บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดน้ำตาลและโปรตีน และอัตราส่วนเนื้อลำไยอบแห้งกับน้ำที่เหมาะสม

การศึกษานี้ทำการทดลองสกัดน้ำตาลและโปรตีนจากเนื้อลำไยอบแห้งด้วยวิธีการสกัด5 วิธี ได้แก่

ก. ทำการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง หรือ “แช่” เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (S24)

ข. ทำการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องแล้วสกัดต่อด้วยน้ำเดือด หรือ “แช่แล้วต้ม” อีก 3 นาที (S24B30)

ค. ทำการสกัดด้วยน้ำเดือด 30 นาที (B30)

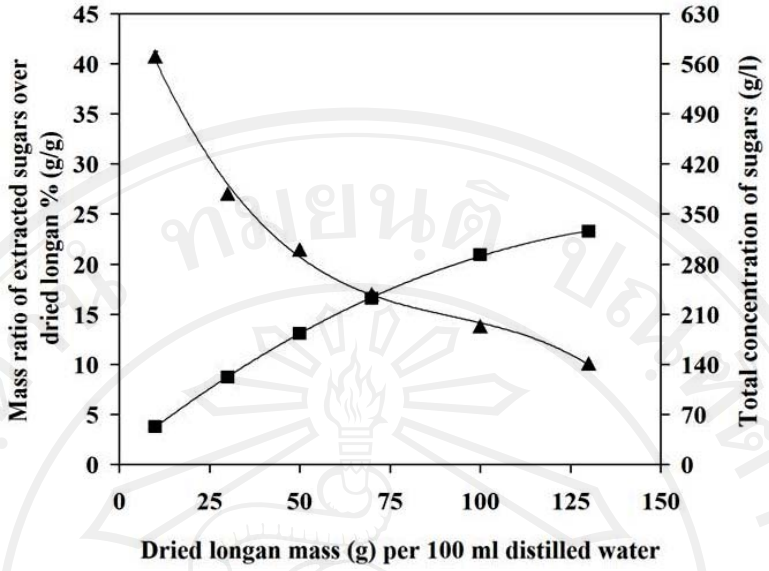
ง. ผสมมวลเนื้อลำไยอบแห้งกับน้ำกลั่น แล้วสกัดด้วยไอน้ำเดือด หรือ “นึ่ง” 30 นาที (ST30)

จ. ทำการสกัดด้วยน้ำเดือด 30 นาที จำนวน 2 ครั้ง (B30x2)

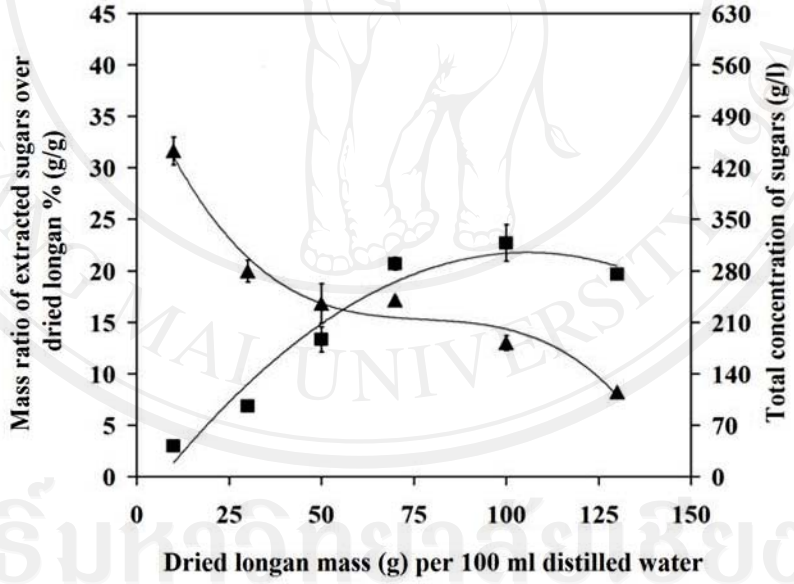
จากมวลเนื้อลำไย 6 ระดับ (10, 30, 50, 70, 100 และ 130 กรัม) แล้ววิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ฟรุกโตส และกลูโคส วัดความเข้มข้นของโปรตีนที่ละลายน้ำ และความเข้มข้นของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด

พบว่าร้อยละของสัดส่วนมวลน้ำตาลที่สกัดได้ต่อเนื้อลำไยอบแห้งมีค่าลดลง เมื่อเพิ่มมวลเนื้อลำไยอบแห้งจาก 10 เป็น 130 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร สำหรับทุกวิธีสกัด ดังแสดงในภาพ 4.1ก–จ ขณะที่การใช้วิธี S24 หรือ B30 ส่งผลให้ความเข้มข้นทั้งหมดของน้ำตาลที่สกัดได้ มีค่าเพิ่มขึ้นตามมวลเนื้อลำไยอบแห้งที่ใช้สกัด (ภาพ 4.1ก, ค และ ง) แต่ในกรณี ST30 พบว่าความเข้มข้นทั้งหมดของน้ำตาลที่สกัดได้เริ่มคงที่ เมื่อใช้มวลลำไยมากกว่า 70 กรัม ตามภาพ 4.1ข และในกรณีที่ใช้วิธี B30x2 ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดที่สกัดได้มีแนวโน้มลดลง ดังภาพ 4.1จ จุดตัดระหว่างเส้นแนวโน้มของร้อยละสัดส่วนมวลน้ำตาล และความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดที่ปรากฏอยู่ในแต่ละกราฟของภาพ 4.1 ไม่ได้เป็นตัวบ่งชี้ว่ามวลลำไยอบแห้งที่สัมพันธ์กับจุดตัดดังกล่าว เป็นค่าที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเนื่องจากตำแหน่งของจุดตัด ขึ้นกับมาตราส่วนแกน y

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



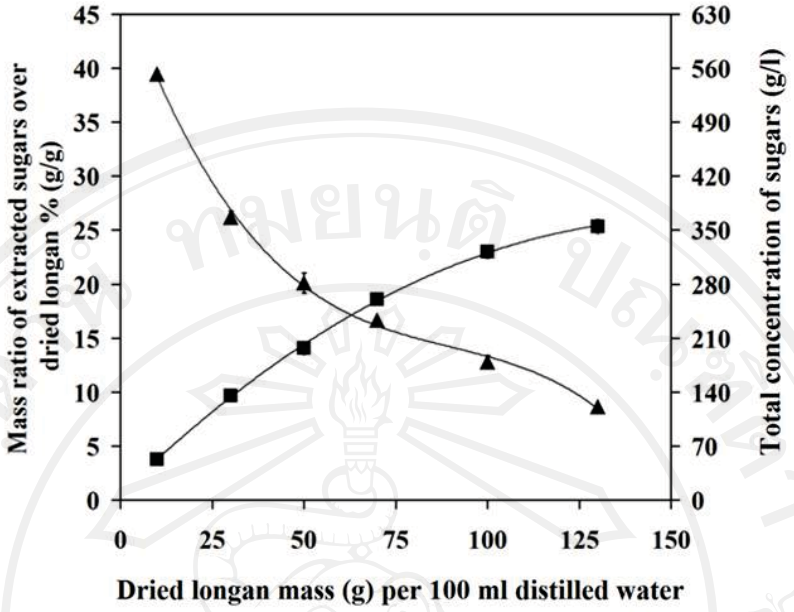
(ก)



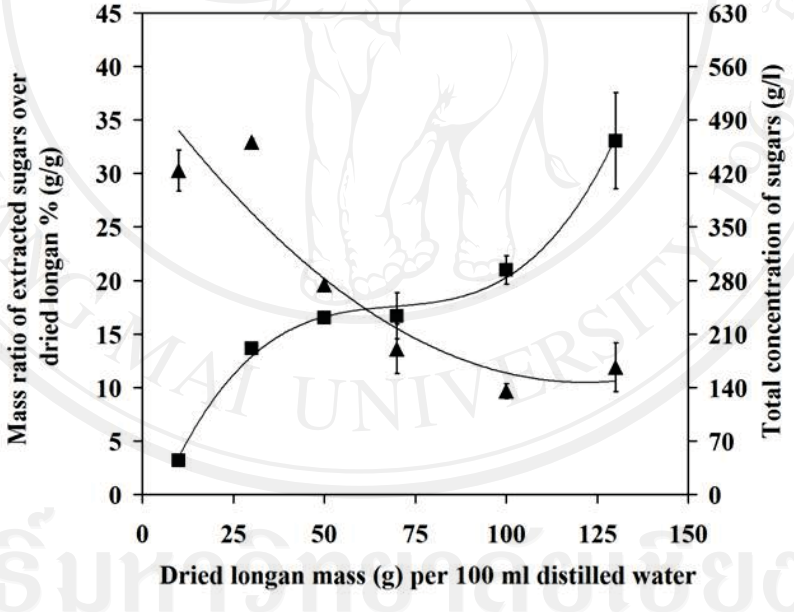
(ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของสัดส่วนมวลน้ำตาลที่สกัดได้ต่อเนื้อลำไยอบแห้ง ในหน่วย กรัมต่อกรัม (▲) และความเข้มข้นทั้งหมดของน้ำตาล (กลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส) ที่สกัดได้ในหน่วยกรัมต่อลิตร (■) สำหรับมวลลำไยอบแห้งเท่ากับ 10, 30, 50, 70, 100 และ 130 กรัมต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ในกรณีที่ทำการ **(ก)** สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง – S24 และ **(ข)** สกัดด้วยไอน้ำเดือด 30 นาที – ST30



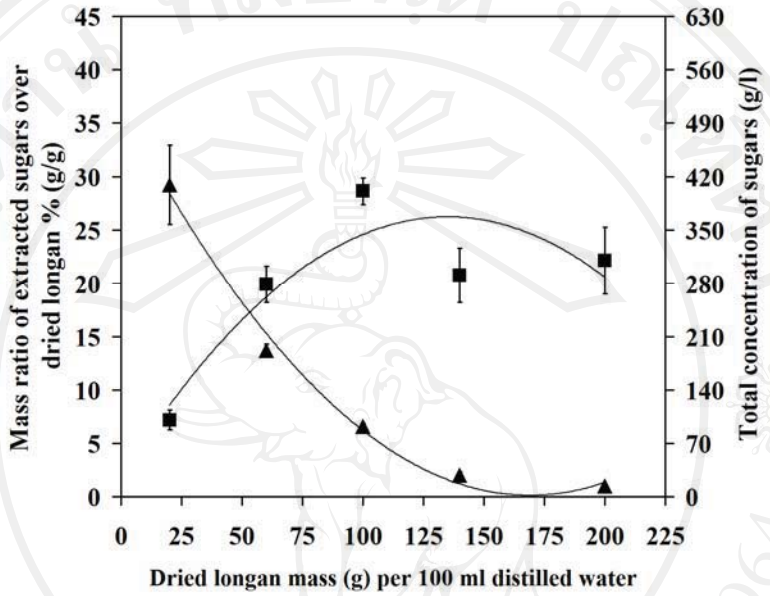
(ค)



(ง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 4.1(ต่อ) ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของสัดส่วนมวลน้ำตาลที่สกัดได้ต่อเนื้อลำไยอบแห้ง ในหน่วยกรัมต่อกรัม (▲) และความเข้มข้นทั้งหมดของน้ำตาล (กลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส) ที่สกัดได้ในหน่วยกรัมต่อลิตร (■) สำหรับมวลลำไยอบแห้งเท่ากับ 10, 30, 50, 70, 100 และ 130 กรัมต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ในกรณีที่ทำการ **(ค)** สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ตามด้วยการสกัดด้วยน้ำเดือดต่อเป็นเวลา 30 นาที – S24B30 และ **(ง)** สกัดด้วยน้ำเดือด 30 นาที – B30



(จ)

ภาพ 4.1(ต่อ) ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของสัดส่วนมวลน้ำตาลที่สกัดได้ต่อเนื้อลำไยอบแห้งในหน่วยกรัมต่อกรัม (▲) และความเข้มข้นทั้งหมดของน้ำตาล (กลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส) ที่สกัดได้ในหน่วยกรัมต่อลิตร (■) สำหรับมวลลำไยอบแห้งเท่ากับ 10, 30, 50, 70, 100 และ 130 กรัมต่อน้ำกลั่น100 มิลลิลิตร ในกรณีที่ทำการ **(จ)** สกัดด้วยน้ำเดือด 30 นาที จำนวน 2 ครั้ง – B30x2 ซึ่งเทียบเท่ามวลลำไยอบแห้งที่ใช้เท่ากับ 20, 60, 100, 140 และ 200 กรัมต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของกราฟ ที่ใช้การใช้คะแนนประสิทธิภาพการสกัดในการคัดเลือกวิธีการสกัด และมวลลำไยอบแห้งที่เหมาะสมต่อการสกัดแต่ละวิธี ซึ่งนำปริมาตรของเหลวที่ได้ภายหลังการสกัดมาประกอบการพิจารณาด้วย จึงมีความเหมาะสมและถูกต้องมากกว่า

จากตาราง 4.1 สำหรับวิธีการสกัด S24 ในกรณีที่ใช้เนื้อลำไยอบแห้งมวล 30, 50, 70 และ 100 กรัม ไม่พบว่าคะแนนประสิทธิภาพการสกัด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เช่นเดียวกันกับกรณีที่ใช้วิธี ST30 ด้วยลำไยอบแห้งมวล 50, 70 และ 100 กรัม หรือใช้วิธี B30 ด้วยลำไยอบแห้งมวล 70, 100 และ 130 กรัม นอกจากนี้ในกรณีที่รักษาระดับมวลลำไยอบแห้งให้คงที่เท่ากับ 30 และ 50 กรัมต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร พบว่าการสกัดแบบ S24 แล้วตามด้วยการสกัดแบบ B30 ไม่ได้ทำให้คะแนนประสิทธิภาพการสกัดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ไปจากกรณี S24 เมื่อทำการเปรียบเทียบวิธี S24B30 กับวิธี ST30 สำหรับกรณีที่ใช้เนื้อลำไยอบแห้ง 70 และ 100 กรัม พบว่าคะแนนประสิทธิภาพการสกัดของทั้ง 2 วิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับ กรณีที่ใช้วิธี ST30 กับ B30 สำหรับกรณีที่ใช้มวลลำไยอบแห้ง 10 และ 50 กรัม ส่วนการใช้วิธี B30x2 พบว่าคะแนนประสิทธิภาพการสกัดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตามระดับมวลลำไยอบแห้งที่เพิ่มสูงขึ้น วิธีการสกัดที่ได้คะแนนประสิทธิภาพการสกัดสูงที่สุด (74.1 ± 1.1 คะแนน) คือ การสกัด B30 สำหรับมวลลำไย 30 กรัม เนื่องจากมีปริมาณน้ำที่เหมาะสม และสามารถสัมผัสกับวัตถุดิบได้ดีที่สุด จึงสามารถสกัดสารที่ต้องการออกมาได้มากที่สุด และวิธีการสกัดที่ได้คะแนนต่ำสุด (28.3 ± 3.7 คะแนน) คือ การสกัด B30x2 สำหรับมวลลำไยอบแห้ง 200 กรัม ทั้งนี้คะแนนประสิทธิภาพการสกัด B30 และ B30x2 (ยกเว้นกรณีที่ใช้มวลลำไยอบแห้ง 30 และ 50 กรัม สำหรับวิธีสกัด B30) มีระดับความคลาดเคลื่อนคะแนนที่สูงกว่า (3.3 – 13.1%) วิธีการสกัดแบบอื่นๆ (0.3 – 3.3%)ในส่วนระดับมวลลำไยอบแห้งที่เหมาะสมสำหรับ วิธีสกัด S24, S24B30 และ ST30 คือ 10 กรัม ในขณะที่ B30x2 และ B30 ควรใช้ 20 และ 30 กรัม ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.1 ค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของคะแนนประสิทธิภาพการสกัด (คะแนนเต็ม 100) สำหรับวิธีสกัดต่างชนิด (S24 = soaking for 24 h; สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง, S24B30 = soaking for 24 h followed by boiling for 30 min; สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมงตามด้วยการสกัดด้วยน้ำเดือดต่อเป็นเวลา 30 นาที, ST30 = steaming for 30 min; สกัดด้วยไอน้ำเดือด 30 นาที, B30 = boiling for 30 min; สกัดด้วยน้ำเดือด 30 นาที, B30x2 = boiling for 30 min twice; สกัดด้วยน้ำเดือด 30 นาที เป็นจำนวน 2 ครั้ง) จากมวลลำไยอบแห้งหลายระดับ

Methods	Mass of dried longan (g) per 100 ml of distilled water					
	10	**30**	**50**	**70**	**100**	**130**
S24	$70.5 \pm 0.5^{A1,I1}$	$64.2 \pm 0.2^{A2,II1}$	$64.1 \pm 0.6^{A3,II1}$	$64.0 \pm 0.4^{A4,II1}$	$63.3 \pm 0.7^{A5,II1}$	$59.1 \pm 0.7^{A6,III1}$
S24B30	$69.5 \pm 0.3^{B1,I2}$	$64.5 \pm 0.7^{A2,II2}$	$64.0 \pm 1.1^{A3,II2,III2}$	$62.3 \pm 0.7^{B4,II2}$	$60.1 \pm 0.9^{B5,IV2}$	$53.7 \pm 0.7^{B6,V2}$
ST30	$62.2 \pm 1.3^{C1,I3}$	$56.6 \pm 1.1^{B2,II3}$	$58.1 \pm 2.2^{B3,II3,III3}$	$61.8 \pm 1.0^{B4,I3,III3}$	$61.1 \pm 2.0^{A5,B5,I3,III3}$	$52.1 \pm 0.6^{C6,IV3}$
B30	$61.3 \pm 2.7^{C1,I4}$	$74.1 \pm 1.1^{C2,II4}$	$60.9 \pm 0.5^{B3,I4,III4}$	$54.9 \pm 3.1^{C4,I4,IV4}$	$51.2 \pm 2.6^{C5,IV4}$	$58.7 \pm 5.1^{A6,B6,C6,I4,III4,IV4}$

	Mass of dried longan (g) per 100 ml of distilled water				
	20	**60**	**100**	**140**	**200**
B30x2	64.5 ± 3.4^{I5}	51.5 ± 2.1^{II5}	45.0 ± 1.5^{III5}	30.4 ± 3.1^{IV5}	28.3 ± 3.7^{V5}

The numbers with the same alphabet (A-C) with corresponding column number (1 – 6) indicate no significant difference at 95% CI ($p > 0.05$)

The numbers with the same Roman numerical (I-V) with corresponding row number (1 – 5) indicate no significant difference at 95% CI ($p > 0.05$)

เมื่อพิจารณาความเข้มข้น และมวลน้ำตาลแต่ละชนิดที่สกัดได้ในกรณี B30 (ภาพ 4.2) พบว่าได้ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 127 ± 2 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าน้ำตาลฟรุกโตส (40.4 ± 0.6) และกลูโคส (23.4 ± 0.2) กรณีใช้มวลลำไยอบแห้ง 30 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับ Chang *et al.* (1998) ซึ่งรายงานว่าในเนื้อลำไยสดมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสมากที่สุด รองลงมาคือ มอลโตส ซูโครส ไซโลส และฟรุกโตส แต่ภายหลังการอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 36 ชั่วโมง น้ำตาลซูโครสจะกลายเป็นน้ำตาลที่มีปริมาณมากที่สุด สำหรับความเข้มข้นน้ำตาลชนิดต่างๆที่สกัดได้ด้วยวิธี ST30, S24, S24B30, และ B30x2 แสดงไว้ในภาคผนวก ก

การจัดลำดับคะแนนประสิทธิภาพการสกัดสัมพัทธ์ที่คำนึงถึงค่าใช้จ่าย และเวลาที่ใช้ในการสกัด (ภาพ 4.3) พบว่าวิธีสกัด B30 มีคะแนนสูงที่สุดในกลุ่ม ในขณะที่วิธีสกัด S24 และ ST30 ด้วยมวลลำไย 10 กรัม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนวิธีสกัด S24B30 มีคะแนนต่ำที่สุด

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) รวมถึงค่าความเข้มข้นของโปรตีน (กรัมต่อลิตร) สำหรับแต่ละวิธีสกัดที่สอดคล้องกับภาพ 4.3 แสดงไว้ในภาพ 4.4 โดยวิธีสกัด B30 มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดในระดับสูงที่สุด และแตกต่างจากผลที่ได้จากวิธีการสกัดแบบอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

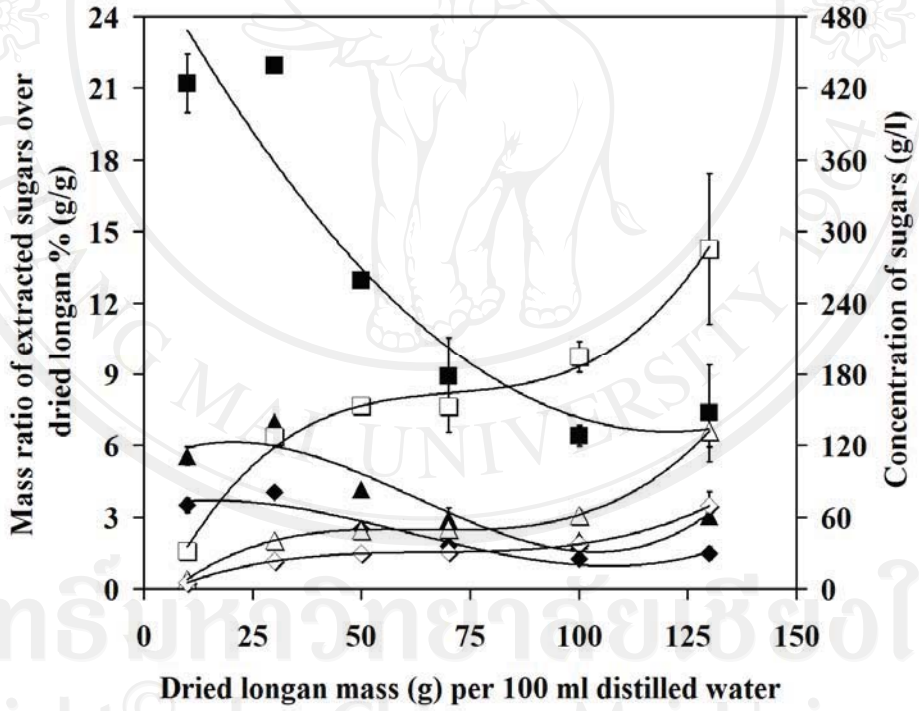
ทั้งนี้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด รวมถึงค่าความเข้มข้นของโปรตีน ในกรณี B30x2 ที่แสดงในภาพ 4.4 ถูกหารด้วย 2 เพื่อให้การเปรียบเทียบอยู่ในระดับที่เท่าเทียมกันกับวิธีการสกัดแบบอื่นๆ ที่ใช้มวลเนื้อลำไยอบแห้งน้อยกว่า 2 เท่า

ค่าความเข้มข้นโปรตีนที่สกัดได้จากวิธี B30 (6.74 ± 0.26 กรัมต่อลิตร) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากวิธีสกัด B30x2 (7.63 ± 1.90) เมื่อเปรียบเทียบจากฐานมวลลำไยอบแห้งที่เท่ากัน เช่นเดียวกับวิธี ST30 (4.43 ± 0.05) และวิธี S24B30 (4.49 ± 0.02) ที่พบว่าความเข้มข้นโปรตีนที่สกัดได้ จากทั้งสองกรณี ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *E. coli* และ *Klebsiella* sp. มักประกอบไปด้วยแหล่งอาหารไนโตรเจน 8 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Z. mobilis* มี 20 กรัมต่อลิตร ในขณะที่อาหาร

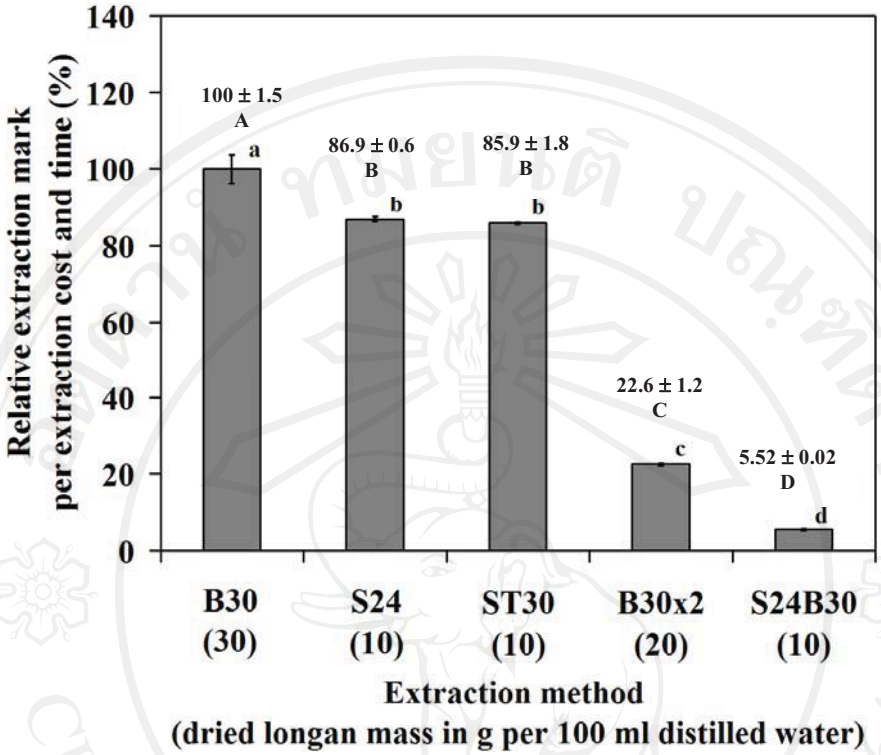
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เลี้ยงยีสต์ เช่น *C. utilis* และ *S. cerevisiae* มีความเข้มข้นแหล่งอาหารไนโตรเจน 13 กรัมต่อลิตร (ศูนย์จุลินทรีย์, 2550) จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดลำไยอบแห้ง ที่ได้จากวิธี B30 ไประเหยเพื่อให้ได้ระดับความเข้มข้นโปรตีนที่เหมาะสม ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยควบคุมระดับความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ให้เพิ่มสูงจนถึงระดับ ที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และคิดเป็นร้อยละสัดส่วนโปรตีนต่อเนื้อลำไยอบแห้งที่ใช้เท่ากับ 2.24 $\pm$ 0.08 โดยน้ำหนัก ที่นำไปเปรียบเทียบกับ ข้อมูลของกรมวิชาการเกษตร (2548) ที่ระบุว่า เนื้อลำไยแห้งมีโปรตีนร้อยละ 4.60 โดยน้ำหนัก สำหรับวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองนี้ ถูกนำไปใช้ต่อในการทดลองตอนที่ 3.4.3 แล้วยังนำไปใช้ในงานวิจัยของพูนศิริและคณะ (2551) พรรณทิวาและคณะ (2551) พีรวัสและคณะ (2551) ตติยาและคณะ (2552) รติกรและคณะ (2552) Agustina (2009) Chaweekunlayakun *et al.* (2010) Tangsuntornkhan *et al.* (2010) และ Saikeaw *et al.* (2010)



ภาพ 4.2 ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) ของน้ำตาลซูโครส (□) ฟรุกโตส (△) และกลูโคส (◇) ที่สกัดได้ รวมถึงสัดส่วนมวล (กรัม) น้ำตาลแต่ละชนิด (■, ▲, ◆) ต่อกรัมลำไยอบแห้ง ในกรณีสกัด B30 สำหรับมวลลำไยหลายระดับ

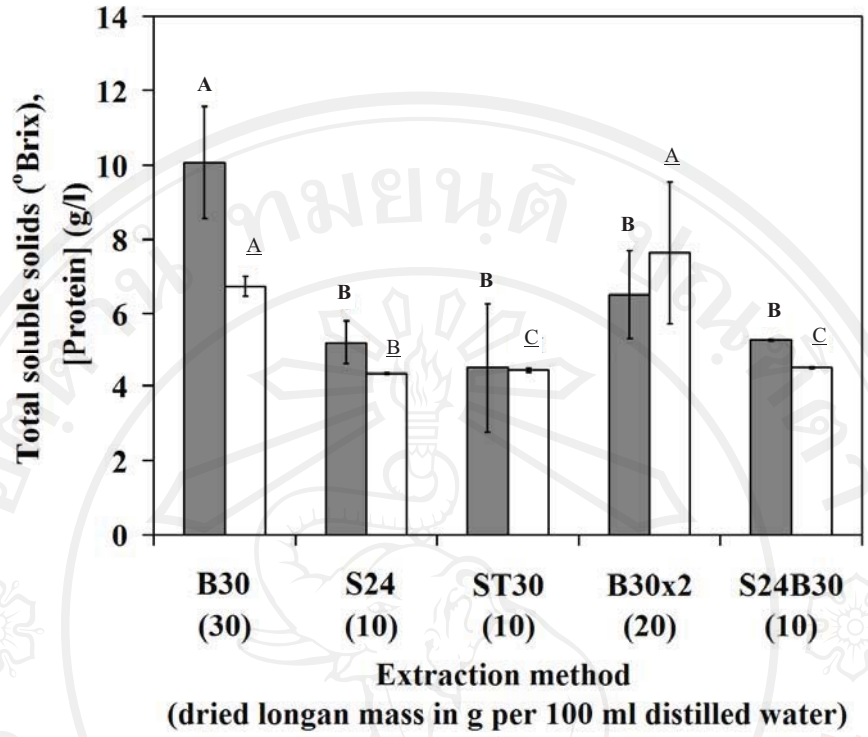
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



The numbers with the same alphabet (A-D) indicate no significant difference at 95% CI ($p > 0.05$)

ภาพ 4.3 การเปรียบเทียบค่าสูงสุดคะแนนประสิทธิภาพการสกัดสัมพัทธ์ต่อค่าใช้จ่ายและเวลาสกัดจากแต่ ละวิธีสกัด (ตาราง 4.1) ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึงมวลลำไยอบแห้งที่ใช้ต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



The numbers with the same alphabet (**A, B)** and (A – C) indicate no significant difference at 95% CI ($p > 0.05$)

ภาพ 4.4 การเปรียบเทียบปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (■) และค่าความเข้มข้นของโปรตีน (□) จากแต่ละวิธีสกัด ที่สัมพันธ์กับภาพ 4.3 และตาราง 4.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสม ในการผลิตเอทานอลโดยใช้สารสกัดลำไยสดเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน ในสภาวะที่มีการเติมอากาศ

จากการทดลอง 3.4.1 ได้ทำการหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำตาลและโปรตีนจากเนื้อลำไยอบแห้งเพื่อให้ทีมงานวิจัยในกลุ่มเดียวกันนำไปใช้ต่อเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 15 สายพันธุ์ (ตาราง 3.1) แล้ว สำหรับการทดลองในตอนนี้จะทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 15 สายพันธุ์เดียวกันนี้ โดยใช้แหล่งอาหารคาร์บอนเป็นสารสกัดลำไยสด ในสภาวะที่มีการเติมอากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และไม่เติมอากาศอีก 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส แบ่งเป็น 2 กรณี คือ

1. กรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน
2. กรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน

4.2.1 การใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส

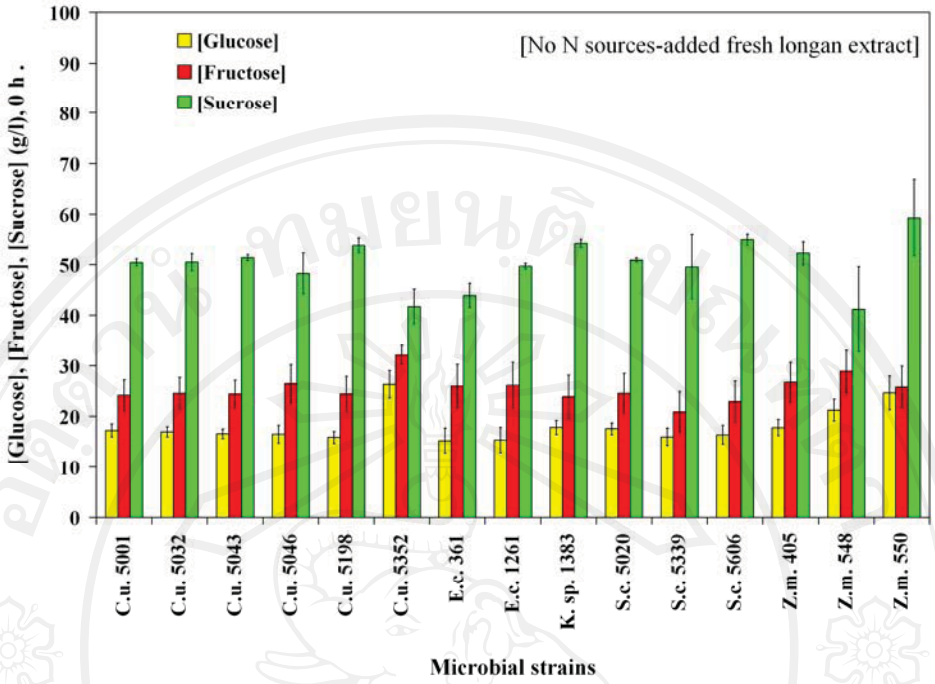
ในกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (ภาพ 4.5) มีความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ที่เวลา 0 ชั่วโมง อยู่ในช่วง 15 – 26, 20 – 32 และ 41 – 59 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ภายหลังทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพ 4.6) พบว่ามีจุลินทรีย์จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *C. utilis* TISTR 5043, *C. utilis* TISTR 5046, *C. utilis* TISTR 5352, *E. coli* 1261, *S. cerevisiae* TISTR 5606, *Z. mobilis* TISTR 548, และ *Z. mobilis* TISTR 550 ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสได้ไม่ดีและเหลือความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ในช่วง 22 – 39 กรัมต่อลิตร ส่วนในกรณีน้ำตาลฟรุกโตสพบว่าจุลินทรีย์สามารถใช้น้ำตาลฟรุกโตสได้ไม่ดี ซึ่งอาจเกิดจากการที่จุลินทรีย์เลือกใช้น้ำตาลกลูโคสให้หมดก่อนแล้วจึงจะใช้น้ำตาลฟรุกโตส โดย *C. utilis* TISTR 5198 เหลือความเข้มข้นน้ำตาลฟรุกโตสน้อยที่สุดเท่ากับ 16.0 $\pm$ 0.80 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ *E. coli* TISTR 361, *S. cerevisiae* TISTR 5020, *Z. mobolis* TISTR 405, *Klebsiella* sp. TISTR 1383, *S. cerevisiae* TISTR 5339, และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ซึ่งเหลือความเข้มข้นน้ำตาลฟรุกโตสอยู่ในช่วง 17 – 22 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ *C. utilis* TISTR 5032, *C. utilis* TISTR 5043, *C. utilis* TISTR 5046, *C. utilis* TISTR 5352, *E. coli* 1261, *Z. mobilis* TISTR 548, และ *Z. mobilis* TISTR 550 เหลือความเข้มข้นน้ำตาลฟรุก- โตสอยู่ในช่วง 28 – 45 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสที่เพิ่มสูงขึ้นภายหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีสาเหตุมาจากเอนไซม์อินเวอร์เตส (Takashige and Ouchi, 1995) ที่เปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น ซูโครส ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวฟรุกโตสและกลูโคส ในส่วนของน้ำตาลซูโครสพบว่ามีจุลินทรีย์จำนวน 4 สายพันธุ์ ที่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ดีจนเหลือความเข้มข้นน้อยกว่า 4 กรัมต่อลิตร ได้แก่ *C. utilis* TISTR 5032, *S. cerevisiae* TISTR 5020, *Z. mobilis* TISTR 548, และ *Z. mobilis* TISTR 550 จากภาพ 4.9 จะเห็นว่า *C. utilis* TISTR 5020 สามารถใช้น้ำตาลทั้งหมดได้มากที่สุด จากความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

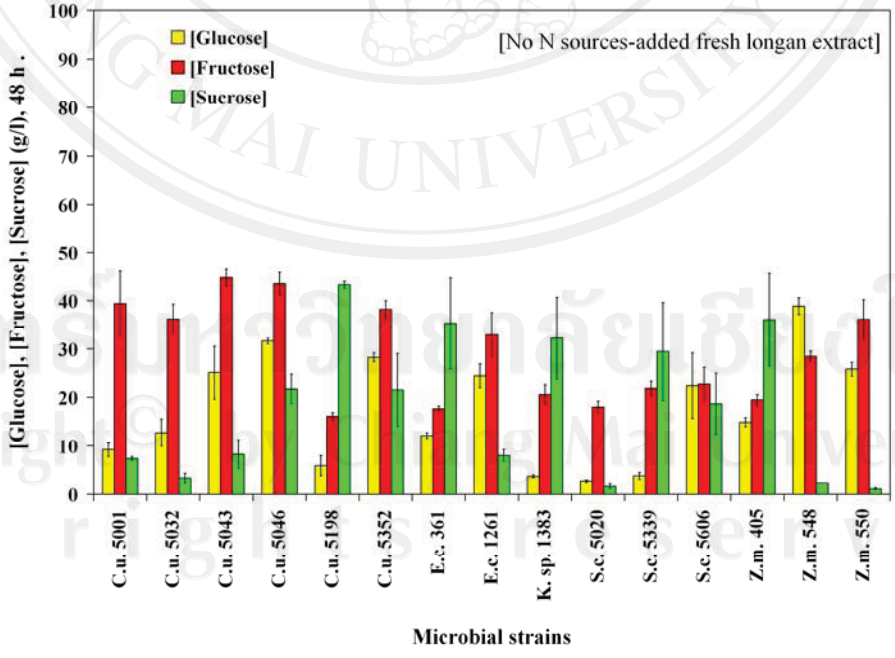
เท่ากับ 92.9 ± 5.5 กรัมต่อลิตร เหลือความเข้มข้นเท่ากับ 22.3 ± 2.0 กรัมต่อลิตร ภายหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อ 48 ชั่วโมง

ในส่วนกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (ภาพ 4.7) ที่เวลา 0 ชั่วโมง มีความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 11 – 16, 13 -27 และ 55 - 67 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ภายหลังทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพ 4.8) พบว่ามีจุลินทรีย์จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *C. utilis* TISTR 5043, *C. utilis* TISTR 5198, *Klebsiella* sp. TISTR 1383, *S. cerevisiae* TISTR 5020, *S. cerevisiae* TISTR 5339, และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคส ได้ดี ในแง่ของการใช้น้ำตาลฟรุกโตส พบว่ามีจุลินทรีย์ที่สามารถใช้น้ำตาลฟรุกโตสได้ดี จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *C. utilis* TISTR 5198, *S .cerevisiae* TISTR 5020, *S. cerevisiae* TISTR 5339, และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 มีการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสและ/หรือฟรุกโตสที่เป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์อินเวอร์เตส (invertase) (Tagashige and Ouchi, 1995) ใน *C. utilis* TISTR 5001, *C. utilis* TISTR 5032, *C. utilis* TISTR 5043, *E. coli* TISTR 1262, *Z. mobilis* TISTR 548, และ *Z. mobilis* TISTR 550 สำหรับความสามารถในการใช้น้ำตาลซูโครสนั้น พบว่า *C. utilis* TISTR 5001, *C. utilis* TISTR 5032, *C. utilis* TISTR 5046, *C. utilis* TISTR 5352, *S. cerevisiae* TISTR 5020, และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ดี โดยเหลือความเข้มข้นไม่ถึง 6 กรัมต่อลิตร ถึงแม้ว่า *C. utilis* TISTR 5198 จะสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสได้ดี แต่กลับไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่น ได้แก่ *E. coli* TISTR 1261, *Klebsiella* sp. TISTR 1383, *S. cerevisiae* TISTR 5339, *Z. mobilis* TISTR 405, *Z. mobilis* TISTR 548, และ *Z. mobilis* TISTR 550 ที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้เช่นกัน โดยเหลือระดับความเข้มข้นอยู่ในช่วง 37 – 62 กรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับพูนศิริและคณะ (2551) รายงานผลการเพาะเลี้ยง จุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้ง พบว่ามีจุลินทรีย์ 6 สายพันธุ์ ที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้แก่ *E. coli* TISTR 1261, *Klebseilla* sp. TISTR 1383, *C. utilis* TISTR 5198, *Z. mobilis* TISTR 405, *E. coli* TISTR 361, และ *S. cerevisiae* TISTR 5339 ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก Kluyver effect คือการที่จุลินทรีย์ไม่สามารถไม่สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลคู่บางชนิดได้ ภายใต้สภาวะที่ขาดแคลนออกซิเจน จึงทำให้จุลิน-ทรีย์ดังกล่าวไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ (Deak and Beuchat, 1996) พิจารณาภาพรวมการใช้น้ำตาลทั้งหมดของจุลินทรีย์ทั้ง 15 สายพันธุ์ จากภาพ 4.10 พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5020 สามารถใช้น้ำตาลทั้งหมดได้มากที่สุด รองลงมาคือ S. cerevisiae TISTR 5606 จากความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 94.9 ± 2.7 และ 86.8 ± 5.1 กรัมต่อลิตร เหลือความเข้มข้นในหน่วยกรัมต่อลิตร (ร้อยละการใช้น้ำตาลทั้งหมด) เท่ากับ 4.33 ± 0.89 (95.4 ± 3.9) และ 7.47 ± 0.21 (91.4 ± 5.9) ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

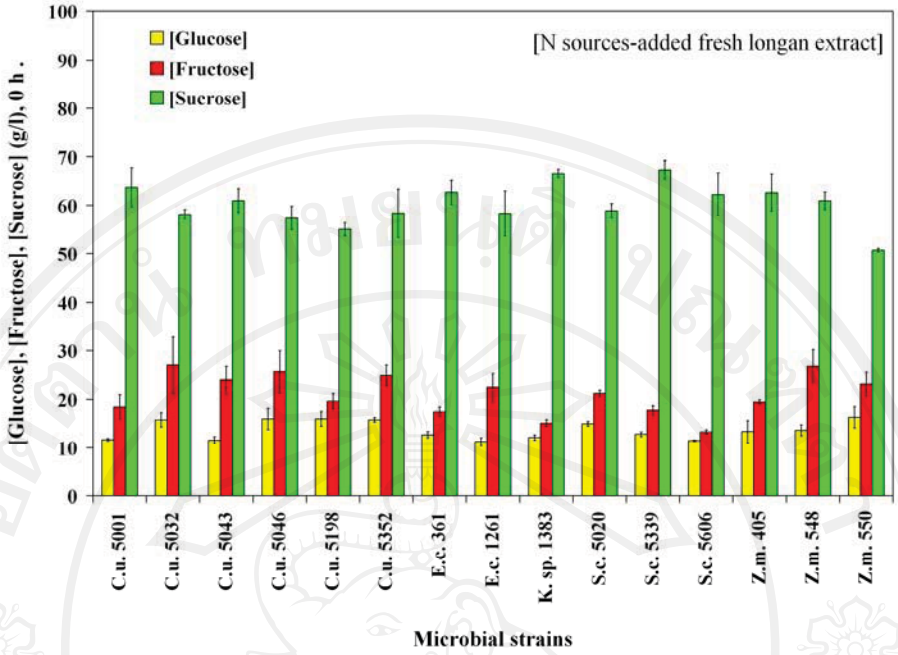


ภาพ 4.5 ความเข้มข้นน้ำตาล กลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน ที่เวลา 0 ชั่วโมง (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

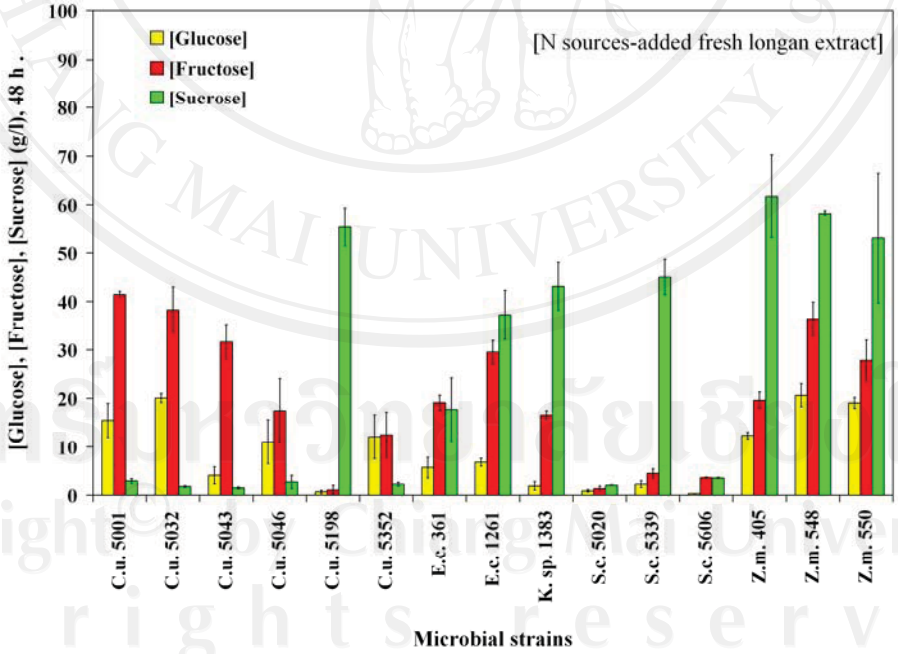


ภาพ 4.6 ความเข้มข้นน้ำตาล กลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน ที่เวลา 48 ชั่วโมง (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

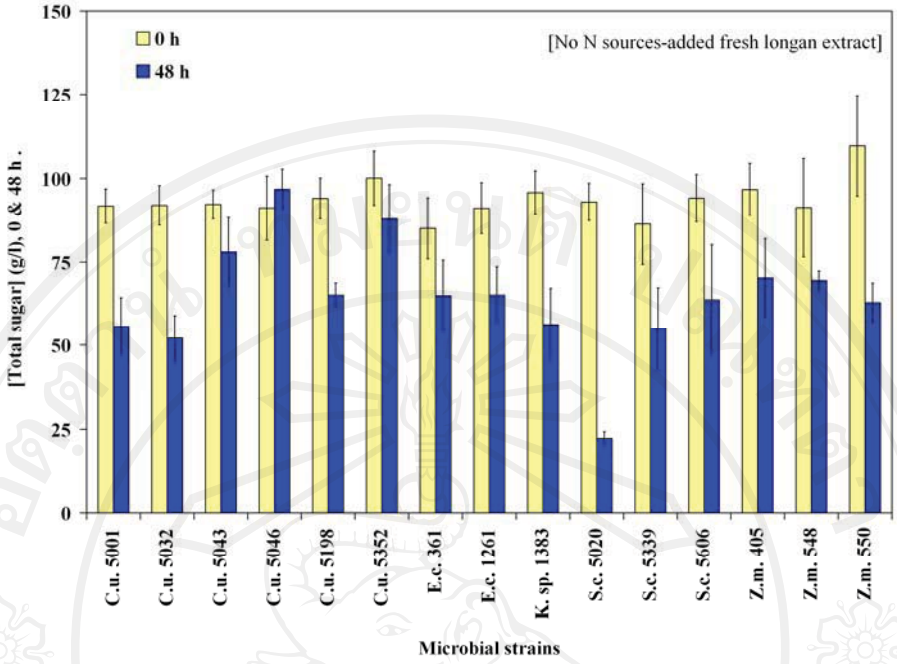


ภาพ 4.7 ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน ที่เวลา 0 ชั่วโมง (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

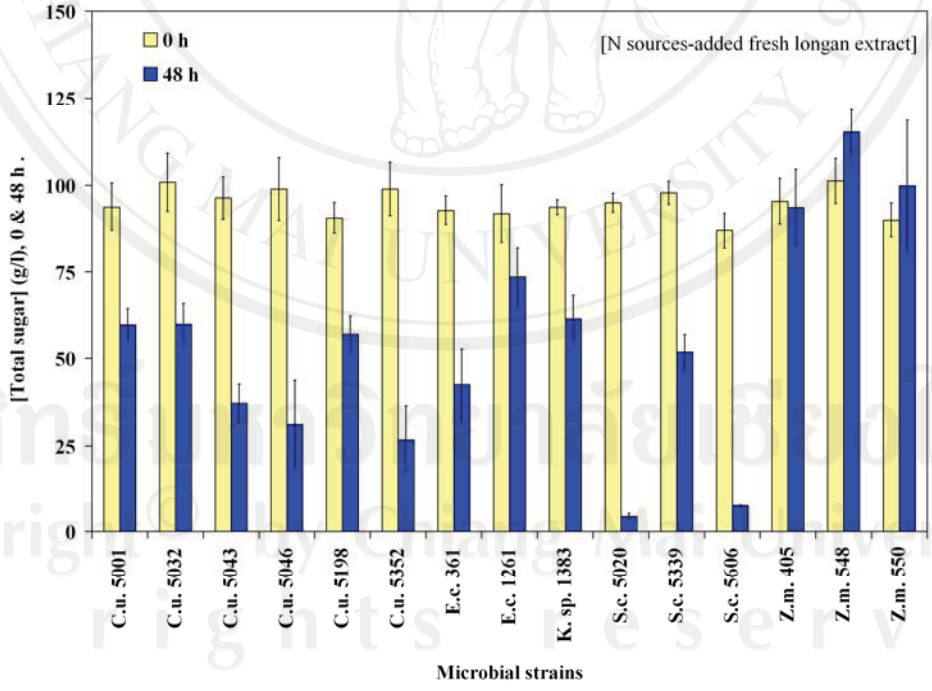


ภาพ 4.8 ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน ที่เวลา 48 ชั่วโมง (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.9 ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)



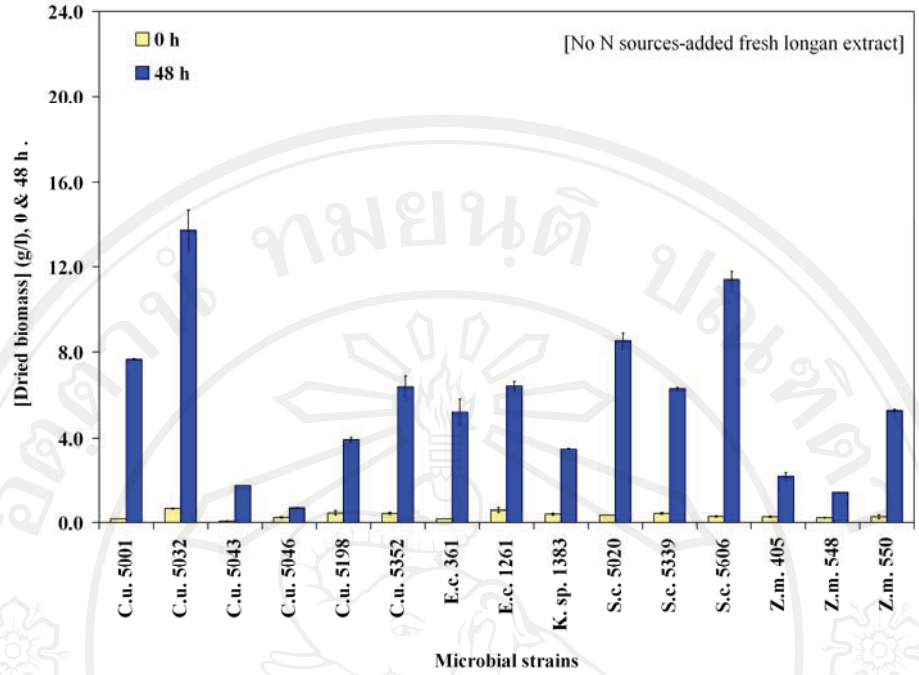
ภาพ 4.10 ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

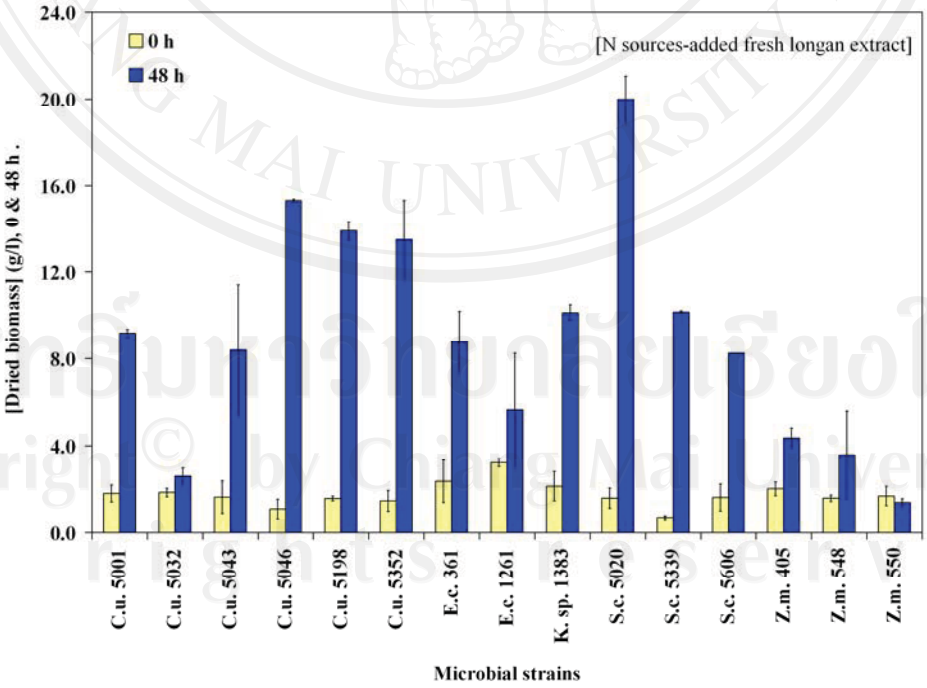
4.2.2 ความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) สูงสุด 5 อันดับแรก (ภาพ 4.11) ได้แก่ *C. utilis* TISTR 5032 (13.7 ± 1.0), *S. cerevisiae* TISTR 5606 (11.4 ± 0.40), *S. cerevisiae* TISTR 5020 (8.54 ± 0.39), *C. utilis* TISTR 5001 และ *C. utilis* TISTR 5352 (6.38 ± 0.50) สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจนพบว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถผลิตมวลชีวภาพแห้ง (กรัมต่อลิตร) ได้ความเข้มข้นมากขึ้น โดยจุลินทรีย์ที่ผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้นเกิน 10 กรัมต่อลิตร มีจำนวน 6 สายพันธุ์ (ภาพ 4.12) ได้แก่ *S. cerevisiae* TISTR 5020 (20.0 ± 1.1), *C. utilis* TISTR 5046 (15.3 ± 0.10), *C. utilis* TISTR 5198 (13.9 ± 0.41), *C. utilis* TISTR 5352 (13.5 ± 1.8), *S. cerevisiae* TISTR 5339 (10.2 ± 0.07) และ *Klebsiella* sp. TISTR 1383 (10.1 ± 0.37) จะเห็นว่า *S. cerevisiae* TISTR 5032 ซึ่งสามารถผลิตมวลชีวภาพได้ความเข้มข้นสูงสุดเมื่อไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน กลับผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้นน้อยลง (2.6 ± 0.38) ซึ่งอาจเกิดจากการที่แหล่งอาหารไนโตรเจนกระตุ้นให้จุลินทรีย์สร้างสารผลิตภัณฑ์อื่นๆแทน (Torija *et al*., 2003; Alber *et al*., 1996) เช่น กรดออกซาลิค และกรดโพรพิโอนิก (Agustina, 2009) จากผลการวิจัยของ Agustina *et al.* (2009) และ Tangsuntornkhan *et al.* (2010) รายงานว่า *S. cerevisiae* TISTR 5032 ว่าสามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้นประมาณ 4.8 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 1 เดือน ที่มีการเติมแหล่งอาหาร ไนโตรเจน และ 2.21 ± 0.25 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยอบแห้งที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจนตามลำดับ ในส่วนของ *Z. mobilis* TISTR 405 พบว่ากรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน มีการผลิตมวลชีวภาพได้ความเข้มข้นมากกว่ากรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน โดยกรณีที่มีการเติมและไม่เติมแหล่งอาหารไนโตรเจนสามารถผลิตมวลชีวภาพได้ความเข้มข้นเท่ากับ 4.36 ± 0.45 และ 2.14 ± 0.18 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ในกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจนพบว่ามีการใช้น้ำตาลน้อยกว่ามาก Agustina *et al.* (2009) รายงานว่า *Z. mobilis* TISTR 405 สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ไม่ดีจากการเพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 1 เดือนที่มีการเติมไนโตรเจน และจากการทดลองทั้งสองกรณีจะเห็นว่ามีน้ำตาลซูโครสเหลืออยู่ภายหลังการหมัก การผลิตมวลชีวภาพอาจเกิดจากการใช้แหล่งอาหารไนโตรเจนร่วมกับการเติมอากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.11 ความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)



ภาพ 4.12 ความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

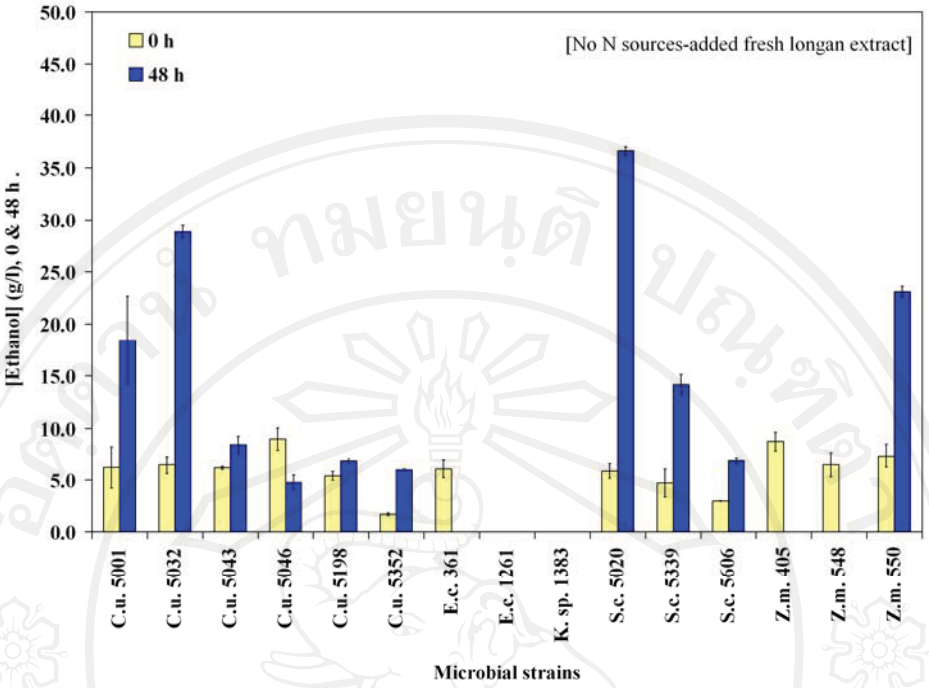
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2.3 การผลิตเอทานอล

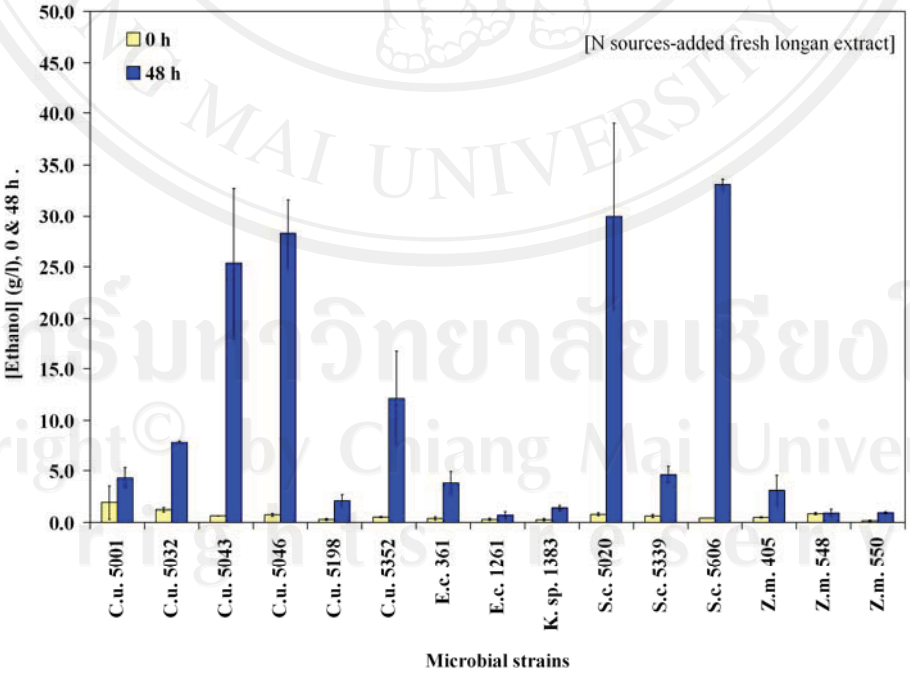
ในกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน จะเห็นว่ามีความเข้มข้นของเอทานอลปรากฏอยู่ที่เวลา 0 ชั่วโมง ซึ่งอาจเป็นเอทานอลที่ได้จากขั้นตอนการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อ (พรรณทิวาและคณะ , 2551) สำหรับจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) สูงสุด 2 อันดับแรก (ภาพ 4.13) คือ *S. cerevisiae* TISTR 5020 (30.8 $\pm$ 0.80) และ *C. utilis* TISTR 5032 (22.4 $\pm$ 1.0) และมีสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.44 $\pm$ 0.050 และ 0.56 $\pm$ 0.15 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป ตามลำดับ สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (ภาพ 4.14) พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) สูงสุดคือ *S. cerevisiae* TISTR 5606 (32.7 $\pm$ 0.54) และ *S. cerevisiae* TISTR 5020 (29.2 $\pm$ 9.0) และมีสัดส่วนการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.41 $\pm$ 0.03 และ 0.32 $\pm$ 0.1 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป

ในส่วนของ *Z. mobilis* TISTR 550 จะเห็นว่ากรณีไม่เติมแหล่งอาหารไนโตรเจนสามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่ากรณีเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน สอดคล้องกับ Agustina (2009) ซึ่งพบว่า *Z. mobilis* TISTR 405, *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 550 สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นน้อยจากการเพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน ที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน เนื่องจากมีการใช้น้ำตาลได้ในระดับต่ำ และพบการผลิตสารชนิดอื่นเช่น กลีเซอรอล กรดโพรพิโอนิก และกรดแอซีติก ขณะที่พูนศิริและคณะ (2551) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยสารสกัดลำไยอบแห้งโดยไม่มีการเติมไนโตรเจนพบว่า *Z. mobilis* TISTR 550 สามารถผลิตเอทานอลได้ 28.4 $\pm$ 5.6 กรัมต่อลิตร ขณะที่ *Z. mobilis* TISTR 405 สามารถผลิตเอทานอลได้น้อยกว่าเท่ากับ 11.9 $\pm$ 0.6 กรัมต่อลิตร ส่วน *Z. mobilis* TISTR 548 ไม่มีพบการผลิตเอทานอล อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งของ *Z. mobilis* TISTR 550 พบว่ามีความเข้มข้นลดลงจากเวลาเริ่มต้นสำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน อาจไปได้ว่ามีการตายของจุลินทรีย์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดลำไยสดที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจนไม่เหมาะสมต่อ *Z. mobilis* TISTR 550

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.13 ความเข้มข้นเอทานอลที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

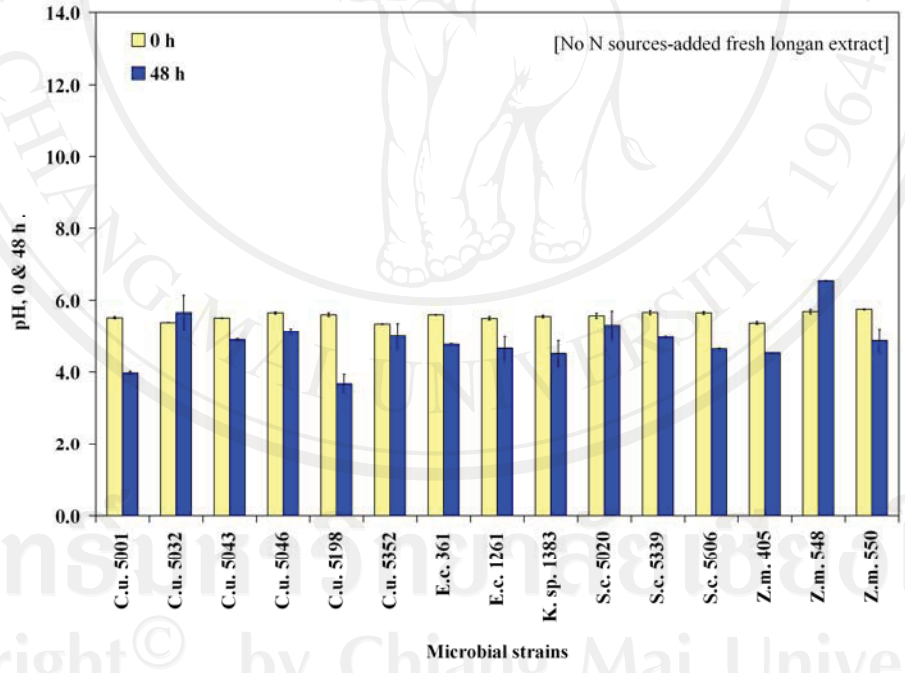


ภาพ 4.14 ความเข้มข้นเอทานอลที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

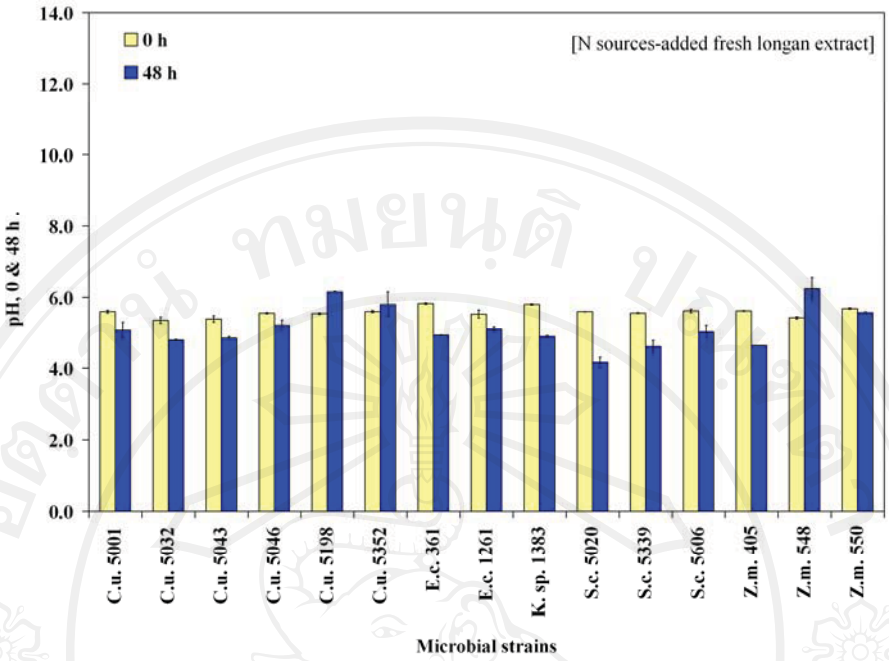
4.2.4 ระดับความเป็นกรดด่าง

จากภาพ 4.15 แสดงระดับวามเป็นกรดด่างสำหรับการเพาะเลี้ยงในกรณีที่ไม่มีการเติมไนโตรเจน พบว่าระดับความเป็นกรดด่างหลังเติมกล้าเชื้อที่เวลา 0 ชั่วโมง มีค่าอยู่ในช่วง 5.3 – 5.7 และภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าจุลินทรีย์ที่เหลือระดับความเป็นกรดด่างต่ำสุด 2 อันดับ คือ *C. utilis* TISTR 5198 (3.7 $\pm$ 0.3) และ *C. utilis* TISTR 5032 (4.0 $\pm$ 0.04) ในขณะที่ *Z. mobilis* TISTR 548 มีระดับความเป็นกรดด่างสูงสุดเท่ากับ 6.5 $\pm$ 0.01 สำหรับระดับความเป็นกรดด่างของกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (ภาพ 4.16) พบว่าที่เวลา 0 ชั่วโมง ระดับความเป็นกรดด่างมีค่าอยู่ในช่วง 5.3 – 5.8 และภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่เหลือระดับความเป็นกรดด่างต่ำสุดคือ *S. cerevisiae* TISTR 5020 ขณะที่ *Z. mobilis* TISTR 548 มีระดับความเป็นกรดด่างสูงสุดเท่ากับ 6.3 $\pm$ 0.3



ภาพ 4.15 ระดับความเป็นกรดด่างที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.16 ระดับความเป็นกรดด่างที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

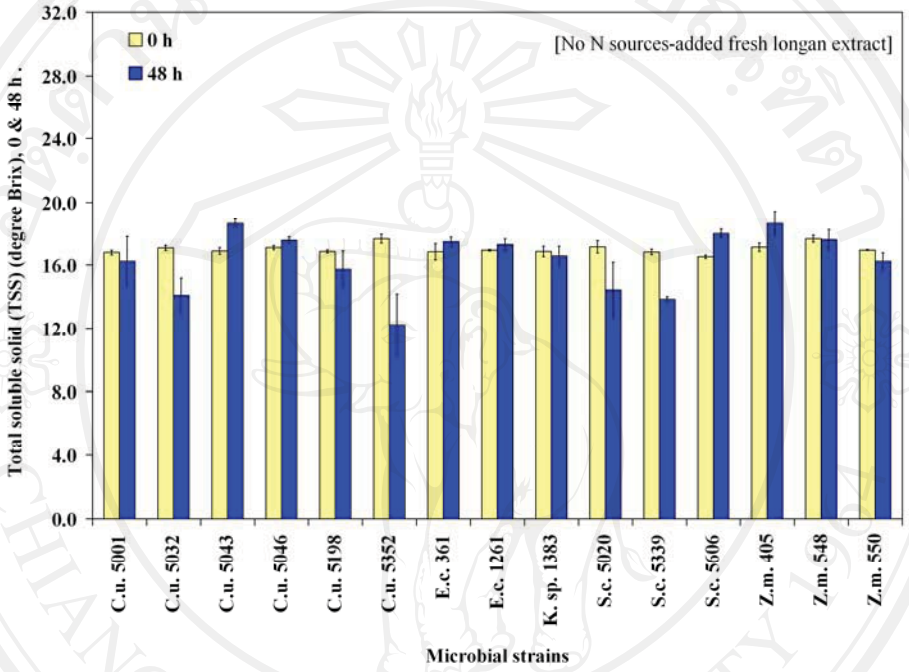
4.2.5 ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้

ในกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจนจากภาพ 4.17 แสดงให้เห็นถึงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ณ เวลาเริ่มต้น มีค่าอยู่ในช่วง 17 - 18 องศาบริกซ์ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า *C. utilis* TISTR 5352 มีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ลดต่ำลงมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 12.2 $\pm$ 2.0 องศาบริกซ์ ขณะที่ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดในกรณีนี้ กลับมีการลดลงของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ไม่มาก โดยมีค่าเท่ากับ 14.5 $\pm$ 0.30 องศาบริกซ์ ส่วนในกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน ภาพ 4.18 แสดงให้เห็นถึงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ที่เวลา 0 ชั่วโมง มีค่าอยู่ในช่วง 18 – 20 องศาบริกซ์ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าลดลงต่ำสุดเหลือ 8.40 $\pm$ 0.59 องศาบริกซ์ สำหรับ *S. cerevisiae* TISTR 5020 ซึ่งสอดคล้องกับสามารถในการผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นในระดับที่สูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น

การวัดค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยเครื่องวัดดัชนีการหักเหแสง เป็นการวัดปริมาณน้ำตาลที่ละลายอยู่ในสารละลายทางอ้อม แต่ในกรณีที่สารที่วัดไม่ใช้สารละลายน้ำตาลบริสุทธิ์ ค่าที่วัดได้เกิดจากการหักเหแสงของสารชนิดอื่น (ATAGO, 2010) จากผลการทดลองในบางกรณีจะเห็น

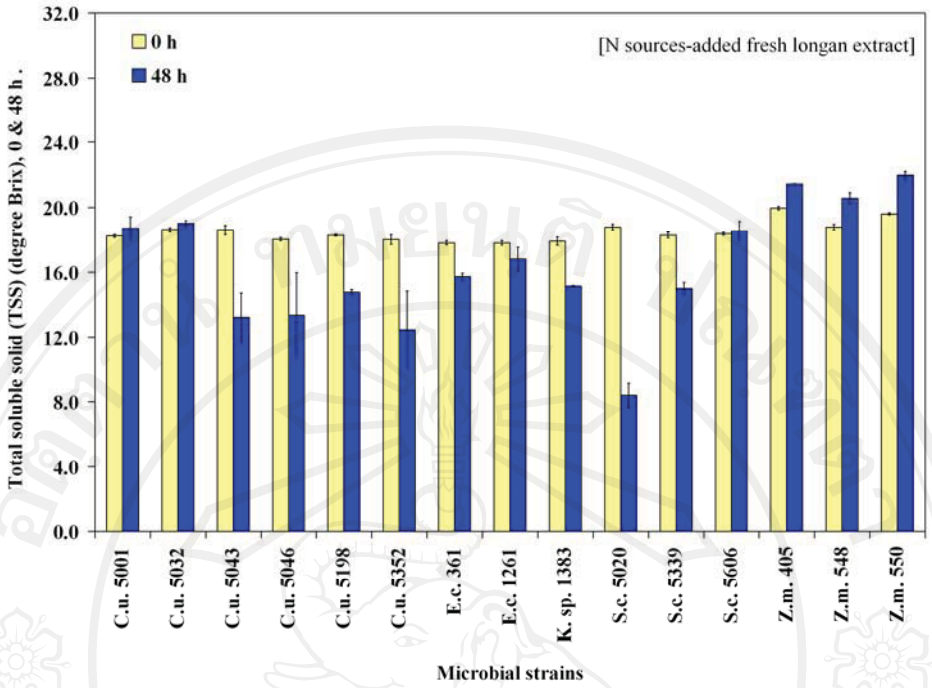
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ซึ่งอาจเกิดจากผลิตภัณฑ์ข้างเคียงจากการหมักหรือสารบางชนิดที่อยู่ในสารสกัดลำไย เช่น กรด แร่ธาตุ สารประกอบไนโตรเจน เพคติน เป็นต้น (Verma and Joshi, 2000; Ladaniya, 2008)



ภาพ 4.17 ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

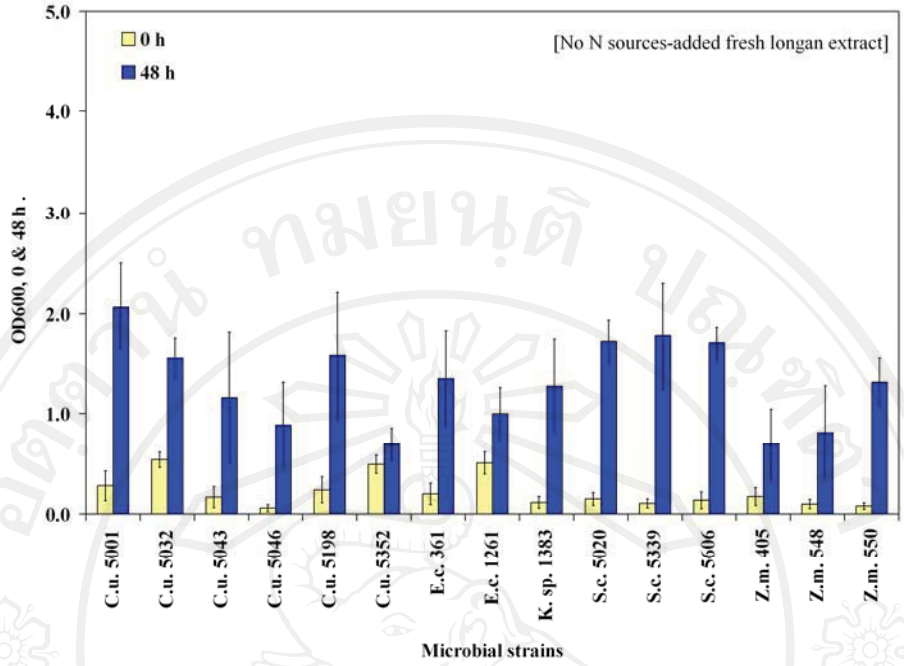


ภาพ 4.18 ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่มีการเติม แหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

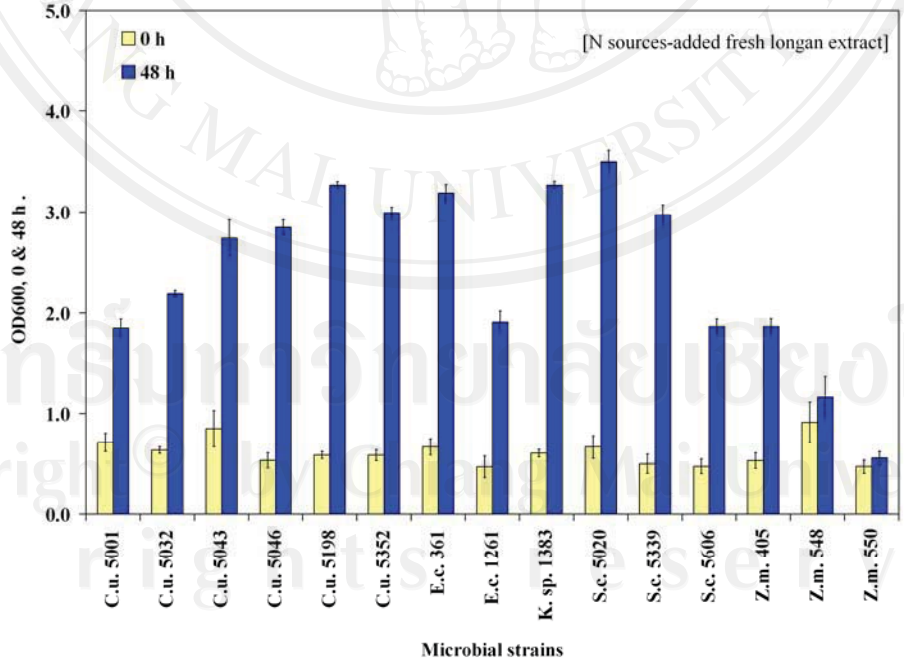
4.2.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

ภาพ 4.19 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของมวลชีวภาพที่ได้จากกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน พบว่าค่าการดูดกลืนแสง (หน่วยการดูดกลืนแสง) สูงสุดที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 2.07 $\pm$ 0.43 สำหรับ *C. utilis* TISTR 5001 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5339 (1.77 $\pm$ 0.53), *S. cerevisiae* TISTR 5020 (1.71 $\pm$ 0.23) และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 (1.65 $\pm$ 0.12) สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (ภาพ 4.20) จุลินทรีย์ที่มีค่าการดูดกลืนแสง (หน่วยการดูดกลืนแสง) สูงสุด 4 อันดับแรกคือ *S. cere-visiae* TISTR 5020 (3.50 $\pm$ 0.11), *C. utilis* TISTR 5198 (3.27 $\pm$ 0.036), *Klebsiella* sp. TISTR 1383 (3.27 $\pm$ 0.037), และ *E. coli* TISTR 361 (3.19 $\pm$ 0.082)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.19 ค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

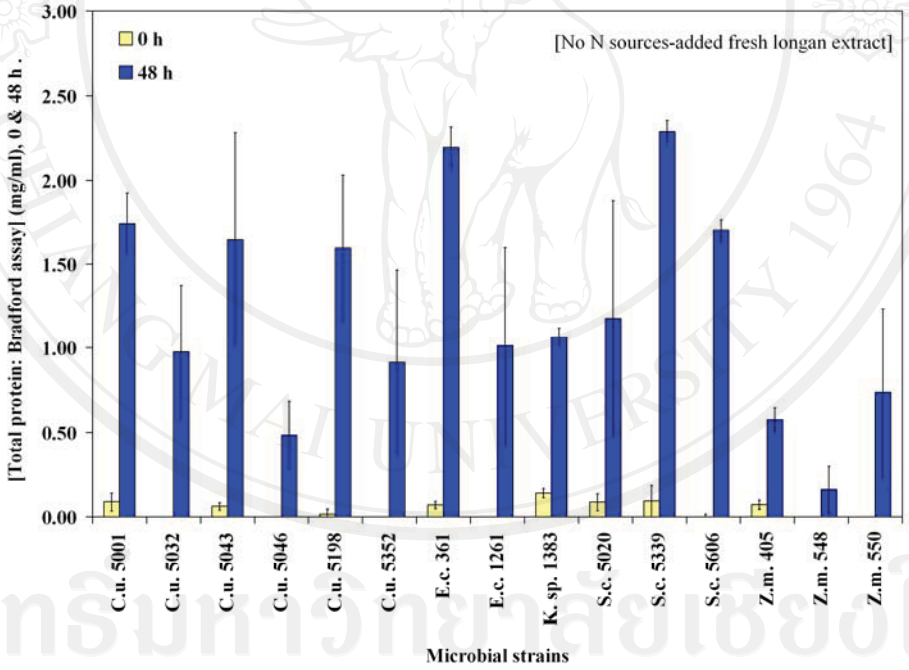


ภาพ 4.20 ค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

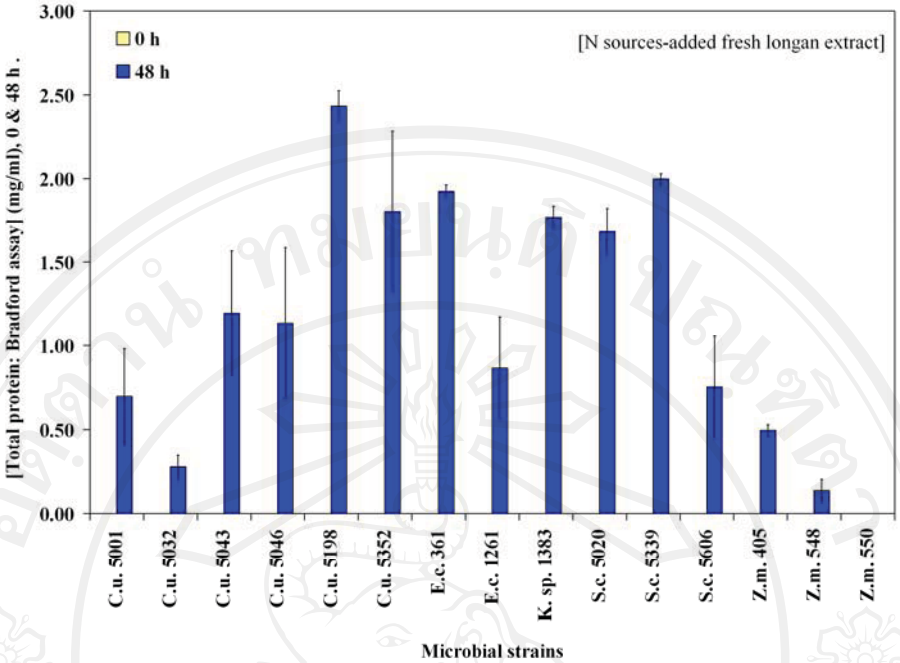
4.2.7 ความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้

ในกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน พบว่าจุลินทรีย์ที่มีระดับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สูงสุด 4 อันดับแรกคือ *S. cerevisiae* TISTR 5339 (2.29 $\pm$ 0.065), *E. coli* TISTR 361 (2.19 $\pm$ 0.12), *C. utilis* TISTR 5001 (1.74 $\pm$ 0.18), และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 (1.70 $\pm$ 0.066) (ภาพ 4.21) สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (ภาพ 4.22) แสดงถึงจุลินทรีย์ที่มีค่าความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สูงสุด 4 อันดับแรกคือ *C. utilis* TISTR 5198 (2.48 $\pm$ 0.092), *S. cerevisiae* TISTR 5020 (1.68 $\pm$ 0.14), *E. coli* TISTR 361 (1.92 $\pm$ 0.038), และ *Klebsiella* sp. TISTR 1383 (1.77 $\pm$ 0.067) เป็นที่น่าสังเกตว่า จุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งสูง ก็จะมีค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้สูงตามไปด้วย



ภาพ 4.21 ความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่ไม่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.22 ความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง สำหรับกรณีที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจน (C.u.: *C. utilis*; E.c.: *E. coli*; K. sp.: *Klebsiella* sp.; S.c.: *S. cerevisiae*; Z.m.: *Z. mobilis*)

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า *S. cerevisiae* TISTR 5020 และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 เป็นจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล เนื่องจากสามารถใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครสได้ดี สามารถผลิตมวลชีวภาพและเอทานอลได้ในระดับสูง เมื่อใช้สารสกัดลำไยสดที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจนเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงเลือกจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ นี้ สำหรับการทดลองศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตที่ระดับ 1,500 มิลลิลิตร โดยใช้สารสกัดลำไยสดและลำไยอบแห้งเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนในสภาวะที่มีการเติมอากาศบางส่วน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 การศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตของ *S. cerevisiae* TISTR 5606 และ *S. cerevisiae* TISTR 5020 ในการเพาะเลี้ยงระดับ 1,500 มิลลิลิตร โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งและลำไยสดเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนในสภาวะที่มีการเติมอากาศบางส่วน

ทำการศึกษาจลนพลศาสตร์ของจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 3 กรณี ในระดับ 1,500 มิลลิลิตร

1. *S. cerevisiae* TISTR 5606 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยอบแห้ง (5606D)
2. *S. cerevisiae* TISTR 5606 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยสด (5606F)
3. *S. cerevisiae* TISTR 5020 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยสด (5020F)

ในสภาวะที่มีการเติมอากาศเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และตั้งนิ่งอีก 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25.6 องศาเซลเซียส จลนพลศาสตร์ของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ทั้ง 3 กรณี แสดงไว้ดังภาพ 4.23, 4.24 และ 4.25 ในภาพ 4.23ก, 4.24ก และ 4.25ก แสดงค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ระดับความเป็นกรดด่าง ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง ขณะที่ภาพ 4.23ข, 4.24ข และ 4.25ข แสดงค่าความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส และเอทานอล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ทั้ง 3 กรณี แสดงไว้ในตาราง 4.2 – 4.7 โดยตาราง 4.2 – 4.4 แสดงเปรียบเทียบทางสถิติของค่าความแตกต่างระหว่างเวลาเริ่มต้นและสุดท้าย ค่าอัตราเฉลี่ยและสูงสุดของการเพิ่มขึ้นหรือลดลงสำหรับค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ระดับความเป็นกรดด่าง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง สำหรับการเปรียบทางสถิตที่เกี่ยวกับน้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส และเอทานอลแสดงไว้ในตาราง 4.5 – 4.7

จากภาพ 4.23ก, 4.24ก และ 4.25ก พิจารณาค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ พบว่า 5020F มีความแตกต่างของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ระหว่างเวลาเริ่มต้นและสุดท้ายมากที่สุด เท่ากับ 9.73 ± 0.10 องศาบริกซ์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5606D และ 5606F ซึ่งมีค่าความแตกต่างของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ระหว่างเวลาเริ่มต้นและสุดท้าย เท่ากับ 8.10 ± 0.09 และ 9.30 ± 0.09 องศาบริกซ์ ตามลำดับ อัตราการลดลงของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เฉลี่ย (ตาราง 4.3) ของทั้ง 3 กรณีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อัตราการลดลงของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เฉลี่ยมีค่าอยู่ในช่วง 0.27 – 0.31 องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง เปรียบเทียบค่าอัตราการลดลงของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้สูงสุด (ตาราง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

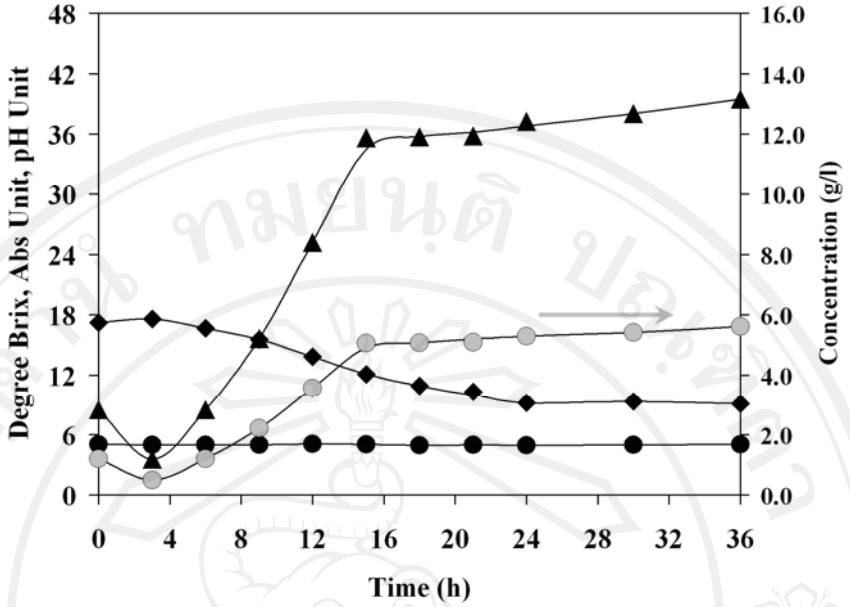
4.4) พบว่ากรณี 5606D มีค่าอัตราการลดลงของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้สูงสุดเท่ากับ 0.29 $\pm$ 0.00 องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากค่าอัตราการลดลงของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้สูงสุดสำหรับกรณี 5606F (0.50 $\pm$ 0.08 องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง) และ 5020F (0.47 $\pm$ 0.05 องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง)

ทำการเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างเวลาเริ่มต้นและสุดท้าย สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (ตาราง 4.2) พบว่าค่าความแตกต่างระหว่างเริ่มต้นและสุดท้ายสำหรับค่าดูดกลืนแสงของทั้ง 3 กรณีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้ กรณี 5020F มีค่าความแตกต่างระหว่างเริ่มต้นและสุดท้ายสำหรับค่าดูดกลืนแสงมากที่สุดเท่ากับ 34.3 $\pm$ 0.03 หน่วยการดูดกลืนแสง รองลงมาเป็นกรณี 5606D และ 5606F มีค่าความแตกต่างเท่ากับ 31.0 $\pm$ 0.01 และ 30.3 $\pm$ 0.06 หน่วยการดูดกลืนแสง ตามลำดับ สำหรับค่าอัตราการเพิ่มขึ้นเฉลี่ยและสูงสุดของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (ตาราง 4.3 และ 4.4) พบว่าทั้ง 3 กรณี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.99 – 1.02 และ 0.87 – 1.1 หน่วยการดูดกลืนแสงต่อชั่วโมง

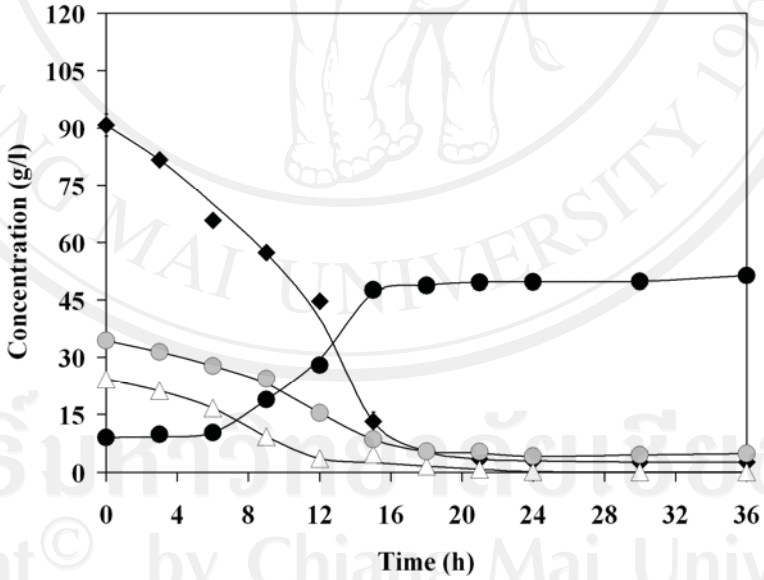
จากภาพ 4.23ก – 4.25ก แสดงให้เห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงและค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งมีแนวโน้มที่แปรผันตรงกัน โดยกรณีที่สามารถผลิตมวลชีวภาพแห้งได้ความเข้มข้นมากที่สุด (ตาราง 4.2) คือ 5020F ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 11.0 $\pm$ 0.81 กรัมต่อลิตร และมีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5606D และ 5606F ซึ่งผลิตมวลชีวภาพได้ความเข้มข้นเท่ากับ 4.41 $\pm$ 0.07 และ 4.98 $\pm$ 0.83 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าอัตราการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพเฉลี่ยและสูงสุด (ตาราง 4.3 และ 4.4) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) มีค่าอยู่ในช่วง 0.14 – 0.36 และ 0.19 – 0.26 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

สำหรับค่าระดับความเป็นกรดด่างนั้น พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดในการเพาะเลี้ยงทุกกรณี (ภาพ 4.23ก - 4.25ก) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารละลายบัฟเฟอร์ที่เติมลงไปในการปรับระดับความเป็นกรดด่าง อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าค่าระดับความเป็นกรดด่างด่างเฉลี่ย (ตาราง 4.3) กรณี 5606D ซึ่งมีค่าระดับความเป็นกรดด่างต่ำสุดเท่ากับ 5.01 $\pm$ 0.01 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5606F และ 5020F ซึ่งมีค่าระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.18 $\pm$ 0.02 และ 5.18 $\pm$ 0.02 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



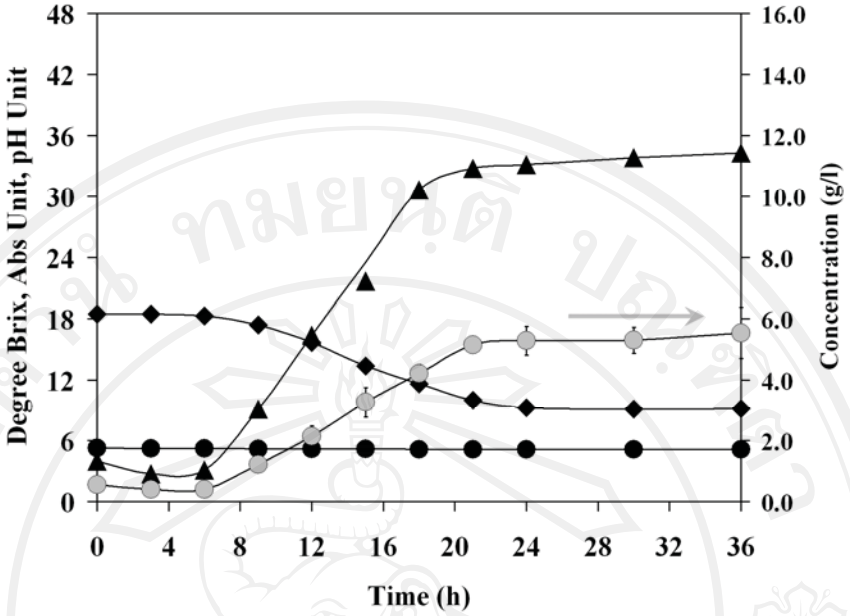
(ก)



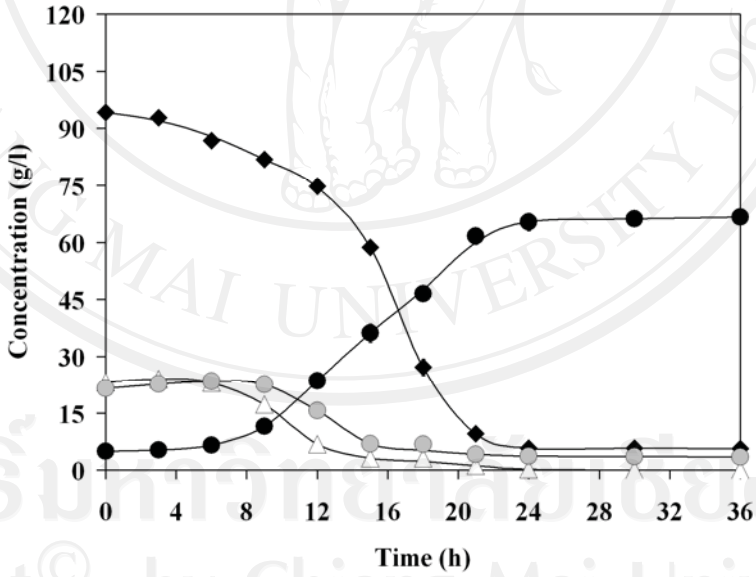
(ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 4.23 จลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตสำหรับ 5606D **(ก)** ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS, ◆) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD600, ▲) ค่าระดับความเป็นกรดด่าง (pH level, ●) และค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง (Dried Biomass, ●) **(ข)** ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส (◆) กลูโคส (△) ฟรุกโตส (●) และเอทานอล (●)



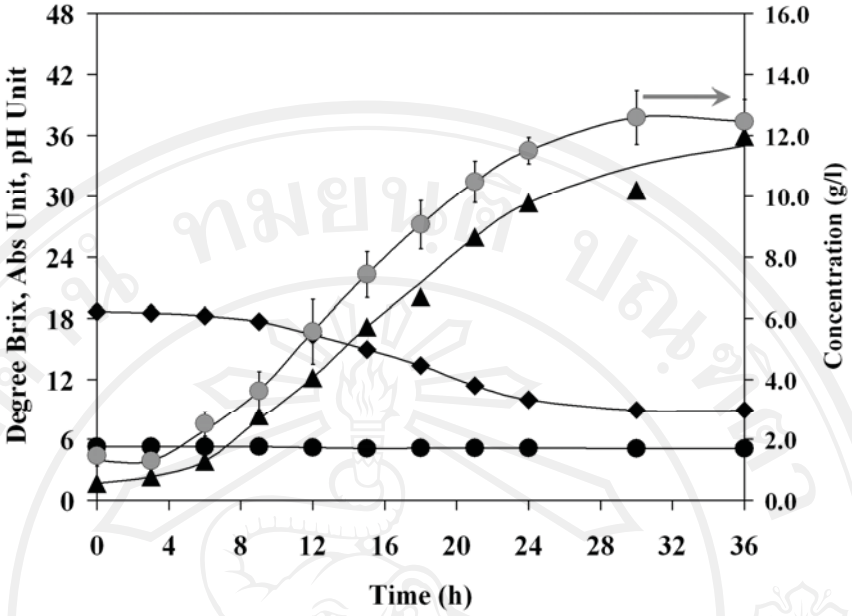
(ก)



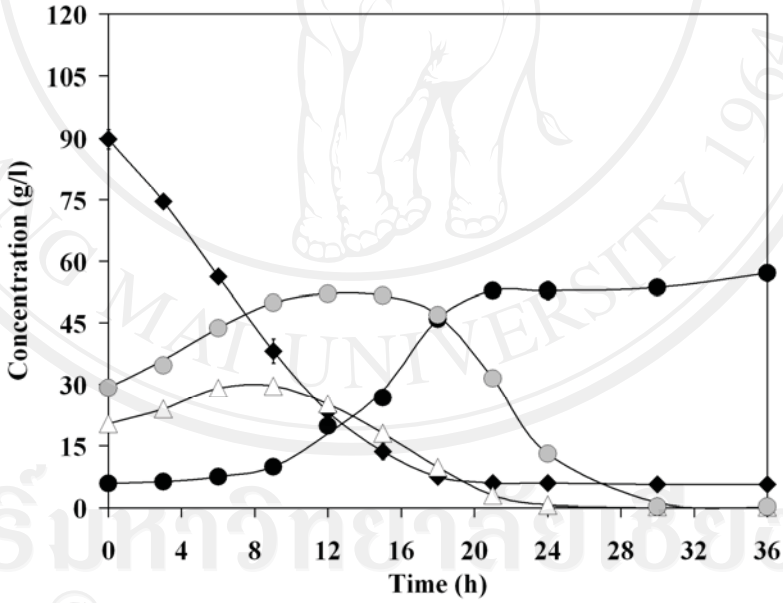
(ข)

ภาพ 4.24 จลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตสำหรับ 5606F **(ก)** ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS, ◆) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD600, ▲) ค่าระดับความเป็นกรดด่าง (pH level, ●) และค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง (Dried Biomass, ●) **(ข)** ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส (◆) กลูโคส (△) ฟรุกโตส (●) และเอทานอล (●)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(ก)



(ข)

ภาพ 4.25 จลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตสำหรับ 5020F **(ก)** ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS, ◆) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD600, ▲) ค่าระดับความเป็นกรดด่าง (pH level, ●) และค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง (Dried Biomass, ◉) **(ข)** ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส (◆) กลูโคส (△) ฟรุกโตส (◉) และเอทานอล (●)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS, องศาบริกซ์) ค่าการดูดกลืนแสง (OD600, หน่วยการดูดกลืนแสง) และค่าความเข้มข้นมวลชีวภาพ (X, กรัม/ลิตร) ระหว่างเวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 5606D, 5606F และ 5020F

Investigated parameters	5606D		5606F		5020F	
TSS decreasing level	8.10 ± 0.09	I	9.30 ± 0.09	II	9.73 ± 0.10	III
OD600 increasing level	30.98 ± 0.01	I	30.33 ± 0.06	II	34.26 ± 0.03	III
X production level	4.41 ± 0.07	I	4.98 ± 0.83	I	11.00 ± 0.81	II

The numbers with the same Roman numerical (I-III) indicate no significant different at 95% CI ($p > 0.05$) between column in the same row.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.3 ค่าระดับความเป็นกรดด่างเฉลี่ย (pH level) อัตราการลดลงเฉลี่ยของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำ (average TSS decreasing rate, องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง) อัตราการเพิ่มขึ้นเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง (average OD600 increasing rate, หน่วยการดูดกลืนแสงต่อชั่วโมง) อัตราการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นมวลชีวภาพ (average X increasing rate, กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ย (average specific growth rate) และ เวลาเฉลี่ยที่จุลินทรีย์ใช้ในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (average doubling time, ชั่วโมง) สำหรับ 5606D, 5606F และ 5020F

Investigated parameters	5606D		5606F		5020F	
Average pH level	5.014 ± 0.011	I	5.178 ± 0.015	II	5.176 ± 0.024	II
Average TSS decreasing rate	-0.268 ± 0.076	I	-0.309 ± 0.092	I, II	-0.306 ± 0.073	I, II
Average OD600 increasing rate	0.988 ± 0.488	I	0.991 ± 0.366	I, II	1.017 ± 0.171	I, II
Average X increasing rate	0.142 ± 0.069	I	0.162 ± 0.053	I, II	0.356 ± 0.076	I, II
Average Specific growth rate	0.049 ± 0.047	I	0.065 ± 0.039	I, II	0.073 ± 0.021	I, II
Average Doubling time	14.026 ± 13.408	I	9.664 ± 5.279	I, II	9.503 ± 2.785	I, II

The numbers with the same Roman numerical (I-II) indicate no significant different at 95% CI ($p > 0.05$) between column in the same row

ตาราง 4.4 อัตราการลดลงสูงสุดของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (maximum TSS decreasing rate, องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง) อัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของค่าการดูดกลืนแสง (maximum OD600 increasing rate, หน่วยการดูดกลืนแสงต่อชั่วโมง) อัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของความเข้มข้นมวลชีวภาพ (maximum X increasing rate, กรัมต่อลิตร) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (maximum specific growth rate, กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) และเวลาน้อยสุดที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็น 2 เท่า (minimum doubling time, ชั่วโมง) สำหรับ 5606D, 5606F และ 5020F

Investigated parameters	5606D		5606F		5020F	
Maximum TSS decreasing rate	-0.292 ± 0.004	I	-0.500 ± 0.083	II	-0.468 ± 0.045	II
Maximum OD600 increasing rate	0.868 ± 0.031	I	1.016 ± 0.215	I, II	1.102 ± 0.418	I, II
Maximum X increasing rate	0.194 ± 0.010	I	0.234 ± 0.052	I, II	0.259 ± 0.101	I, II
Maximum specific growth rate	0.175 ± 0.048	I	0.130 ± 0.011	I, II	0.111 ± 0.007	I, II
Minimum doubling time	3.960 ± 1.094	I	5.327 ± 0.438	I, II	6.226 ± 0.367	I, II

The numbers with the same Roman numerical (I-II) indicate no significant different at 95% CI ($p > 0.05$) between column in the same row.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.5 การเปลี่ยนแปลงของระดับการลดลงของความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส กลูโคสและฟรุกโตส (sucrose, glucose, and fructose decreasing level, กรัมต่อลิตร) ระดับการเพิ่มขึ้นของเอทานอล (ethanol increasing level, กรัมต่อลิตร) ระหว่างเวลาเริ่มต้นและเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และสัดส่วนการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$, กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป) สำหรับ 5606D, 5606F และ 5020F

Investigated parameters	5606D		5606F		5020F	
Sucrose decreasing level	88.25 ± 2.90	I	88.60 ± 0.79	I, II	84.10 ± 2.35	I, II
Glucose decreasing level	24.11 ± 0.54	I	23.31 ± 0.20	I	20.08 ± 0.84	II
Fructose decreasing level	29.57 ± 0.72	I	18.31 ± 0.20	II	28.88 ± 1.28	I
Ethanol increasing level	42.24 ± 1.49	I	61.64 ± 1.21	II	51.22 ± 2.06	III
$\mathbf{Y_{p/s}}$	0.30 ± 0.01	I	0.47 ± 0.01	II	0.38 ± 0.02	III

The numbers with the same Roman numerical (I-III) indicate no significant different at 95% CI ($p > 0.05$) between column in the same row.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.6 อัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส (average sucrose, glucose, and fructose decreasing rate, กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) อัตราการผลิตเอทานอลเฉลี่ย (average ethanol producing rate, กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) อัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตสจำเพาะ (average specific sucrose, glucose and fructose decreasing rate, กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง) และอัตราเฉลี่ยการผลิตเอทานอลจำเพาะ (average specific ethanol producing rate, กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง) สำหรับ 5606D, 5606F และ 5020F

Investigated parameters	5606D		5606F		5020F	
Average sucrose decreasing rate	-2.936 ± 0.921	I	-2.951 ± 1.501	I, II	-2.798 ± 0.818	I, II
Average glucose decreasing rate	-0.802 ± 0.277	I	-0.774 ± 0.367	I, II	-0.667 ± 0.485	I, II
Average fructose decreasing rate	-0.997 ± 0.295	I	-0.601 ± 0.353	I, II	-0.753 ± 0.952	I, II
Average ethanol producing rate	1.381 ± 0.629	I	2.033 ± 0.577	I, II	1.636 ± 0.604	I, II
Average specific sucrose decreasing rate	-1.545 ± 0.526	I	-1.513 ± 0.372	I, II	-1.122 ± 0.470	I, II
Average specific glucose decreasing rate	-0.530 ± 0.218	I	-0.541 ± 0.304	I, II	0.061 ± 0.154	II
Average specific fructose decreasing rate	-0.524 ± 0.206	I	-0.167 ± 0.208	I, II	0.258 ± 0.251	II
Average specific ethanol producing rate	0.499 ± 0.206	I, II	0.958 ± 0.273	I	0.273 ± 0.080	II

The numbers with the same Roman numerical (I-III) indicate no significant different at 95% CI ($p > 0.05$) between column in the same row.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.7 อัตราการลดลงสูงสุดของน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส (maximum sucrose, glucose, and fructose decreasing rate, กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) อัตราการผลิตเอทานอลสูงสุด (maximum ethanol producing rate, กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) อัตราการลดลงสูงสุดของน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตสจำเพาะ (maximum specific sucrose, glucose, and fructose decreasing rate, กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง) และอัตราสูงสุดการผลิตเอทานอลจำเพาะ (maximum specific ethanol producing rate, กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง) สำหรับ 5606D, 5606F และ 5020F

Investigated parameters	5606D		5606F		5020F	
Maximum sucrose decreasing rate	-5.714 ± 1.141	I	-6.025 ± 1.662	I, II	-5.530 ± 0.313	I, II
Maximum glucose decreasing rate	-1.724 ± 0.304	I	-1.760 ± 0.666	I, II	-2.224 ± 0.277	I, II
Maximum fructose decreasing rate	-1.900 ± 0.305	I	-1.550 ± 0.642	I, II	-3.705 ± 1.139	I, II
Maximum ethanol producing rate	3.200 ± 1.058	I	4.035 ± 0.577	I, II	3.578 ± 0.778	I, II
Maximum specific sucrose decreasing rate	-3.201 ± 0.544	I	-2.653 ± 0.284	I, II	-2.603 ± 0.646	I, II
Maximum specific glucose decreasing rate	-1.267 ± 0.234	I	-1.437 ± 0.469	I	-0.313 ± 0.029	II
Maximum specific fructose decreasing rate	-1.108 ± 0.134	I	-0.733 ± 0.297	I, II	-0.360 ± 0.106	II
Maximum specific ethanol producing rate	1.161 ± 0.273	I	1.764 ± 0.286	I	0.525 ± 0.092	II

The numbers with the same Roman numerical (I-III) indicate no significant different at 95% CI ($p > 0.05$) between column in the same row.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ย (ตาราง 4.3) พบว่าทั้ง 3 กรณี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีค่าอยู่ในช่วง 0.049 – 0.073 ต่อชั่วโมง เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็น 2 เท่า ของทั้ง 3 กรณีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 9.5 – 14.0 ชั่วโมง โดยกรณีที่มีเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็น 2 เท่า น้อยที่สุดคือ 5020F เท่ากับ 9 ชั่วโมง ส่วนกรณี 5606D มีเวลาเฉลี่ยที่ในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็น 2 เท่า มากที่สุดเท่ากับ 14.0 ± 13.4 ชั่วโมง จะเห็นว่ามีค่าความคลาดเคลื่อนสูงมาก ทำการพิจารณาจลนศาสตร์ของความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งพบว่า ในช่วง 3 -15 ชั่วโมง (12 ชั่วโมง) มีอัตราการผลิตมวลชีวภาพแห้งสูง ส่วนในช่วง 15 – 36 ชั่วโมง (19 ชั่วโมง) มีอัตราการผลิตมวลชีวภาพแห้งน้อยมาก ใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ของทั้งสองช่วงจึงมีค่าต่างกันมาก จึงส่งผลให้มีความคลาดเคลื่อนมาก

พิจารณาอัตราการลดลดสูงสุดของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (ตาราง 4.4) พบว่ากรณี 5606F มีอัตราการลดลงสูงสุดของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มากที่สุดเท่ากับ 0.50 ± 0.1 องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากกรณี 5020F ซึ่งมีอัตราการลดลงสูงสุดของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.47 ± 0.1 องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง ส่วนกรณี 5606D มีอัตราการลดลงสูงสุดของค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.29 ± 0.0 องศาบริกซ์ต่อชั่วโมง และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5606F และ 5020F สำหรับอัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (ตาราง 4.4) พบว่า กรณี 5020F มีอัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุดเท่ากับ 1.10 ± 0.42 หน่วยการดูดกลืนแสงต่อชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกับกรณี 5606F ซึ่งมีอัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.02 ± 0.22 หน่วยการดูดกลืนแสงต่อชั่วโมง ขณะที่กรณี 5606D มีอัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.87 ± 0.03 หน่วยการดูดกลืนแสงต่อชั่วโมง โดยอัตราการเพิ่มขึ้นสงสุดของค่าดูดกลืนแสงของทั้ง 3 กรณี สอดคล้องกับอัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของมวลชีวภาพแห้ง ซึ่งกรณี 5020F มีอัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของความเข้มข้นของมวลชีวภาพมากที่สุดเช่นกัน (0.26 ± 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) อันดับสองคือกรณี 5606F มีค่าเท่ากับ 0.23 ± 0.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และอันดับสามคือกรณี 5606D มีค่าเท่ากับ 0.19 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในแง่ของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (ตาราง 4.4) พบว่ากรณี 5606D มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดมากที่สุดเท่ากับ 0.18 ± 0.05 ต่อชั่วโมง ส่วนกรณี 5606F และ 5020F มีค่าเท่ากับ 0.13 ± 0.01 และ 0.11 ± 0.01 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในส่วนของเวลาน้อยสุดที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็น 2 เท่า (ตาราง 4.4) พบว่ากรณี 5606D มีเวลาน้อยสุดที่ใช้ในการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มเป็น 2 เท่า น้อยที่สุด และเวลาน้อยสุดที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็น 2 เท่า มีค่าอยู่ในช่วง 4 – 6 ชั่วโมง ทำการเปรียบเทียบทางสถิติอัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร อัตราการเพิ่มขึ้นสูงสุดของความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด และเวลาน้อยสุดที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็น 2 เท่า ของทั้ง 3 กรณี พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ภาพ 4.23ข – 4.25ข แสดงจลนพลศาสตร์การใช้น้ำตาลซูโครส กลูโคส และ ฟรุกโตส และการผลิตเอทานอลของกรณี 5606D 5606F และ 5020F จากภาพ 4.23ข แสดงจลนพลศาสตร์การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการผลิตเอทานอลของกรณี 5606D ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* TISTR 5606 เมื่อใช้แหล่งอาหารคาร์บอนเป็นสารสกัดลำไยอบแห้ง (5606D) แสดงให้เห็นว่า *S. cerevisiae* TISTR 5606 สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ดีในช่วง 0 – 15 ชั่วโมง จากความเข้มข้น 90.8 $\pm$ 2.9 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 0 ชั่วโมง เหลือความเข้มข้นเท่ากับ 13.2 $\pm$ 2.5 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 15 ชั่วโมง มีอัตราการลดลงของน้ำตาลซูโครสในช่วงชั่วโมงที่ 12 – 15 ประมาณ 9 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และเหลือความเข้มข้นเพียง 2.61 $\pm$ 0.08 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงที่ 36 ชั่วโมง เช่นเดียวกันกับการใช้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส ซึ่งมีความเข้มข้นในตอนเริ่มต้นเท่ากับ 24.2 $\pm$ 0.50 และ 34.4 $\pm$ 0.70 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เหลือความเข้มข้นที่ 15 ชั่วโมงเท่ากับ 4.74 $\pm$ 0.26 และ 8.56 $\pm$ 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสเหลือเท่ากับ 0.12 $\pm$ 0.01 และ 4.85 $\pm$ 0.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในส่วนของการผลิตเอทานอล สามารถสังเกตเห็นการผลิตเอทานอลได้อย่างชัดเจนในชั่วโมงที่ 6 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 15 จากความเข้มข้นเท่ากับ 10.3 $\pm$ 0.50 กรัมต่อลิตร เพิ่มขึ้นเป็น 47.5 $\pm$ 1.8 กรัมต่อลิตร มีอัตราการผลิตเอทานอลเฉลี่ยในช่วงชั่วโมงที่ 6 - 15 เท่ากับ 4.06 $\pm$ 0.98 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง พิจารณาภาพ 4.24ข ซึ่งแสดงจลนพลศาสตร์การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆและการผลิตเอทานอลสำหรับกรณี 5606F จากการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* TISTR 5606 เมื่อใช้แหล่งอาหารคาร์บอนเป็นสารสกัดลำไยสด (5606F) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการใช้น้ำตาลซูโครสได้ดี จากความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสเท่ากับ 94.2 $\pm$ 0.79 กรัมต่อลิตร ที่ 0 ชั่วโมง ลดลงเหลือความเข้มข้น 9.56 $\pm$ 0.95 กรัมต่อลิตร ที่ 21 ชั่วโมง มีอัตราการลดลงน้ำตาลซูโครสในชั่วโมงที่ 15 – 18 ประมาณ 11 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สำหรับน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสถูกใช้จากความเข้มข้นเริ่มต้น 23.3 $\pm$ 0.2 และ 21.6 $\pm$ 0.2 กรัมต่อลิตร ลดลงเหลือความเข้มข้นเท่ากับ 1.15 $\pm$ 0.20 และ 4.12 $\pm$ 0.46 กรัมต่อลิตร ที่ 21 ชั่วโมง ในส่วนของการผลิตเอทานอล กรณี 5606F สามารถผลิตเอทานอลจากความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 4.99 $\pm$ 0.040 กรัมต่อลิตร เพิ่มเป็น 61.6 $\pm$ 2.2 กรัมต่อลิตร ที่ 21 ชั่วโมง และได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

36 ชั่วโมงเท่ากับ 66.6 ± 1.2 กรัมต่อลิตร ในส่วนของจลนพลศาสตร์การใช้น้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส และการผลิตเอทานอลสำหรับกรณี 5020F จากการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* TISITR 5020 เมื่อใช้แหล่งอาหารคาร์บอนเป็นสารสกัดลำไยสด (5020F) ในภาพ 4.25ข แสดงใช้เห็นถึงการใช้น้ำตาลการลดลงอย่างต่อเนื่องของน้ำตาลซูโครส จากความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 89.7 ± 2.3 กรัมต่อลิตร จนเหลือความเข้มข้นเท่ากับ 5.95 ± 0.10 กรัมต่อลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 21 ชั่วโมง และคงที่ไปจนครบเวลาการเพาะเลี้ยงที่ 36 ชั่วโมง ส่วนน้ำตาลกลูโคส และฟรุกโตส เปรียบเทียบการใช้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสของจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์จะเห็นว่า แล้วจะเห็นว่า *S. cerevisiae* TISTR 5020 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสได้ช้ากว่า *S. cerevisiae* TISTR 5606 โดยต้องเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นกลูโคสและฟรุกโตสก่อนแล้วจึงนำไปใช้ ความเข้มข้นของน้ำตาลมีการเพิ่มขึ้นจากเวลาเริ่มต้นจนถึงชั่วโมงที่ 9 สำหรับน้ำตาลกลูโคสและชั่วโมงที่ 12 สำหรับน้ำตาลฟรุก-โตส จากความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 20.4 ± 0.8 และ 29.1 ± 1.3 กรัมต่อลิตร เป็น 29.6 ± 0.5 และ 52.0 ± 1.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ Takashige and Ouchi (1995) อธิบายการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลสองชนิดนี้ว่าเกิดจากผลของเอนไซม์อินเวอร์เตส ที่ทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส และสอดคล้องกับผลการวิจัยของนักวิจัยหลายกลุ่ม (ตติยาและคณะ, 2552; รติกรและคณะ, 2552; นิสากรและคณะ, 2552) และเมื่อครบชั่วโมงการเพาะเลี้ยงที่ 36 ชั่วโมง น้ำตาลกลูโคส และ ฟรุกโตสถูกใช้จนเหลือความเข้มข้นเท่ากับ 0.27 ± 0.01 และ 0.24 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในแง่ของการผลิตเอทา-นอล ในช่วงเวลา 0 – 6 ชั่วโมง มีการผลิตเอทานอลไม่มากนัก จากนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงเวลา 9 - 21 ชั่วโมง จากความเข้มข้นเท่ากับ 9.85 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 9 ชั่วโมง เป็น 52.8 ± 1.7 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 21 ชั่วโมง และเมื่อเวลาผ่านไปครบ 36 ชั่วโมง ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 57.1 ± 2.1 กรัมต่อลิตร

เมื่อนำข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลองมาเปรียบเทียบกันทางสถิติ (ตาราง 4.5) พบว่าการลดลงของน้ำตาลซูโครสมีมากและมีค่าใกล้เคียงกันทั้งในกรณี 5606D, 5606F, และ 5020F โดยมีค่าเท่ากับ 88.3 ± 2.9, 88.6 ± 0.8 และ 84.1 ± 2.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และทั้ง 3 กรณีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับการลดลงของน้ำตาลกลูโคส พบว่ากรณี 5606D และ 5606F ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าการลดลงของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 24.1 ± 0.54 และ 23.3 ± 0.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะเดียวกันทั้ง 2 กรณีนี้มีค่ามากกว่ากรณี 5020F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยกรณี 5020F มีค่าการลดลงของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 20.1 ± 0.84 กรัมต่อลิตร สำหรับการลดลงของน้ำตาลฟรุกโตสพบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรณี 5606D และ 5020F มีค่าการลดลงของน้ำตาลฟรุกโตสเท่ากับ 29.6 ± 0.72 และ 28.9 ± 1.3 กรัมต่อลิตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5606F ซึ่งมีค่าการลดลงของน้ำตาลฟรุกโตสเท่ากับ 18.2 ± 0.20 กรัมต่อลิตร ในส่วนของการผลิตเอทานอลพบว่ากรณี 5606F สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุดเท่ากับ 61.6 ± 1.2 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือกรณี 5020F และ 5606D ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 51.2 ± 2.1 และ 42.2 ± 1.5 กรัมต่อลิตร ทำการเปรียบเทียบสัดส่วนการผลิตเอทานอลของทั้ง 3 กรณี พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยกรณี 5606F มีสัดส่วนการผลิตเอทานอลมากที่สุดเท่ากับ 0.47 ± 0.01 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป รองลงมาคือ 5020F (0.38 ± 0.02) และ 5606D (0.30 ± 0.01)

จากตาราง 4.6 อัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส และการผลิตเอทานอลเฉลี่ยของทั้ง 3 กรณี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยอัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตสมีค่าอยู่ในช่วง 2.95 – 2.80, 0.80 – 0.67 และ 1.00 – 0.60 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เปรียบเทียบอัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลซูโครสจำเพาะพบว่ากรณี 5606D และ 5606F มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีอัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลซูโครสจำเพาะเท่ากับ 1.55 ± 0.53 และ 1.51 ± 0.37 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ เปรียบเทียบอัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสจำเพาะ พบว่ามีแนวโน้มในลักษณะเดียวกัน โดยกรณี 5606D มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5020F แต่ทั้ง 2 กรณีนี้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) จากกรณี 5606F โดยอัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลกลูโคสจำเพาะสำหรับกรณี 5606D, 5606F และ 5020F มีเท่ากับ 0.53 ± 0.2, 0.54 ± 0.3 และ 0.10 ± 0.2 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ ขณะที่อัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลฟรุกโตสจำเพาะมีค่าเท่ากับ 0.52 ± 0.2, 0.16 ± 0.2 และ 0.26 ± 0.3 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง เป็นที่น่าสังเกตว่าอัตราการลดลงเฉลี่ยของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสจำเพาะจากกรณี 5020F มีค่าไม่ติดลบ ซึ่งเกิดจากอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลสองชนิดนี้มีค่ามากกว่าอัตราการลดลงในช่วง 9 ชั่วโมงแรก สำหรับอัตราเฉลี่ยการผลิตเอทานอลจำเพาะ (ตาราง 4.6) พบว่ากรณี 5606F มีอัตราเฉลี่ยการผลิตเอทานอลจำเพาะมากที่สุดเท่ากับ 0.96 ± 0.3 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากกรณี 5606D ซึ่งมีค่าอัตราเฉลี่ยการผลิตเอทานอลจำเพาะเท่ากับ 0.50 ± 0.2 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง สำหรับอัตราเฉลี่ยการผลิตเอทานอลจำเพาะของกรณี 5020F มีค่าเท่ากับ 0.27 ± 0.08 และแตกต่างจากกรณี 5606D และ 5606F อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

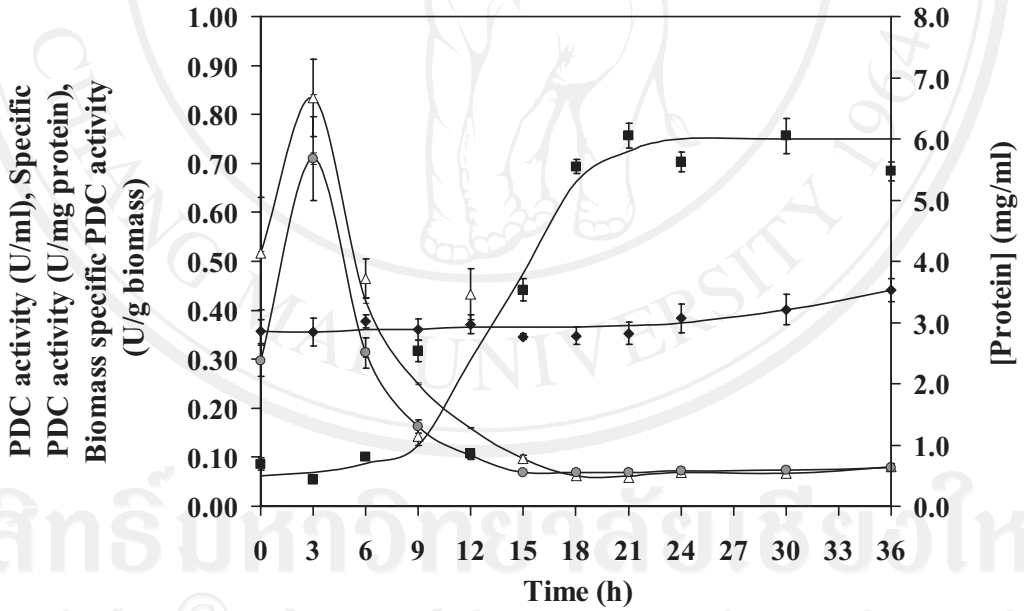
ทำการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในระดับสูงสุด (ตาราง 4.7) พบว่า อัตราการลดลงสูงสุดของน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส และอัตราการผลิตเอทานอลสูงสุดของกรณี 5606D, 5506F, และ 5020F ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 5.53 - 6.03, 1.72 - 2.22, 1.55 - 3.71 และ 3.20 - 4.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในส่วนอัตราจำเพาะการลดลงสูงสุดของน้ำตาลกลูโคสพบว่า กรณี 5020F มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 0.31 ± 0.03 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5606D และ 5606F ซึ่งมีอัตราจำเพาะการลดลงสูงสุดของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 1.27 ± 0.23 และ 1.44 ± 0.47 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับอัตราจำเพาะสูงสุดของการผลิตเอทานอลพบว่ากรณี 5606F ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากกรณี 5606D โดยมีอัตราจำเพาะสูงสุดของการผลิตเอทานอลเท่ากับ 1.16 ± 0.27 และ 1.76 ± 0.29 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่ทั้ง 2 กรณีนี้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากกรณี 5020F ซึ่งมีอัตราจำเพาะสูงสุดของการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.53 ± 0.09 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง

จลนพลศาสตร์การผลิตโปรตีน (protein production) กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC (PDC activity) กิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ (protein specific PDC activity) และกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง (dried biomass specific PDC activity) แสดงไว้ดังภาพ 4.26ก หลังจากเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง สังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ และกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC โดยความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้เพิ่มขึ้นจาก 0.69 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 5.47 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC เพิ่มขึ้นจาก 0.36 ± 0.03 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร เป็น 0.44 ± 0.02 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร นำไปเปรียบเทียบกับการลดลงของกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ โดยลดลงจาก 0.52 ± 0.11 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิกรัมโปรตีน เหลือค่าเท่ากับ 0.08 ± 0.01 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิกรัมโปรตีน ขณะเดียวกันก็สังเกตเห็นการลดลงของกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง โดยมีค่าลดลงจาก 0.30 ± 0.03 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อกรัมมวลชีวภาพแห้ง เหลือค่าเท่ากับ 0.08 ± 0.01 หน่วยคาร์โบไล-เกสต่อกรัมมวลชีวภาพแห้ง

จลนพลศาสตร์การผลิตโปรตีน กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC กิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ และกิจกรรมการทำงานจำเพาะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

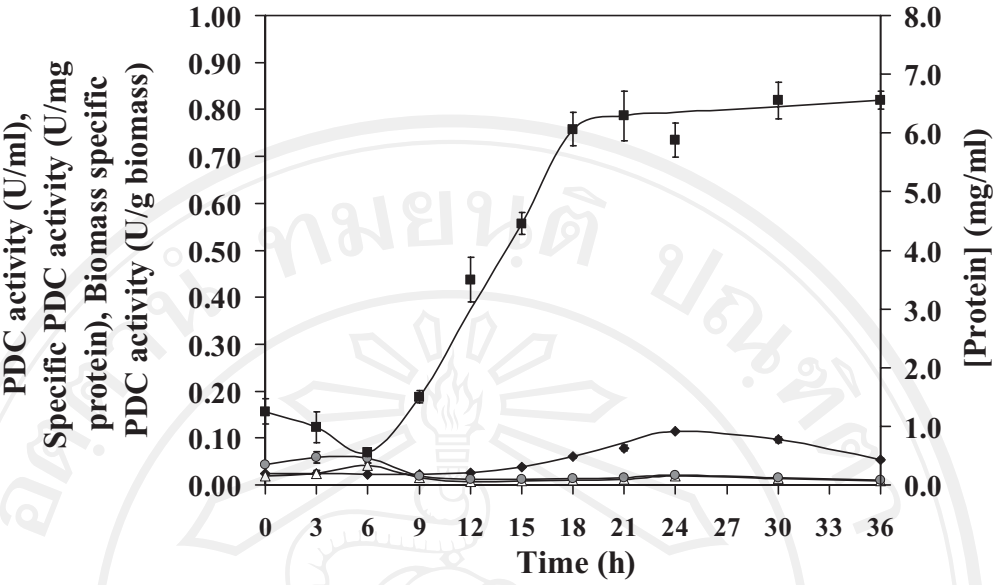
ของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง สำหรับกรณี 5606F แสดงไว้ดังภาพ 4.26 ข สามารถสังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ จากความเข้มข้นที่เวลาเริ่มต้นเท่ากับ 1.25 ± 0.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 6.56 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 36 ชั่วโมง สำหรับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC มีค่าเพิ่มขึ้นจากเวลาเริ่มต้นเท่ากับ 0.02 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร จนได้ค่าสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับ 0.11 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร จากนั้นลดลงจนเท่ากับ 0.05 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร ที่ 36 ชั่วโมง นำมาเปรียบเทียบกับการลดลงของกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ โดยลดลงจาก 0.02 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิกรัมโปรตีน ที่เวลาเริ่มต้นเหลือค่าเท่ากับ 0.01 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิกรัมโปรตีน ที่เวลา 36 ชั่วโมง ส่วนการลดลงของกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง พบว่าลดลงจาก 0.04 ± 0.00 หน่วย



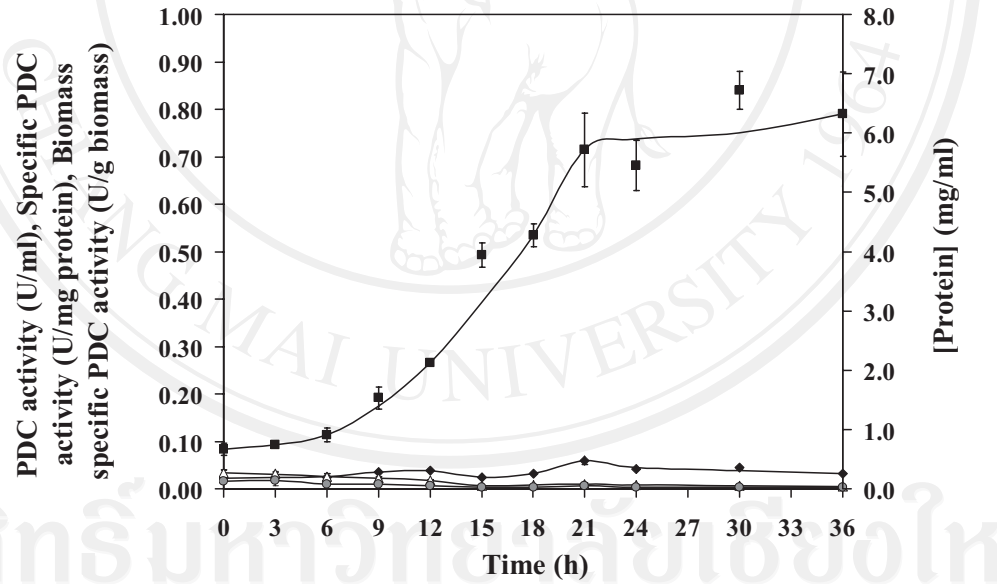
(ก)

ภาพ 4.26 จลนพลศาสตร์การผลิตโปรตีน (■) กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC (◆) กิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ (●) และกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง (△) **(ก)** 5606D

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(ข)



(ค)

ภาพ 4.26 (ต่อ) จลนพลศาสตร์การผลิตโปรตีน (■) กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC (◆) กิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ (●) และกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง (△) **(ข)** 5606F **(ค)** 5020F

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คาร์โบไลเกสต่อกรัมมวลชีวภาพแห้ง ที่เวลา 0 ชั่วโมง เหลือค่าเท่ากับ 0.01 ± 0.00 หน่วยคาร์โบ-ไลเกสต่อกรัมมวลชีวภาพแห้ง ที่เวลา 36 ชั่วโมง

จลนพลศาสตร์การผลิตโปรตีน กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC กิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้ และกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้ง สำหรับกรณี 5020F แสดงไว้ดังภาพ 4.26 ค จากภาพสามารถสังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้จาก 0.66 ± 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลาเริ่มต้น เป็น 6.32 ± 0.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 36 ชั่วโมง สำหรับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC มีการเพิ่มขึ้นจาก 0.02 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 0 ชั่วโมง จนได้ค่ากิจกรรมการทำงานสูงสุดเท่ากับ 0.06 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร ที่ 21 ชั่วโมง และเหลือค่ากิจกรรมการทำงานเท่ากับ 0.03 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 36 ชั่วโมง นำมาเปรียบเทียบกับกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้และความเข้มข้นมวลชีวภาพ โดยที่ 0 ชั่วโมง กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายได้มีค่าเท่ากับ 0.03 ± 0.01 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิกรัมโปรตีน ลดลงเหลือ 0.01 ± 0.00 หน่วยคาร์โบไลเกสต่อมิลลิกรัมโปรตีน ที่ 36 ชั่วโมง สำหรับกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพ ลดลงจาก 0.02 ± 0.00 หน่วยคาร์-โบไลเกสต่อกรัมมวลชีวภาพ ที่ 0 ชั่วโมง และไม่พบกิจกรรมการทำงานจำเพาะของเอนไซม์ PDC เทียบกับความเข้มข้นมวลชีวภาพ ที่ 36 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4 การศึกษาเปรียบเทียบระดับความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้จากกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นด้วยเซลล์รวมที่ผลิตได้ จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *S. cerevisiae* TISTR 5606 และ *S. cerevisiae* TISTR 5020 โดยใช้สารสกัดลำไยอบแห้งและลำไยสดเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน

ทำการทดลองกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นในระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ได้แก่

1. *S. cerevisiae* TISTR 5606 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยอบแห้ง (5606D)
2. *S. cerevisiae* TISTR 5606 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยสด (5606F)
3. *S. cerevisiae* TISTR 5020 เพาะเลี้ยงด้วยสารสกัดลำไยสด (5020F)

ด้วยความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ (12.24 และ 24.48 กรัมต่อลิตร) โดยมีไพรูเวตความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.20 โมลาร์ (ชั้นบัฟเฟอร์) และเบนซาลดีไฮด์ความเข้มข้น 1.75 โมลาร์ ในออกทานอล เป็นสารตั้งต้น ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า ณ อัตราเร็ว 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง ดังอธิบายไว้ในบทที่ 3 ตอนที่ 3.4.4

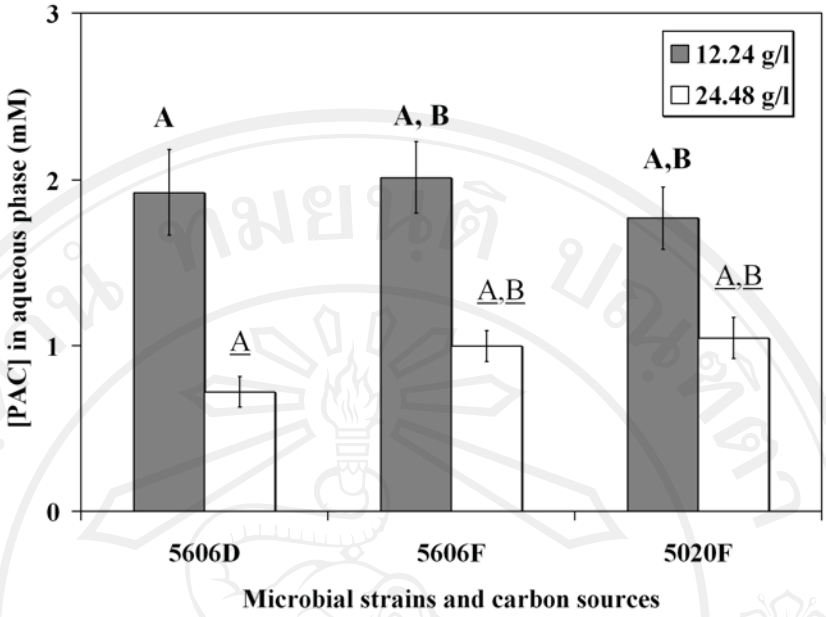
4.4.1 ความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้

ระดับความเข้มข้นของ PAC ในชั้นบัฟเฟอร์และการเปรียบเทียบทางสถิติแสดงไว้ดังภาพ 4.27 และตาราง 4.8 พบว่าการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร สามารถผลิต PAC มากกว่าการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 24.48 กรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ขณะที่ Agustina (2009) รายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นเซลล์ทำให้สามารถผลิต PAC ได้มากขึ้น การผลิต PAC ได้ในระดับที่ต่ำกว่าเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นเซลล์รวมนี้ อาจเกิดจากการผสมที่ไม่ดี ทำให้มีการตกตะกอนของเซลล์รวม กระบวนการ ไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นจึงเกิดได้ไม่ดี ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้จากเซลล์รวมต่างชนิดกัน ที่ความเข้มข้นเดียวกันพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้เมื่อใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 และ 24.48 กรัมต่อลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 1.77 – 2.01 และ 0.72 – 1.05 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้ในชั้นสารอินทรีย์พบว่ามีค่ามากกว่าในชั้นบัฟเฟอร์ เนื่องจากการ PAC สามารถละลายในออกทานอลได้ดีกว่าในชั้นบัฟเฟอร์ (Sandford, 2002) และการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร สามารถผลิต PAC มากกว่าการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 24.48 กรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ระหว่างชนิดเซลล์รวมที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 และ 24.48 กรัมต่อลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 52.1 – 63.7 และ 38.2 – 47.0 มิลลิโมลาร์ โดยความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 63.7 $\pm$ 1.3 มิลลิโมลาร์ จากการใช้เซลล์รวม 5606D ความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้ในชั้นสารอินทรีย์และการเปรียบเทียบทางสถิติแสดงไว้ดังภาพ 4.28 และตาราง 4.9 ความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ผลิตได้และการเปรียบเทียบทางสถิติแสดงไว้ดังภาพ 4.29 และตาราง 4.10 เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่แปรผันตามความเข้มข้นเซลล์รวมพบว่า การใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร สามารถผลิต PAC ได้ระดับความเข้มข้นมากกว่าการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 24.48 กรัมต่อลิตร และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สำหรับเซลล์รวมทุกชนิด โดยความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ผลิตได้จากการใช้เซลล์รวมของ 5606D, 5606F, และ 5020F ความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 31.5 $\pm$ 0.71, 28.2 $\pm$ 1.2, และ 25.8 $\pm$ 1.0 มิลลิโมลาร์ และความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC จากการใช้เซลล์รวมจาก 5606D มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ได้จากการใช้เซลล์รวม 5606F และ 5020F สำหรับการเปรียบเทียบความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ได้จากการใช้เซลล์รวมจาก 5606D, 5606F, และ 5020F ความเข้มข้น 24.48 กรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC จากการใช้เซลล์รวม 5606D (21.1 $\pm$ 0.69 มิลลิโมลาร์) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ได้จากการใช้เซลล์รวมจาก 5606F (17.1 $\pm$ 0.92 มิลลิโมลาร์) และ 5020F (17.0 $\pm$ 0.75 มิลลิโม-ลาร์) ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นเฉลี่ยสูงสุดของ PAC ซึ่งมีค่าเท่ากับ 31.5 $\pm$ 0.71 มิลลิโมลาร์ ได้จากการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร จาก 5606D แต่ยังมีค่าน้อยกว่าระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ผลิตได้ของ Agustina (2009) ที่ใช้เซลล์รวมจาก *S. cerevisiae* TISTR 5606 ความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถผลิต PAC ได้ความเข้มข้น 37.4 $\pm$ 2.8 มิลลิโมลาร์ เมื่อใช้สารผสมระหว่างออกทานอลและไดโพรพิลีนไกลคอล (dipropylene glycol) หรือ C8 + DPG เป็นชั้นสารอินทรีย์ และ 36.1 $\pm$ 2.8 มิลลิ-โมลาร์ เมื่อใช้ C8 เป็นชั้นสารอินทรีย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



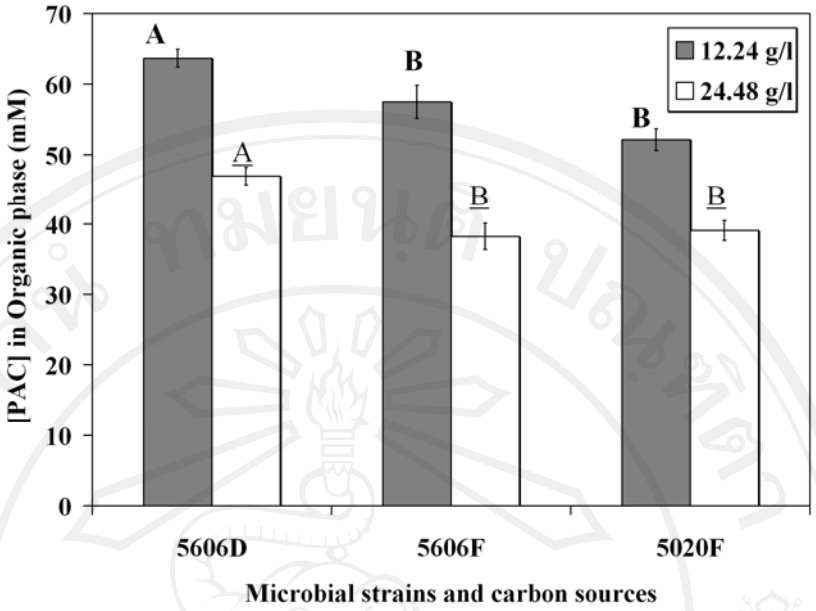
ภาพ 4.27 ความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้ในชั้นบัฟเฟอร์จากกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ

ตาราง 4.8 การเปรียบเทียบทางสถิติความเข้มข้นของ PAC ที่ผลิตได้ในชั้นบัฟเฟอร์จากกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ

Type of microbial strains and carbon sources	**[PAC] (mM) in buffer phase at whole cells concentration (g/l) of**					
	12.24			**24.48**		
5606D	1.92 ± 0.26	A	I	0.72 ± 0.09	A	II
5606F	2.01 ± 0.22	A, B	I	1.00 ± 0.09	A, B	II
5020F	1.77 ± 0.19	A, B	I	1.05 ± 0.12	A, B	II

The numbers with the same alphabet (A-B), for comparison between each row of the same column, or Roman numeral (I,II), for comparison between each column of the same row, indicated no significant difference ($p > 0.05$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



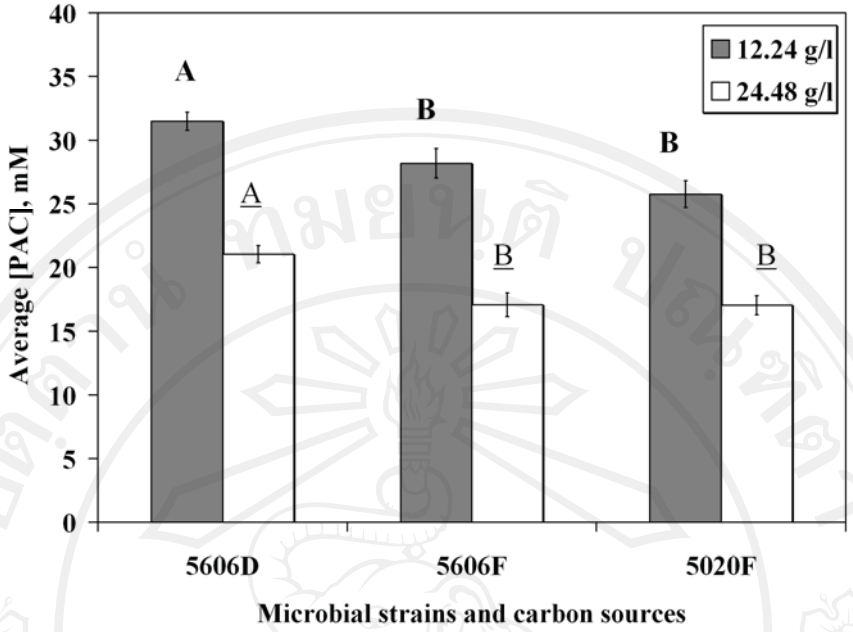
ภาพ 4.28 ความเข้มข้น PAC ที่ผลิตได้ในชั้นสารอินทรีย์จากกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ

ตาราง 4.9 การเปรียบเทียบทางสถิติความเข้มข้นของ PAC ที่ผลิตได้ในชั้นสารอินทรีย์จากกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ

Type of microbial strains and carbon sources	**[PAC] (mM) in organic phase at whole cells concentration (g/l) of**					
	12.24			**24.48**		
5606D	63.7 ± 1.2	A	I	47.0 ± 1.3	A	II
5606F	57.5 ± 2.3	B	I	38.2 ± 1.9	B	II
5020F	52.1 ± 1.6	B	I	39.1 ± 1.4	B	II

The numbers with the same alphabet (A-B), for comparison between each row of the same column, or Roman numeral (I,II), for comparison between each column of the same row, indicated no significant difference ($p > 0.05$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.29 ความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ผลิตได้จากกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ

ตาราง 4.10 การเปรียบเทียบทางสถิติความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC ที่ผลิตได้จากกระบวนการไบโอ-ทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ

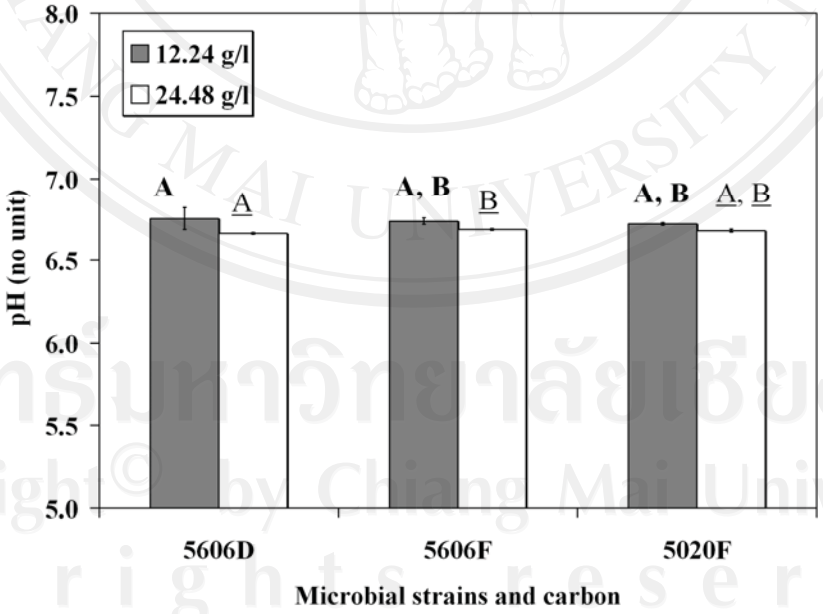
Type of microbial strains and carbon sources	**[PAC] (mM) in both phases at whole cells concentration (g/l) of**					
	12.24			**24.48**		
5606D	31.5 ± 0.71	A	I	21.0 ± 0.69	A	II
5606F	28.2 ± 1.2	B	I	17.1 ± 0.92	B	II
5020F	25.8 ± 1.0	B	I	17.0 ± 0.75	B	II

The numbers with the same alphabet (A-B), for comparison between each row of the same column, or Roman numeral (I,II), for comparison between each column of the same row, indicated no significant difference ($p > 0.05$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4.2 ระดับความเป็นกรดด่าง

จากภาพ 4.30 และ ตาราง 4.11 จะเห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับความเป็นกรดด่างในชั้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์จากเดิมที่ระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.0 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการใช้โปรตอนในกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่น ทำให้ระดับความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้น พิจารณาเปรียบเทียบระดับความเป็นกรดด่างในชั้นฟอสเฟต จากการใช้ความเข้มข้นเซลล์รวม 12.24 และ 24.48 กรัมต่อลิตร จาก 5606D, 5606F, และ 5020F พบว่าระดับความเป็นกรดด่างที่ได้จากการใช้เซลล์รวม ความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร สำหรับ 5606F มีค่าเท่ากับ 6.74 ± 0.020 และ 5020F มีค่าเท่ากับ 6.68 ± 0.010 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากระดับความเป็นกรดด่างที่ได้จากการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 24.48 กรัมต่อลิตร สำหรับ 5606F (6.72 ± 0.010) และ 5020F (6.68 ± 0.010) เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับความเป็นกรดด่าง จากการใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 24.48 กรัมต่อลิตร พบว่าระดับความเป็นกรดด่างที่ได้จากการใช้เซลล์รวมจาก 5606D (6.66 ± 0.000) และ 5606F (6.68 ± 0.010) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.050$) ทั้งนี้พบระดับความเป็นกรดด่างสูงสุด (6.75 ± 0.070) สำหรับเซลล์รวมจาก 5606D ความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของ PAC สูงสุดด้วย (31.5 ± 0.71 มิลลิโมลาร์, ตาราง 4.10)



ภาพ 4.30 ระดับความเป็นกรดด่างในชั้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ภายหลังกระบวนการไบโอทรานส์-ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.11 การเปรียบเทียบระดับความเป็นกรดด่างในชั้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ภายหลังกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Type of microbial strains and carbon sources	**pH level in the aqueous phase at whole cells concentration (g/l) of**					
	12.24			**24.48**		
5606D	6.75 ± 0.070	A	I	6.66 ± 0.000	A	I
5606F	6.74 ± 0.010	A, B	I	6.68 ± 0.010	B	II
5020F	6.72 ± 0.010	A, B	I	6.68 ± 0.010	A, B	II

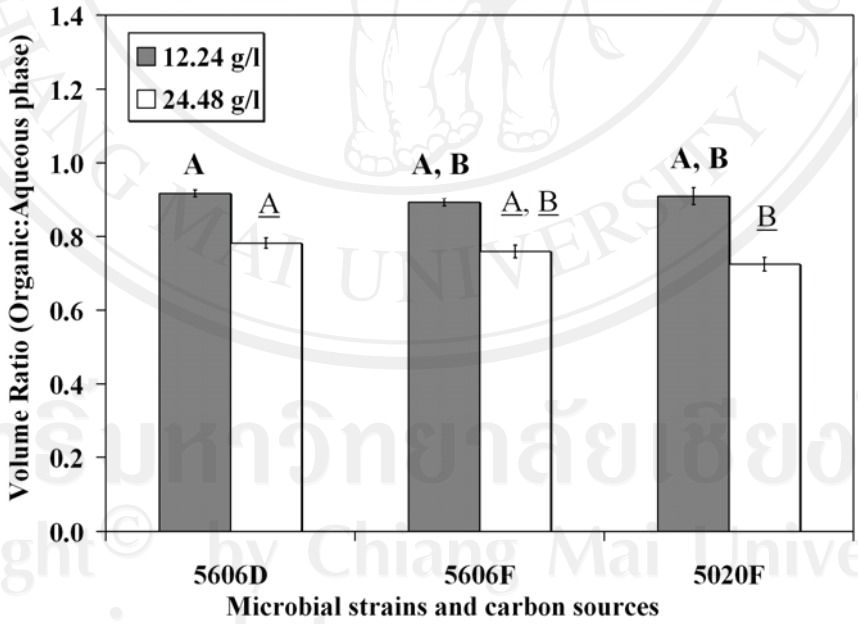
The numbers with the same alphabet (A-B), for comparison between each row of the same column, or Roman numeral (I,II), for comparison between each column of the same row, indicated no significant difference ($p > 0.05$)

4.4.3 สัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์ต่อชั้นบัฟเฟอร์

ทำการทดลองกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยแบ่งเป็นชั้นสารอินทรีย์ 5 มิลลิลิตร และชั้นบัฟเฟอร์อีก 5 มิลลิลิตร ทำให้สัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์และชั้นบัฟเฟอร์เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 1 แต่หลังจากสิ้นสุดการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่าปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์และชั้นบัฟเฟอร์มีการเปลี่ยนแปลงมีสาเหตุมาจากการที่สารตั้งต้นเบนซาลดีไฮด์ในชั้นสารอินทรีย์บางส่วน ถูกใช้ไป และ/หรือ มวลชีวภาพที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดการดูดซับสารอินทรีย์เหล่านี้ และ/หรือ การที่มวลชีวภาพมีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิฟาย-เออร์ ทำให้ปริมาตรของสารอินทรีย์บางส่วนสามารถละลายเข้าไปในชั้นบัฟเฟอร์ได้ ซึ่งทำให้ค่าสัดส่วนโดยปริมาตรของเหลวสองชั้นมีค่าไม่เท่ากับ 1 (ตติยาและคณะ, 2552; นิสากรและคณะ, 2552; รติกรและคณะ, 2552) จากภาพ 4.31 และ ตาราง 4.12 พบว่าค่าสัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์และชั้นบัฟเฟอร์ที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นเซลล์รวม เท่ากับ 12.24 กรัมต่อลิตร จาก 5606D, 5606F, และ 5020F มีค่าเข้าใกล้ 1 โดยมีค่าเท่ากับ 0.92 ± 0.01, 0.89 ± 0.01 และ 0.91 ± 0.02 ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากค่าสัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์และชั้นบัฟเฟอร์ที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นเซลล์รวมเท่ากับ 24.48 กรัมต่อลิตร จาก 5606D, 5606F, และ 5020F ซึ่งมีสัดส่วนโดยปริมาตรมีค่าลดลง โดยมีค่าเท่ากับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

0.78 ± 0.01, 0.76 ± 0.02 และ 0.72 ± 0.02 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับสมมุติฐานขั้นต้น รติกรและคณะ (2552) รายงานถึงระบบที่ใช้ C8 + DPG มีค่าสัดส่วนโดยปริมาตรของเหลวต่ำที่สุด ในกรณีที่ใช้ความเข้มข้นเซลล์รวมที่ระดับ 6.12 กรัมต่อลิตร (0.56 ± 0.1) และกรณีที่ใช้ชั้นสารอินทรีย์เป็น C8 พบว่าระดับความเข้มข้นเซลล์รวมที่ระดับ 6.12 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้สัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์ต่อชั้นบัฟเฟอร์มีค่าน้อยกว่า (0.58 ± 0.03) กรณีที่ใช้ความเข้มข้นเซลล์รวมที่ระดับ 3.06 กรัมต่อลิตร (0.84 ± 0.04) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทางตรงกันข้าม นิสากรและคณะ (2552) รายงานถึงกรณีที่ใช้สารอินทรีย์เป็น C8 + DPG ระดับความเข้มข้นเซลล์รวมที่ระดับ 6.12 กรัมต่อลิตร (0.48 ± 0.1) ส่งผลให้สัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์ต่อชั้นบัฟเฟอร์ มีค่ามากกว่ากรณีที่ใช้เซลล์รวมความเข้มข้น 3.06 กรัมต่อลิตร (0.31 ± 0.04) สำหรับค่าสัดส่วนโดยปริมาตรสูงสุดได้จากการใช้เซลล์รวมจาก 5606D ความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร (0.91 ± 0.01) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากค่าสัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์ต่อชั้นบัฟเฟอร์ที่ได้การใช้เซลล์รวมจาก 5606F และ 5020F ณ ความเข้มข้นเซลล์รวมเดียวกัน (0.89 ± 0.01 และ 0.91 ± 0.02)



ภาพ 4.31 สัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์ต่อชั้นบัฟเฟอร์ในกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.12 สัดส่วนโดยปริมาตรของชั้นสารอินทรีย์ต่อชั้นบัฟเฟอร์ในกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์เมชั่นระบบของเหลวสองชั้นแบบแยกชั้นจากเซลล์รวม 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเซลล์รวม 2 ระดับ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Type of microbial strains and carbon sources	**Volume ratio at whole cells concentration (g/l) of**					
	12.24			**24.48**		
5606D	0.92 ± 0.01	A	I	0.78 ± 0.01	A	II
5606F	0.89 ± 0.01	A, B	I	0.76 ± 0.02	A, B	II
5020F	0.91 ± 0.02	A, B	I	0.72 ± 0.02	B	II

The numbers with the same alphabet (A-B), for comparison between each row of the same column, or Roman numeral (I,II), for comparison between each column of the same row, indicated no significant difference ($p > 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved