซตาลดีไฮด์ การทดลองในสภาวะที่มีการผสมเข้ากันดีด้วยการเขย่าอย่างรวดเร็ว ใช้อัตราส่วนระหว่างชั้นสารอินทรีย์และชั้นบัฟเฟอร์เท่ากับ 1 : 1 ค่ากิจกรรมการทำงานคาร์โบไลเกสเท่ากับ 8.5 หน่วยต่อมิลลิลิตร ผลิต PAC ได้ 937 มิลลิโมลาร์ (141 กรัมต่อลิตร) ใน 49 ชั่วโมง และอีก 127 มิลลิโมลาร์ (19 กรัมต่อลิตร) ในชั้นบัฟเฟอร์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ใช้สภาวะการเขย่าแบบช้าซึ่งผลิต PAC ได้ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แต่มีอัตราการผลิตที่ช้ากว่า ส่วนในแง่ของการผลิต PAC จำเพาะนั้น ค่าที่สูงที่สุดเท่ากับ 128 มิลลิกรัม PACต่อหน่วยคาร์โบไลเกส ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.9 หน่วย คาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้น PAC สุดท้ายเท่ากับ 102 กรัมต่อลิตร ในชั้นออกทานอล และ 13 กรัมต่อลิตร ในชั้นบัฟเฟอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับระบบเบนซาลดีไฮด์อิมัลชั่นระบบของเหลวสองชั้นผลิต PAC และให้ค่าการผลิต PAC จำเพาะสูงกว่าอย่างเห็นได้ชัด

พรรณทิวาและคณะ (2551) ทำการทดลองไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นด้วยมวลชีวภาพเปียกความเข้มข้น 3.06 กรัมต่อลิตร เทียบเท่ามวลชีวภาพแห้งจากการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดลำไยและกากน้ำตาลในอัตราส่วน 1:1 เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน ในสภาวะตั้งนิ่งสำหรับระบบของเหลวสองชั้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5606 ผลิต PAC ได้ทั้งหมด 3.97 และ 3.72 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 4 และ 20 องศาเซลเซียส ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5020 (3.04 และ 4.72 มิลลิโมลาร์) *C. utilis* TISTR 5198 (1.24 และ 2.98 มิลลิโมลาร์) และ *Z. mobilis* TISTR 550 (0.86 และ 0.07 มิลลิโมลาร์)

การศึกษาผลกระทบจากตัวทำละลายอินทรีย์จำพวกแอลกอฮอล์ปฐมภูมิต่างชนิด ได้แก่ เฮปทานอล (heptanol, C7) ออกทานอล (octanol, C8) และนาโนนอล (nanonol, C9) ที่มีการผสม ไดโพรพิลีนไกลคอล (dipropylene glycol, DPG) ในระดับ 1:1 ต่อระดับการผลิต PAC สำหรับระบบของเหลวสองชั้นของตติยาและคณะ (2552) โดยใช้เซลล์รวมจาก *S. cerevisiae* TISTR 5606 ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ความเร็วในการเขย่า 250 รอบต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่ 6.00 พบว่าการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 6.12 กรัมต่อลิตร เทียบเท่ามวลชีวภาพแห้ง สามารถผลิต PAC ได้ระดับสูงสุดที่ระดับ 65.5 $\pm$ 3.2 มิลลิโมลาร์ ในชั้นสารอินทรีย์ และ 7.63 $\pm$ 0.41 มิลลิโมลาร์ ในชั้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ สำหรับระบบที่ใช้ C9 + DPG เป็นชั้นสารอินทรีย์

นิสากรและคณะ (2552) ศึกษาผลกระทบจากตัวทำละลายอินทรีย์จำพวกแอลกอฮอล์ปฐมภูมิต่างชนิด (C7 - C9) ที่มีการผสม DPG ในระดับ 1:1 ต่อระดับการผลิต PAC สำหรับระบบของเหลวสองชั้นโดยใช้เซลล์รวมจาก *S. cerevisiae* TISTR 5606 ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการเขย่า 250 รอบต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่ 6.00 พบว่าการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 6.12 กรัมต่อลิตร เทียบเท่ามวลชีวภาพแห้ง สามารถผลิต PAC ได้ระดับสูงสุดที่ระดับ 75.8 $\pm$ 1.8 มิลลิโมลาร์ ในชั้นสารอินทรีย์ และ 6.83 $\pm$ 0.29 มิลลิโมลาร์ ในชั้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ สำหรับระบบที่ใช้ C8 + DPG เป็นชั้นสารอินทรีย์ สอดคล้องกับผลการทดลองของรติกรและคณะ (2552) ที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ศึกษาผลกระทบจากตัวทำละลายอินทรีย์จำพวกแอลกอฮอล์ปฐมภูมิต่างชนิด (C7 - C9) ที่มีการผสม DPG ในระดับ 1:1 ต่อระดับการผลิต PAC สำหรับระบบของเหลวสองชั้นโดยใช้เซลล์รวมจาก *S. cerevisiae* TISTR 5606 ที่สภาวะเดียวกัน พบว่าการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 6.12 กรัมต่อลิตร เทียบเท่ามวลชีวภาพแห้ง สามารถผลิต PAC ได้ระดับสูงสุดที่ระดับ 75.8 $\pm$ 1.8 มิลลิโมลาร์ ในชั้นสารอินทรีย์ และ 6.83 $\pm$ 0.29 มิลลิโมลาร์ ในชั้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ สำหรับระบบที่ใช้ C8 + DPG เป็นชั้นสารอินทรีย์

Agustina (2009) รายงานผลการศึกษากระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นเพื่อผลิต PAC โดยใช้เอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลสในรูปเซลล์รวมจาก *C. utilis* TISTR 5198 และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ในระบบของเหลวสองชั้น ที่มีสารตั้งต้นเป็นไพรูเวตความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ และเบนซาลดีไฮด์ความเข้มข้น 1.75 โมลาร์ ในสารอินทรีย์หลายชนิด ที่อุณหภูมิ 6 – 8 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการเขย่า 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบระดับความเข้มข้นสูงสุดของ PAC จาก *C. utilis* TISTR 5198 (83.8 ± 6.8 มิลลิโมลาร์) โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์โนนานอลเป็นชั้นสารอินทรีย์และตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพเป็นเซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร การใช้เซลล์รวมของเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลสจาก *S. cerevisiae* TISTR 5606 ผลิต PAC ได้ระดับสูงสุด (37.4 ± 2.8 มิลลิโมลาร์) เมื่อใช้ชั้นตัวทำละลายอินทรีย์เป็นสารผสมระหว่างออกทานอลและไดโพรพิลีนไกลคอลในอัตราส่วน 1 : 1

Chaweekunlayakun *et al.* (2010) ทำการทดลองไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นในระบบของ เหลวสองชั้น โดยใช้เซลล์รวมจาก *S. cerevisiae* TISTR 5606 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยใช้ DLE และ DDLFH เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน ผลการทำไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นด้วยเซลล์รวมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วย DLE ความเข้มข้น 3.06, 6.12 และ 12.24 กรัมต่อลิตร และเซลล์รวมจากการเพาะเลี้ยงด้วย DDLFH ความเข้มข้น 3.06 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง พบว่าไม่พบการผลิต PAC

Tangsuntornkhan *et al.* (2010) ทำการทดลองกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นในระบบของเหลว 2 ชั้น จากเซลล์รวมของ *C. utilis* TISTR 5198 และ 5352 ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงโดยใช้ DLE และ DDLFH เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน ที่ความเข้มข้นเซลล์รวมเท่ากับ 6.12 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของ PAC ที่ผลิตได้ในชั้นบัฟเฟอร์จากกระบวนการไบโอทรานส์-ฟอร์เมชั่นของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้น ในตู้บ่มที่มีการเขย่าความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่ อุณหภูมิ 8 องศา-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เซลเซียส เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง ผลปรากฏว่า เซลล์รวมจาก *C.utilis* TISTR 5352 ที่เพาะเลี้ยงด้วย DLE สามารถผลิต PAC ได้ 0.20 $\pm$ 0.02 มิลลิโมลาร์ ขณะที่ในกรณีของ TISTR 5198 พบว่าไม่ผลิต PAC เลย ซึ่งตรงกันข้ามการผลิต PAC ด้วยเซลล์รวมของ *C. utilis* TISTR 5198 ที่เพาะเลี้ยงด้วย DDLFH สามารถผลิต PAC ได้ความเข้มข้น 0.45 $\pm$ 0.02 มิลลิโมลาร์ และมีความแตกต่างจากกรณี TISTR 5352 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งไม่ผลิต PAC เลย สำหรับในชั้นสารอินทรีย์ พบว่า *C. utilis* TISTR 5352 ที่เพาะเลี้ยงด้วย DLE สามารถผลิต PAC ได้ 1.39 $\pm$ 0.030 มิลลิโมลาร์ ซึ่งแตกต่างจาก *C. utilis* TISTR 5198 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลิต PAC ได้เพียง 0.42 $\pm$ 0.02 มิลลิโมลาร์ ขณะที่เซลล์รวมที่ได้จาก *C. utilis* TISTR 5198 จากการเพาะเลี้ยงด้วย DDLFH สามารถผลิตได้ 3.35 $\pm$ 0.13 มิลลิโมลาร์ และมีความแตกต่างจาก *C. utilis* TISTR 5352 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระดับความเข้มข้น PAC รวม ที่ผลิตได้จากเซลล์รวมของ *C. utilis* TISTR 5352 จากการเพาะเลี้ยงด้วย DLE มีค่าเท่ากับ 0.75 $\pm$ 0.02 มิลลิโมลาร์ และแตกต่างจาก TISTR 5198 ที่ผลิตได้เพียง 0.19 $\pm$ 0.01 มิลลิโมลาร์ ขณะที่เซลล์รวมของ *C. utilis* TISTR 5352 จากการเพาะเลี้ยงด้วย DDLFH ไม่ผลิต PAC เลย อย่างไรก็ตาม ระดับการผลิต PAC รวม ได้จากเซลล์รวมของ *C. utilis* TISTR 5198 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 1.76 $\pm$ 0.10 มิลลิโมลาร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved