บทที่3
ผลการทดลอง

งานวิจัยผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องนี้ได้แบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนแรก การผลิตเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* แบบต่อเนื่องและแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักด้วยวิธีการปลอดเชื้อโดยใช้การตกตะกอนในถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร นำเซลล์ยีสต์เข้มข้นที่แยกได้ใช้ในการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องซึ่งเป็นขั้นตอนที่สองต่อไป

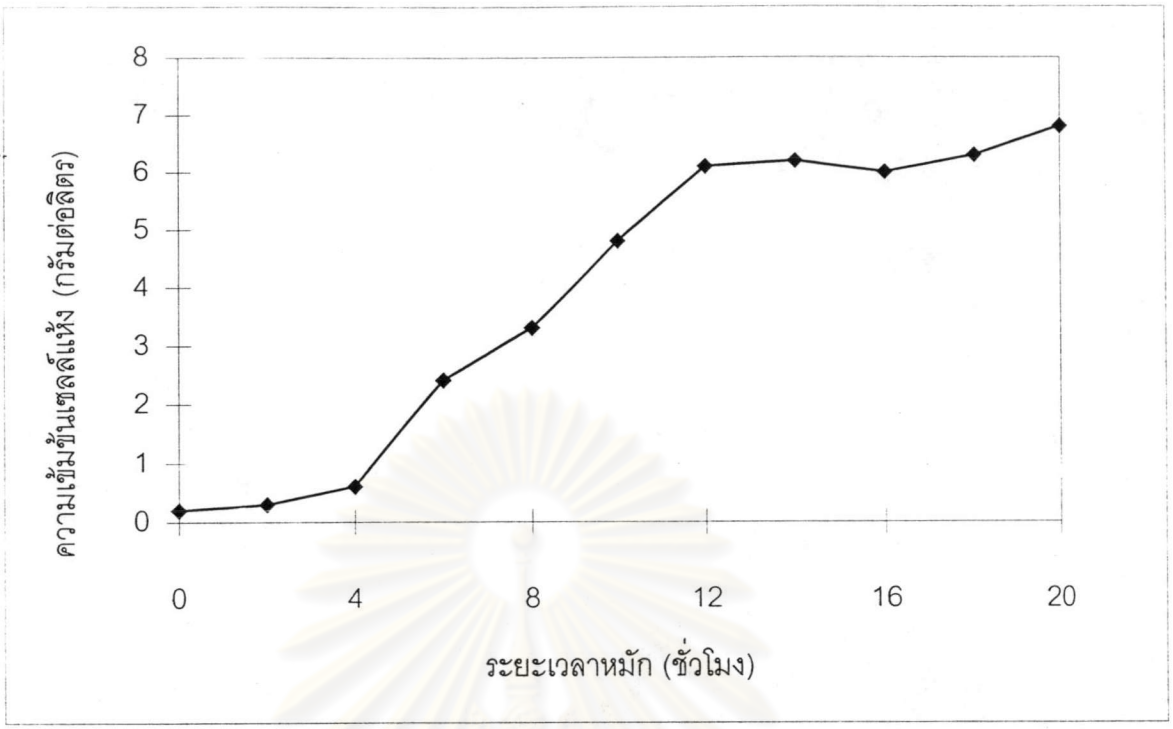
3.1 การเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อผลิตเซลล์

3.1.1 การเจริญของยีสต์ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.4.1 ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ศึกษาการเจริญโดยวิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 2.6.1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.1 พบว่ายีสต์มีการเจริญจนถึงชั่วโมงที่ 12 ของการเลี้ยงเชื้อ จากนั้นการเจริญคงที่จนจบการทดลอง พบว่าระยะกึ่งกลางของปริมาณเซลล์ทั้งหมดที่ผลิตได้ (mid – population density) อยู่ที่ชั่วโมงที่ 8 ดังนั้นจึงใช้หัวเชื้อที่มีอายุ 8 ชั่วโมง สำหรับเป็นหัวเชื้อในการหมักต่อไป

ตารางที่ 3.1 การเจริญของเชื้อ *S.cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ระดับขวดเขย่า

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)
0	0.20	-
2	0.30	0.20
4	0.60	0.33
6	2.40	0.60
8	3.30	0.16
10	4.80	0.19
12	6.10	0.12
14	6.20	0.01
16	6.00	-0.02
18	6.30	0.02
20	6.80	0.04



รูปที่ 3.1 แสดงการเจริญของเชื้อ *S.cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ระดับขวดเขย่า

3.1.2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นต่ออัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักแบบขวดเขย่า

ในการทดลองใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและเมื่อต้องการค่าอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์สูงจึงจำเป็นที่จะทำให้แหล่งคาร์บอนไม่เป็นปัจจัยจำกัดในการเจริญ ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงน่าจะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ด้วย แต่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่มากเกินไปก็มีผลยับยั้งการเจริญด้วยเช่นกัน ดังนั้นการทดลองนี้ต้องการหาความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่ให้อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด โดยเลี้ยงเชื้อด้วยการหมักแบบขวดเขย่า (ข้อ 2.4.2) ในอาหารสูตร A ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 กรัมต่อลิตร เก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) เปรียบเทียบกัน ผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2.1 - 3.2.6 และรูปที่ 3.2.1 - 3.2.2 เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของยีสต์ในอาหารสูตรAที่แปรความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 10 - 60 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 3.2.1) จะเห็นว่าที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ไม่มีผลไปยับยั้งการเจริญของเซลล์ยีสต์ และมีปริมาณเซลล์ยีสต์สูงกว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 60 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงใช้อาหารสูตร A ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร สำหรับการทดลองต่อไป

ตารางที่ 3.2.1 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร ระดับขวดเขย่า

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)			เอทานอล (กรัมต่อลิตร)			ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		
0	0.75	0.43	0.59+/-0.23	-	10.09	9.46	9.78+/-0.45	0.62	0.60	0.61+/-0.01	-	-
3	2.31	1.75	2.03+/-0.40	0.37	4.26	3.15	3.71+/-0.78	2.41	2.24	2.33+/-0.12	0.24	0.28
6	3.01	2.81	2.91+/-0.14	0.12	1.89	1.20	1.55+/-0.49	2.46	2.33	2.40+/-0.09	0.28	0.22
9	2.47	2.99	2.73+/-0.37	-0.02	1.20	0.79	1.00+/-0.29	1.62	1.49	1.56+/-0.09	0.24	0.11
12	3.57	3.57	3.57+/-0.00	0.09	0.88	0.79	0.84+/-0.06	0.46	0.38	0.42+/-0.06	0.33	-0.02

ตารางที่ 3.2.2 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ระดับขวดเขย่า

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)			เอทานอล (กรัมต่อลิตร)			ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		
0	0.94	1.31	1.13+/-0.26	-	16.56	17.82	17.19+/-0.89	0.59	0.56	0.58+/-0.02	-	-
3	2.60	2.73	2.67+/-0.09	0.27	11.36	11.36	11.36+/-0.00	2.26	2.40	2.33+/-0.10	0.26	0.30
6	4.48	4.49	4.49+/-0.01	0.17	2.68	2.46	2.57+/-0.16	5.72	4.95	5.34+/-0.54	0.23	0.33
9	4.32	4.99	4.66+/-0.47	0.01	1.92	1.89	1.91+/-0.02	4.45	4.84	4.65+/-0.28	0.23	0.27
12	4.70	4.63	4.67+/-0.05	0.00	2.27	2.27	2.27+/-0.00	3.38	3.55	3.47+/-0.12	0.24	0.19

ตารางที่ 3.2.3 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 30 กรัมต่อลิตร ระดับขวดเขย่า

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)			เอทานอล (กรัมต่อลิตร)			ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		
0	1.30	0.98	1.14+/-0.23	-	28.39	28.39	28.39+/-0.00	0.55	0.54	0.55+/-0.01	-	-
3	2.48	2.56	2.52+/-0.06	0.25	20.82	22.40	21.61+/-1.12	2.09	2.37	2.23+/-0.20	0.20	0.25
6	5.56	5.48	5.52+/-0.06	0.25	4.38	4.42	4.40+/-0.03	7.59	7.84	7.72+/-0.18	0.18	0.30
9	5.64	5.24	5.44+/-0.28	0.00	3.72	3.15	3.44+/-0.4	7.90	7.36	7.63+/-0.38	0.17	0.28
12	5.50	5.52	5.51+/-0.01	0.00	3.47	2.41	2.94+/-0.75	6.52	6.76	6.64+/-0.17	0.17	0.24

ตารางที่ 3.2.4 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร ระดับขวดเขย่า

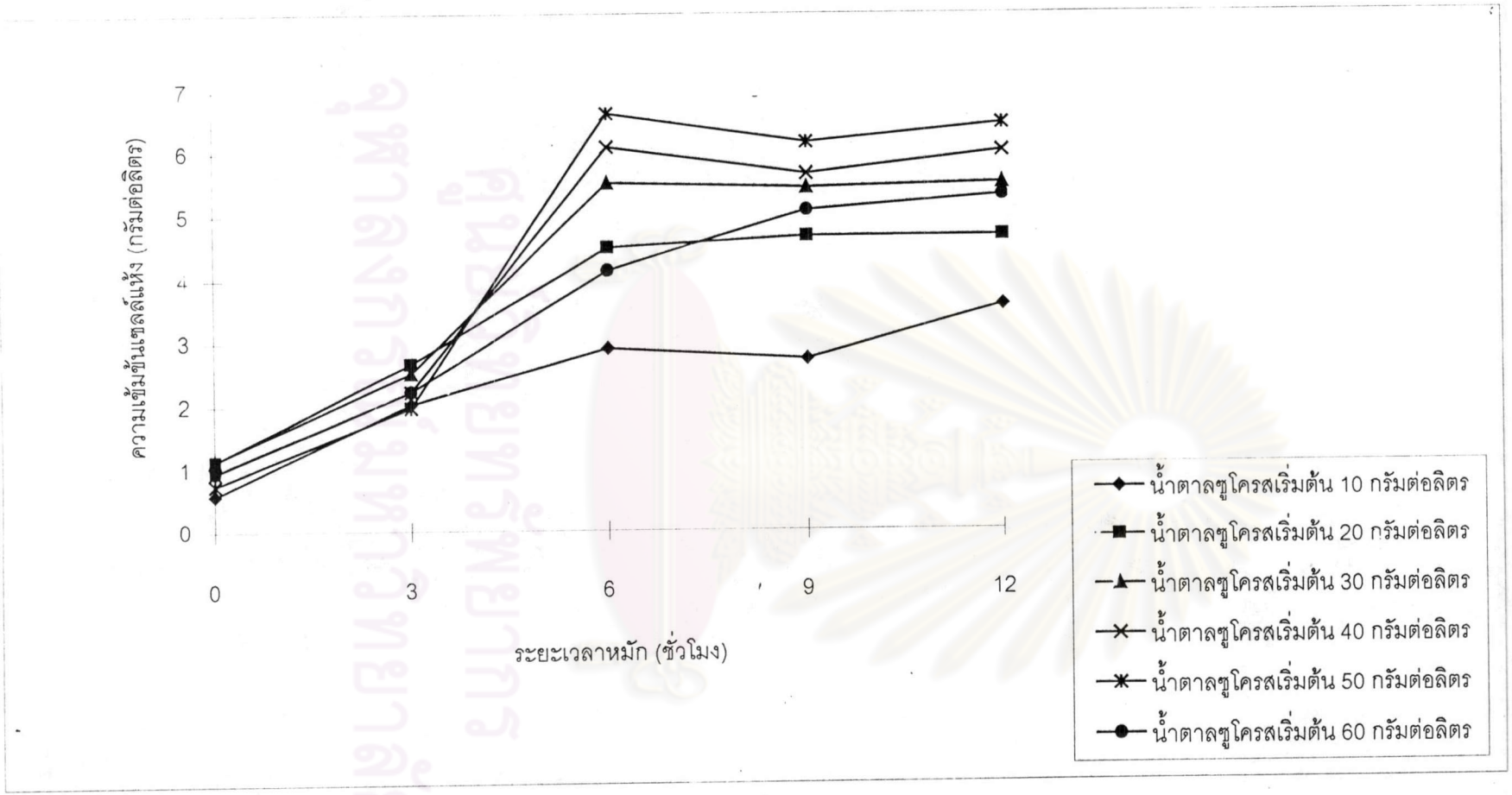
ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)			เอทานอล (กรัมต่อลิตร)			ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		
0	0.81	1.09	0.95+/-0.20	-	38.17	38.17	38.17+/-0.00	0.53	0.52	0.53+/-0.01	-	-
3	1.83	2.60	2.22+/-0.54	0.27	27.13	29.18	28.16+/-1.45	2.32	2.17	2.25+/-0.11	0.13	0.17
6	5.87	6.31	6.09+/-0.31	0.31	6.59	6.47	6.53+/-0.08	10.54	10.73	10.64+/-0.13	0.16	0.32
9	5.77	5.53	5.65+/-0.17	-0.02	4.79	4.42	4.61+/-0.26	10.22	10.02	10.12+/-0.14	0.14	0.29
12	5.67	6.37	6.02+/-0.49	0.02	5.36	5.52	5.44+/-0.11	9.35	9.56	9.46+/-0.15	0.15	0.27

ตารางที่ 3.2.5 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ระดับขวดเขย่า

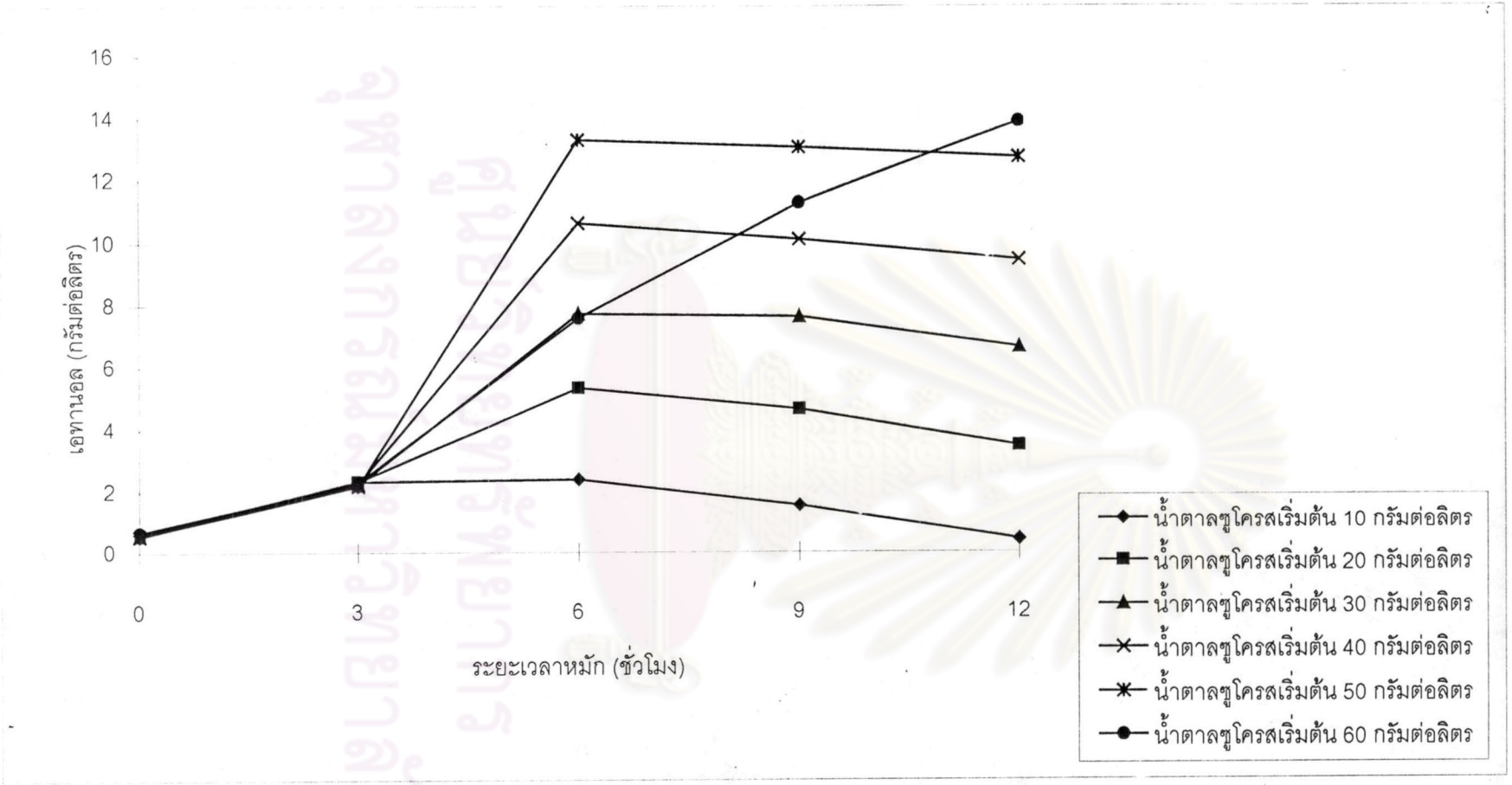
ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)			เอทานอล (กรัมต่อลิตร)			ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		
0	0.69	0.80	0.75+/-0.08	-	45.74	45.74	45.74+/-0.00	0.52	0.52	0.52+/-0.00	-	-
3	1.87	2.08	1.98+/-0.15	0.30	34.70	33.12	33.91+/-1.12	2.21	2.16	2.19+/-0.04	0.10	0.14
6	6.57	6.70	6.64+/-0.09	0.36	10.25	11.51	10.88+/-0.89	13.12	13.45	13.29+/-0.23	0.17	0.37
9	5.99	6.32	6.16+/-0.23	-0.03	5.52	6.62	6.07+/-0.78	13.35	12.76	13.06+/-0.42	0.14	0.32
12	6.39	6.54	6.47+/-0.11	0.02	7.22	6.62	6.92+/-0.42	12.65	12.83	12.74+/-0.13	0.15	0.31

ตารางที่ 3.2.6 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 60 กรัมต่อลิตร ระดับขวดเขย่า

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)			เอทานอล (กรัมต่อลิตร)			ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย		
0	1.16	0.76	0.96+/-0.28	-	54.55	54.72	54.64+/-0.12	0.67	0.60	0.64+/-0.05	-	-
3	2.28	2.16	2.22+/-0.08	0.26	47.96	49.89	48.93+/-1.36	2.38	2.22	2.30+/-0.11	0.22	0.29
6	4.36	3.92	4.14+/-0.31	0.20	26.23	28.97	27.60+/-1.94	7.60	7.53	7.57+/-0.05	0.12	0.26
9	5.12	5.04	5.08+/-0.06	0.07	15.29	17.70	16.50+/-1.70	10.34	12.23	11.29+/-1.34	0.11	0.28
12	5.64	5.00	5.32+/-0.45	0.02	6.60	6.44	6.52+/-0.11	13.48	14.31	13.90+/-0.59	0.09	0.28



รูปที่ 3.2.1 เปรียบเทียบการเจริญของ *S.cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่แปรความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 10 - 60 กรัมต่อลิตร ในระดับขวดเขย่า



รูปที่ 3.2.2 เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลของ *S cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่แปรความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 10 - 60 กรัมต่อลิตร ในระดับขวดเขย่า

3.1.3 การเจริญของยีสต์ระดับถังหมักขนาด 3 ลิตรแบบแบช

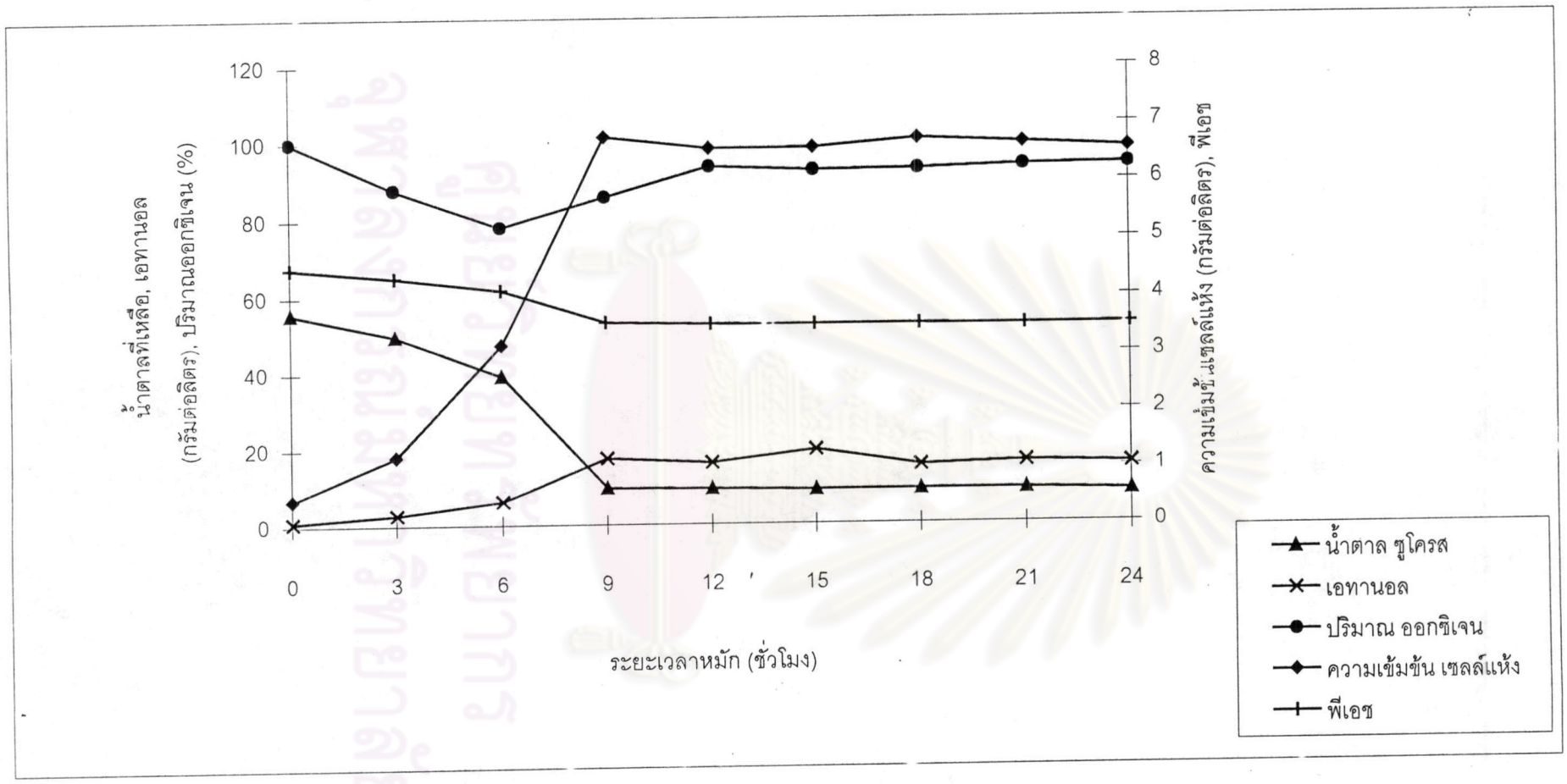
จากผลการทดลองที่ 3.1.2 ทำให้ทราบความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 50 กรัมต่อลิตร ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาการเจริญ, การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลของยีสต์ระดับถังหมักขนาด 3 ลิตร แบบแบช เพื่อต้องการทราบอัตราการเจริญของเชื้อ โดยถ่ายหัวเชื้อ (ข้อ 2.4.1) ที่มีอายุ 8 ชั่วโมง 10 % (ปริมาตร: ปริมาตร) ลงในถังหมักขนาด 3 ลิตร ที่บรรจุอาหารสูตร A ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ทำการหมักแบบแบช (ข้อ 2.4.3) เก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.3 และรูปที่ 3.3 พบว่าเชื้อยีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 9 ชั่วโมงแรก จากนั้นการเจริญคงที่จนจบการทดลอง จะเห็นได้ว่าที่ชั่วโมงที่ 3 และ 6 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากันคือ 0.30 ต่อชั่วโมง ดังนั้นเพื่อต้องการรักษาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดไว้ในการหมักแบบต่อเนื่องจึงเริ่มเติมอาหารกากน้ำตาลสำหรับผลิตเซลล์ที่ชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก สำหรับการทดลองต่อไป

3.1.4 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบการหมักแบบต่อเนื่องต่อการเจริญของยีสต์เมื่อใช้อัตราการเจือจาง 0.1 ต่อชั่วโมง และประสิทธิภาพของถังตกตะกอน

จากผลการทดลองที่ 3.1.2 ทำให้ทราบว่าภาวะเริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักแบบต่อเนื่องคือใช้อาหารสูตร A ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ และเติมอาหารสูตร B ที่ชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก ในการทดลองนี้จึงต้องการทราบระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมในอาหารสูตร B ที่ให้อัตราการเจริญของยีสต์ดีที่สุดพร้อมทั้งให้อัตราการแยกเซลล์ในถังตกตะกอนดีที่สุด เพื่อนำเซลล์ที่แยกได้ไปใช้ในขั้นตอนการหมักเอทานอลต่อไป โดยแปรความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารสูตร B เป็น 20, 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงทำการเลี้ยงเชื้อโดยถ่ายหัวเชื้อที่มีอายุ 8 ชั่วโมง 10 % (ปริมาตร:ปริมาตร)ลงในอาหารสูตร A ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 50 กรัมต่อลิตร บรรจุในถังหมักขนาด 3 ลิตร ทำการหมักแบบต่อเนื่อง (ข้อ 2.4.4) โดยชั่วโมงที่ 6 ของการหมักเริ่มเติมอาหารสูตร B ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ลงในระบบพร้อมทั้งปล่อยน้ำหมักไหลออกจากระบบเข้าสู่ถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร (ดังรูปที่ ฉ - 4) โดยควบคุมอัตราการไหลเข้าและออกของสาร(ต่อปริมาตรน้ำหมัก)ให้เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.1 ต่อชั่วโมง ส่งผลให้น้ำหมักมีเวลาอยู่ในถังตกตะกอนเท่ากับ 16.67 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่สภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แล้วทำการทดลองเช่นเดิม ได้ผลการ

ตารางที่ 3.3 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ระดับถังหมักขนาด 3 ลิตร แบบแบช

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	ปริมาณออกซิเจน (%)	พีเอช	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
0	0.46	-	55.68	0.89	-	100.00	4 50	-	-
3	1.21	0.30	49.68	2.92	0.81	88.00	4.34	0.13	0.34
6	3.16	0.30	39.27	6.38	0.53	78.20	4.12	0.16	0.33
9	6.76	0.24	9.89	17.53	0.75	86.00	3.55	0.14	0.36
12	6.55	-0.01	9.62	16.25	-0.06	93.60	3.51	0.13	0.33
15	6.56	0.00	9.18	19.56	0.17	92.60	3.50	0.13	0.40
18	6.72	0.01	9.15	15.39	-0.21	92.90	3.50	0.13	0.31
21	6.64	0.00	9.11	16.20	0.04	93.70	3.49	0.13	0.33
24	6.55	0.00	8.58	15.66	-0.03	94.10	3.50	0.13	0.31



รูปที่ 3.3 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ระดับถังหมักขนาด 3 ลิตร แบบแบช

ทดลองแสดงในตารางที่ 3.4.1 และรูปที่ 3.4.1 สำหรับค่าเฉลี่ยปริมาณเซลล์ที่ได้, การใช้น้ำตาล, ปริมาณเอทานอล, ผลผลิตเซลล์และเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ แสดงในตารางที่ 3.4.2 และรูปที่ 3.4.2 เมื่อเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารสูตร B เป็น 20, 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อลิตร ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอจะเห็นได้ว่าอาหารสูตร B ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่อปริมาตรน้อยที่สุดคือเท่ากับ 6.38 กรัมต่อลิตร ให้ค่าผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงที่สุดคือ 0.40 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่อปริมาตรเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 40 และ 60 กรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่อปริมาตรสูงที่สุดคือเท่ากับ 8.37 กรัมต่อลิตร ให้ค่าผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ต่ำที่สุดคือ 0.11 ดังนั้นอาหารสูตร B ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตรน่าจะเหมาะสมที่จะใช้เป็นสูตรอาหารสำหรับเติมเข้าสู่ระบบการผลิตเซลล์แบบต่อเนื่อง เมื่อพิจารณาร่วมกับผลการแยกเซลล์ด้วยถังตกตะกอนในตารางที่ 3.4.3 พบว่า อาหารสูตร B ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตรนั้นถังตกตะกอนมีอัตราการแยกเซลล์ได้น้อยที่สุดคือ 0.46 กรัมต่อชั่วโมง ในขณะที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร มีอัตราการแยกเซลล์ได้มากที่สุด คือ 0.69 กรัมต่อชั่วโมง ซึ่งในงานวิจัยนี้ต้องการนำเซลล์ที่แยกได้ไปใช้ในขั้นตอนการหมักเอทานอลต่อไป ดังนั้นจึงเลือกใช้อาหารสูตร B ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารสำหรับเติมเข้าสู่ระบบการผลิตเซลล์แบบต่อเนื่องในขั้นต่อไป

3.1.5 ผลของอัตราการเจือจางต่อการเจริญของยีสต์ในการหมักแบบต่อเนื่องและประสิทธิภาพของถังตกตะกอน เมื่อเติมอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร

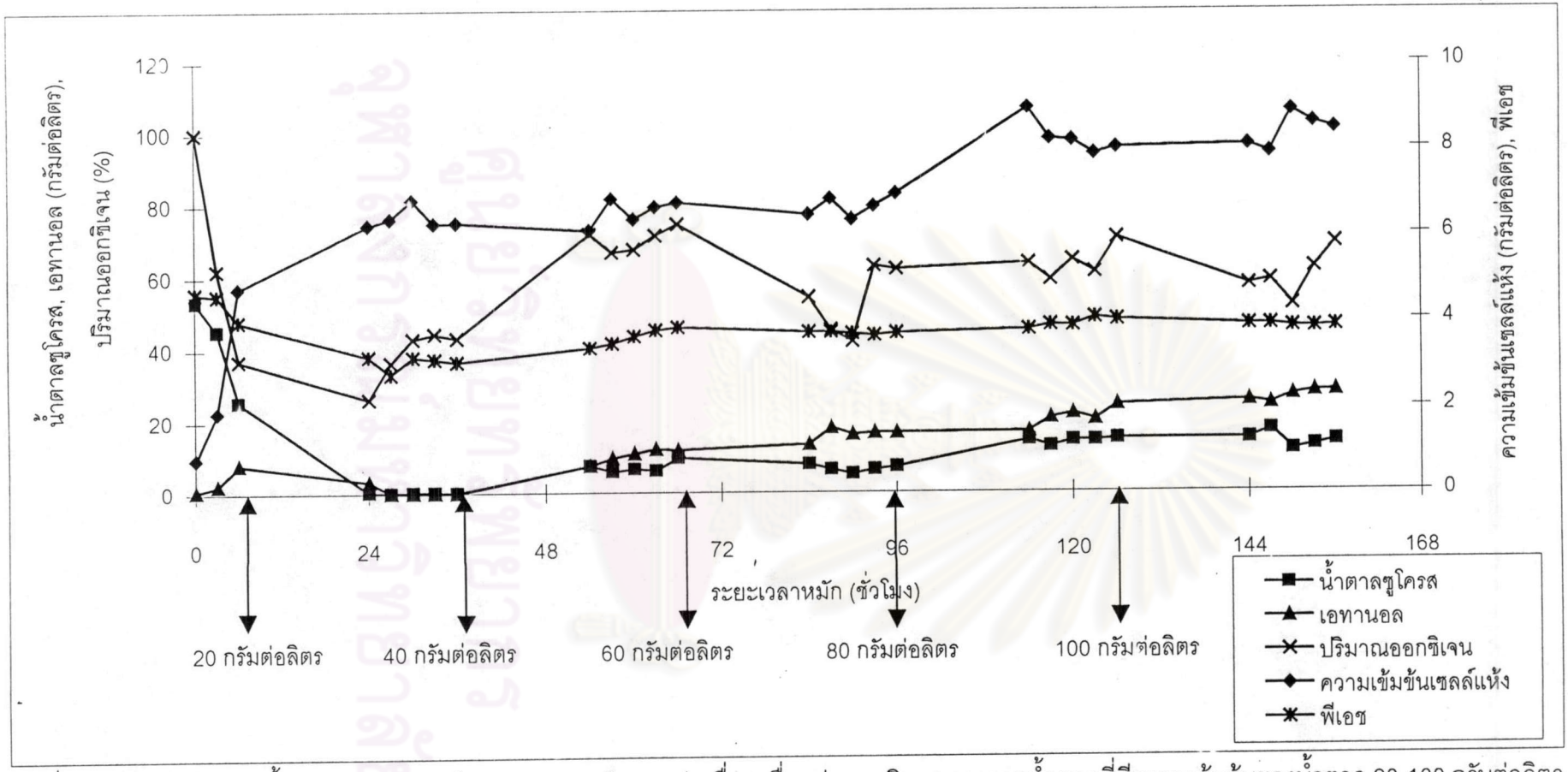
จากผลการทดลองที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าในการผลิตเซลล์แบบต่อเนื่องในภาวะที่เหมาะสมต้องใช้อาหารสูตร A มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 50 กรัมต่อลิตร และเริ่มเติมอาหารสูตร B ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมงที่ 6 ของการหมักด้วยอัตราการเจือจาง 0.1 ต่อชั่วโมง ให้ค่าอัตราการผลิตเซลล์เท่ากับ 1.00 กรัมต่อชั่วโมง แล้วนำไปแยกเซลล์ยีสต์ด้วยถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร ซึ่งมีอัตราการแยกเซลล์เท่ากับ 0.69 กรัมต่อชั่วโมง เพื่อต้องการทราบภาวะที่ให้อัตราการผลิตเซลล์สูงกว่าและมีอัตราการแยกเซลล์ของถังตกตะกอนดีที่สุด ในการทดลองนี้จึงแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 และ 0.40 ต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงทำการเลี้ยงเชื้อโดยถ่ายหัวเชื้อที่มีอายุ 8 ชั่วโมง 10 % (ปริมาตร:ปริมาตร) ลงในอาหารสูตร A ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 50 กรัมต่อลิตร บรรจุในถังหมักขนาด 3 ลิตร ทำการหมักแบบต่อเนื่อง (ข้อ 2.4.4) โดยชั่วโมงที่ 6 ของการหมักเริ่มเติมอาหารสูตร B ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร ลงในระบบพร้อมทั้งปล่อยน้ำหมักไหลออกจากระบบเข้าสู่ถังตกตะกอนขนาด 2

ตารางที่ 3.4.1 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องเมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 - 100 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซิเจน (%)	พีเอช
	0	0.81	53.43	0.66	100.00	4.64
	3	1.89	45.38	2.27	62.10	4.59
	6	4.75	25.75	8.16	37.20	4.00
20	24	6.22	0.32	3.44	26.50	3.19
	27	6.35	0.16	0.00	36.50	3.17
	30	6.79	0.32	0.00	43.10	3.17
	33	6.25	0.32	0.00	44.50	3.12
	36	6.27	0.16	0.00	43.30	3.05
40	54	6.09	7.72	7.61	72.10	3.37
	57	6.81	5.95	9.78	67.00	3.48
	60	6.34	6.76	11.00	67.80	3.64
	63	6.62	6.28	12.29	71.70	3.79
	66	6.72	9.82	11.96	74.80	3.85

ตารางที่ 3.4.1(ต่อ) การเจริญของเชื้อ S. cerevisiae ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องเมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20-100 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง

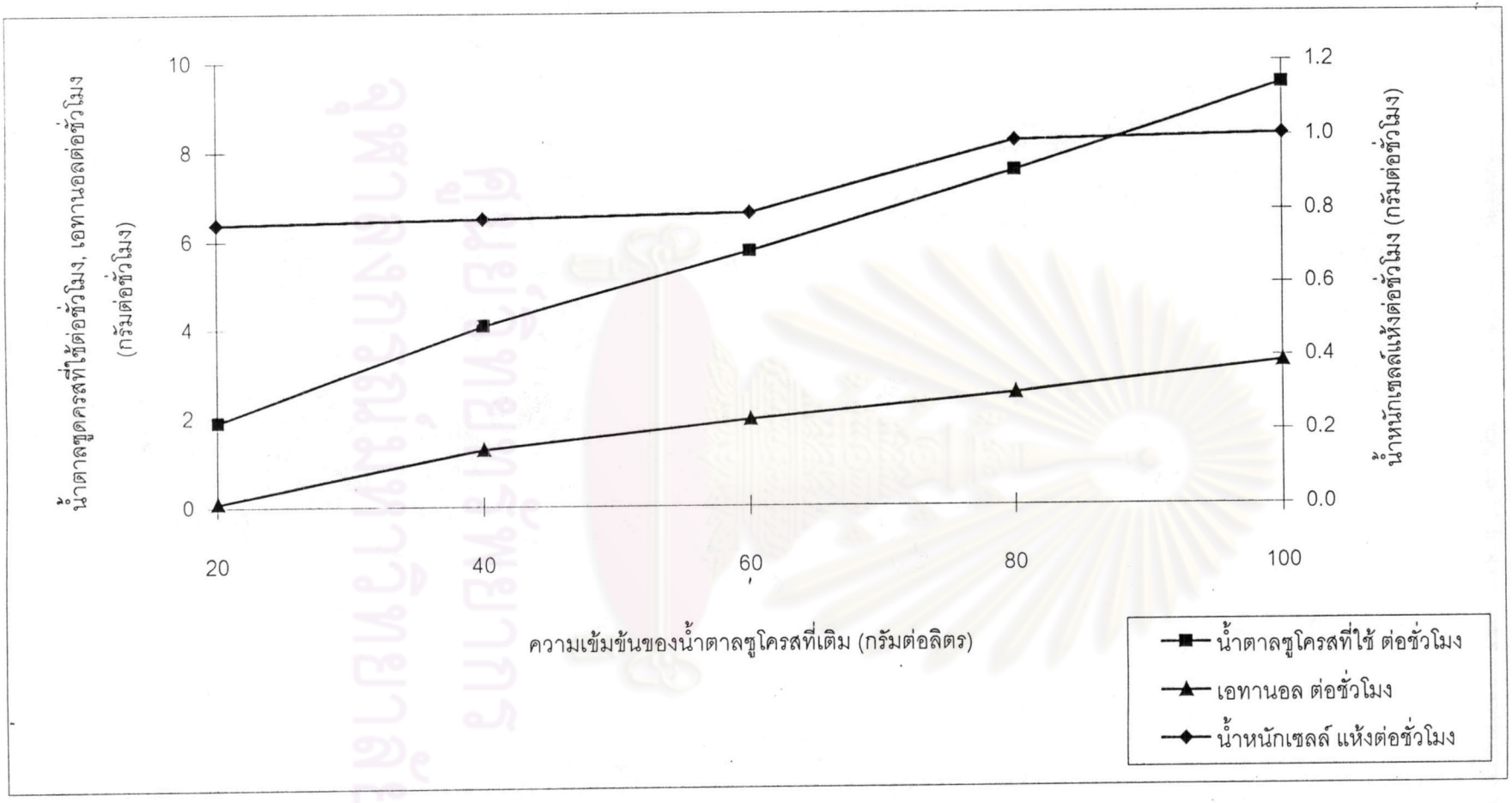
น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซิเจน (%)	พีเอช
60	84	6.44	8.05	13.48	54.30	3.74
	87	6.81	6.44	18.08	45.40	3.74
	90	6.33	5.15	16.22	42.20	3.70
	93	6.64	6.44	16.69	63.00	3.66
	96	6.93	7.24	16.66	62.20	3.71
80	114	8.93	14.64	17.09	63.90	3.78
	117	8.21	12.71	20.92	59.10	3.89
	120	8.17	14.48	22.15	64.70	3.87
	123	7.86	14.48	20.36	61.30	4.05
	126	8.00	14.81	24.51	70.90	4.00
100	144	8.07	14.81	25.61	57.70	3.89
	147	7.89	17.38	24.78	58.90	3.89
	150	8.86	11.59	27.09	52.00	3.84
	153	8.58	12.87	28.08	62.40	3.82
	156	8.44	14.16	28.26	69.30	3.85



รูปที่ 3.4.1 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่อง เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20-100 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง (↕ คือเวลาเริ่มเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลสำหรับเติมเข้าสู่ระบบ)

ตารางที่ 3.4.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอเมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 - 100 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครสที่ใช้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอลต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
20	6.38+/-0.24	0.77	0.25+/-0.09	1.90	0.69+/-1.54	0.08	0.40	0.04
40	6.52+/-0.30	0.78	7.30+/-1.55	4.07	10.53+/-1.90	1.26	0.19	0.31
60	6.63+/-0.25	0.80	3.66+/-1.07	5.77	16.23+/-1.69	1.95	0.14	0.34
80	8.23+/-0.41	0.99	14.22+/-0.86	7.56	21.01+/-2.71	2.52	0.13	0.33
100	8.37+/-0.39	1.00	14.16+/-2.18	9.50	26.76+/-1.53	3.21	0.11	0.34



รูปที่ 3.4.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 20 - 100 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง

ตารางที่ 3.4.3 เปรียบเทียบอัตราการแยกเซลล์ของถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 - 100 กรัมต่อลิตร

ถังหมัก		ถังตะกอน			
น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ส่วนไหลล้น		ส่วนตกตะกอน	
		ความเข้มข้นเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราเซลล์ไหลล้น (กรัมต่อชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราเซลล์ที่แยกได้ (กรัมต่อชั่วโมง)
20	0.77	2.62	0.31	138.63	0.46
40	0.78	2.33	0.30	131.40	0.48
60	0.80	2.42	0.29	142.71	0.51
80	0.99	2.77	0.33	144.84	0.66
100	1.00	2.56	0.31	150.24	0.69

ลิตร โดยควบคุมอัตราการไหลเข้าและออกของสาร(ต่อปริมาตรน้ำหมัก)ให้เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.1 ต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่สภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนอัตราการเจือจางเป็น 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 และ 0.40 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ แล้วทำการทดลองเช่นเดิม ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.5.1 และรูปที่ 3.5.1 สำหรับค่าเฉลี่ยปริมาณเซลล์ที่ได้, การใช้น้ำตาล, ปริมาณเอทานอล, ผลผลิตเซลล์และเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ในภาวะคงที่สม่ำเสมอแสดงในตารางที่ 3.5.2 และรูปที่ 3.5.2 เมื่อเปรียบเทียบผลของอัตราการเจือจาง 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 และ 0.40 ต่อชั่วโมง ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจาง ปริมาณเซลล์ในน้ำหมักลดลง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือเพิ่มขึ้น และการผลิตเอทานอลจะลดลงดังรูปที่ 3.5.2 ที่อัตราการเจือจาง 0.25 ต่อชั่วโมง ให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมงเท่ากับ 2.21 กรัมต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่ามากที่สุดรองลงมาคือที่อัตราการเจือจาง 0.30 ต่อ ชั่วโมง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมงเท่ากับ 2.19 กรัมต่อชั่วโมง ดังนั้นที่อัตราการเจือจาง 0.25 ต่อชั่วโมงน่าจะเป็นภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตเซลล์แบบต่อเนื่อง แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับผลการแยกเซลล์ด้วยถังตกตะกอนในตารางที่ 3.5.3 พบว่า ที่อัตราการเจือจาง 0.25 ต่อชั่วโมง ถังตกตะกอนมีอัตราแยกเซลล์ต่อชั่วโมงต่ำมาก ในขณะที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมงน้อยที่สุดคือเท่ากับ 1.20 กรัมต่อชั่วโมง แต่มีอัตราการแยกเซลล์ดีที่สุดคือเท่ากับ 0.87 กรัมต่อชั่วโมง ซึ่งในงานวิจัยนี้ต้องการนำเซลล์ที่แยกได้ไปใช้ในขั้นตอนการหมักเอทานอลต่อไป ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง เป็นภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลล์แบบต่อเนื่อง

3.2 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

3.2.1 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นต่ออัตราการผลิตเอทานอลของยีสต์ในการหมักแบบ static culture

ในการทดลองนี้ต้องการหาความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่ให้อัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะดีที่สุด โดยเลี้ยงเชื้อด้วยการหมักแบบ static culture (ข้อ 2.5.2) ในอาหารสูตร C ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 50, 100 และ 150 กรัมต่อลิตร เก็บตัวอย่าง ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส(ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) เปรียบเทียบกัน ผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.6.1- 3.6.3 และรูปที่ 3.6.1 - 3.6.2 พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 50, 100 และ 150 กรัมต่อ ลิตร ยีสต์มีค่าอัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะสูงสุดใกล้เคียงกันคือเท่ากับ 0.55, 0.60 และ 0.66 ต่อ ชั่วโมง ตามลำดับ ดังนั้นจึงใช้อาหารกากน้ำตาลสำหรับผลิตเอทานอลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร สำหรับการทดลองต่อไป

ตารางที่ 3.5.1 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่อง เมื่อมีการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร โดยแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10 - 0.40 ต่อชั่วโมง

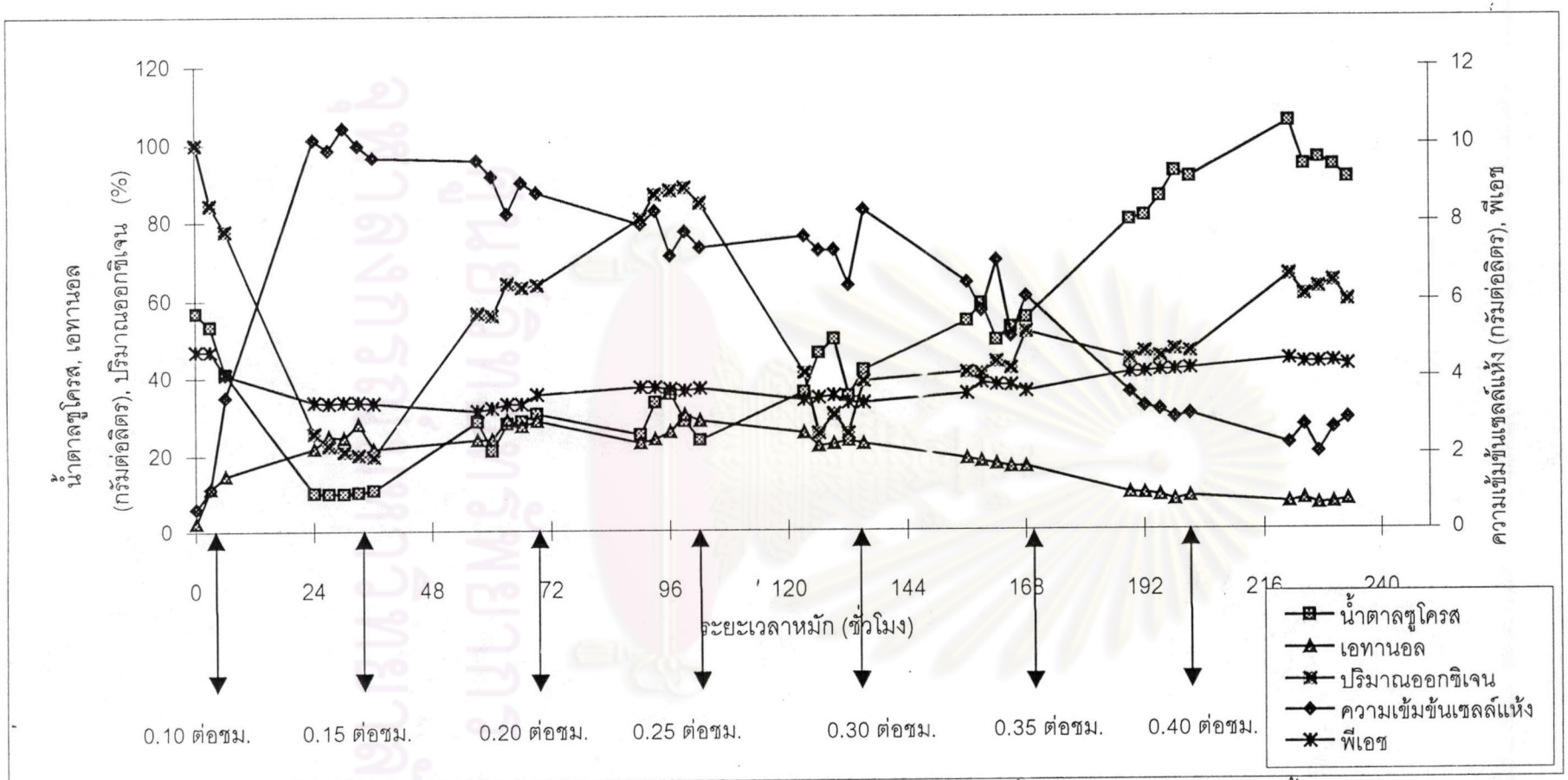
อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซิเจน (%)	พีเอช
	0	0.60	56.74	2.33	100.0	4.69
	3	1.13	53.31	11.35	84.4	4.69
	6	3.49	41.14	14.80	77.7	4.08
0.10	24	10.12	10.11	21.83	25.7	3.37
	27	9.85	9.94	24.92	22.4	3.34
	30	10.43	9.94	24.60	20.9	3.37
	33	9.96	10.28	28.09	20.1	3.36
	36	9.65	10.80	21.69	19.6	3.34
0.15	57	9.58	28.78	24.02	56.6	3.14
	60	9.16	21.15	24.18	56.0	3.20
	63	8.20	28.15	29.16	64.3	3.31
	66	9.00	28.78	27.56	63.2	3.31
	69	8.73	30.66	28.89	63.8	3.55

ตารางที่ 3.5.1(ต่อ) การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่อง เมื่อมีการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตรโดยแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10 - 0.40 ต่อชั่วโมง

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซิเจน (%)	พีเอช
0.20	90	7.93	25.28	23.09	80.7	3.74
	93	8.27	33.53	24.08	87.0	3.74
	96	7.14	35.66	26.02	88.0	3.70
	99	7.74	28.78	30.26	88.6	3.66
	102	7.33	23.77	28.87	84.7	3.71
0.25	123	7.62	36.16	25.74	41.2	3.41
	126	7.27	46.30	22.20	25.5	3.47
	129	7.28	49.92	22.77	30.5	3.53
	132	6.38	35.04	23.62	25.5	3.34
	135	8.30	41.92	22.80	39.0	3.33
0.30	156	6.46	54.61	18.96	41.3	3.56
	159	5.72	59.11	18.15	41.0	3.85
	162	7.02	49.63	17.52	44.0	3.80
	165	5.07	53.00	16.78	42.3	3.79
	168	6.09	55.41	16.81	51.8	3.63

ตารางที่ 3.5.1(ต่อ) การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่อง เมื่อมีการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร โดยแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10 - 0.40 ต่อชั่วโมง

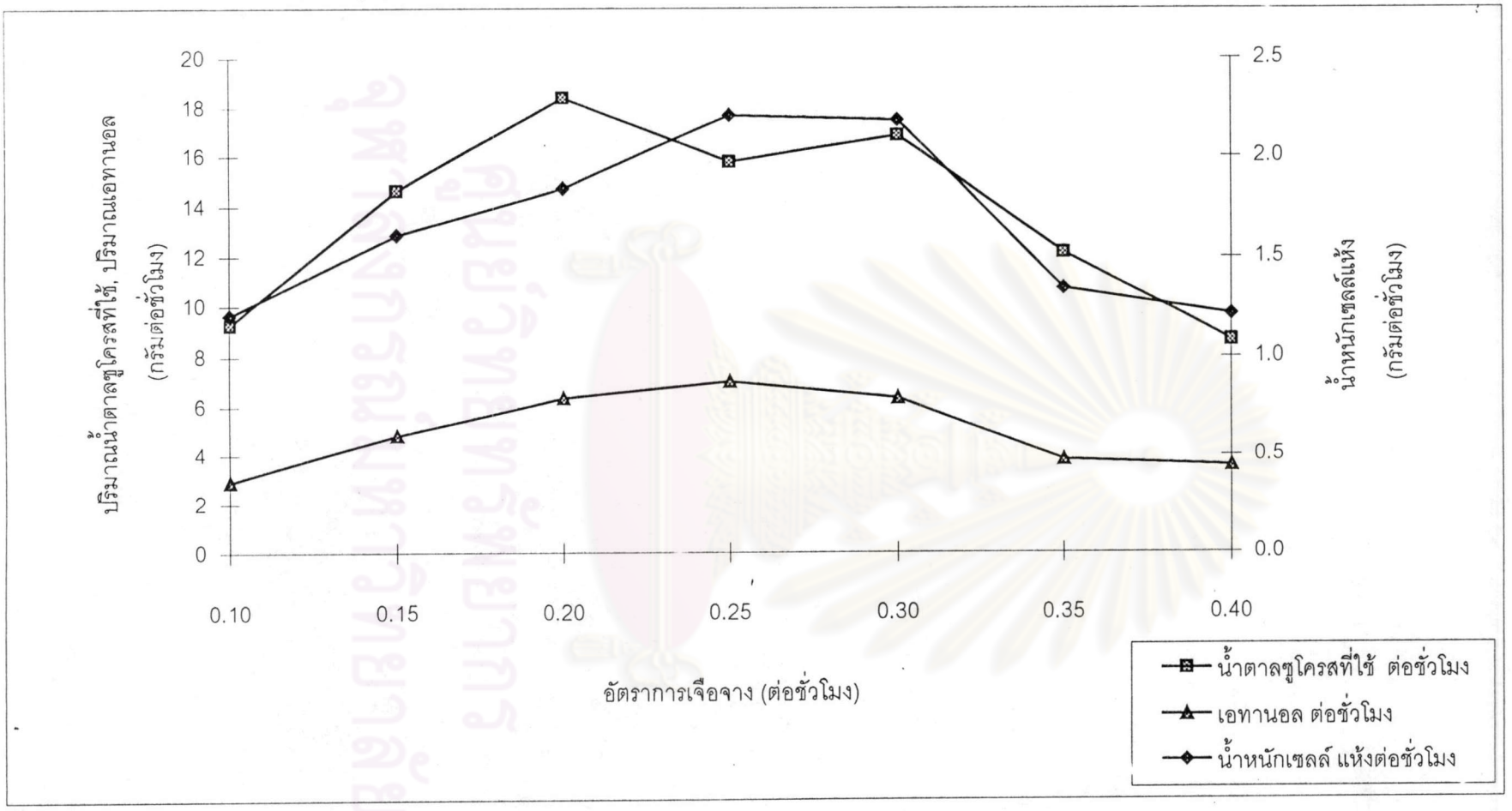
อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซิเจน (%)	พีเอช
0.35	189	3.59	80.39	9.75	44.7	4.12
	192	3.24	81.49	9.61	46.7	4.13
	195	3.15	86.38	9.10	45.4	4.18
	198	2.94	92.69	8.01	47.2	4.19
	201	3.03	91.27	8.85	46.7	4.21
0.40	221	2.26	105.77	7.27	66.4	4.46
	224	2.74	94.42	8.14	61.3	4.38
	227	2.03	96.15	6.74	63.3	4.37
	230	2.67	94.26	7.13	64.8	4.40
	233	2.91	91.11	7.85	60.0	4.32



รูปที่ 3.5.1 การเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่อง เมื่อมีการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร โดยแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10 - 0.40 ต่อชั่วโมง (↕ คือเวลาเริ่มเปลี่ยนอัตราการเจือจางของอาหารกากน้ำตาลสำหรับเติมเข้าสู่ระบบ)

ตารางที่ 3.5.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญ ของเชื้อ*S.cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อมีการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร โดยแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10 - 0.40 ต่อชั่วโมง

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครสที่ใช้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอลต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้
0.10	10.00+/-0.29	1.20	10.21+/-0.36	9.23	24.23+/-2.63	2.91	0.13	0.32
0.15	8.93+/-0.51	1.61	27.50+/-3.67	14.64	26.76+/-2.51	4.82	0.11	0.33
0.20	7.68+/-0.46	1.84	29.40+/-5.13	18.4	26.46+/-3.06	6.35	0.10	0.35
0.25	7.37+/-0.69	2.21	41.87+/-6.40	15.79	23.43+/-1.39	7.03	0.14	0.45
0.30	6.07+/-0.74	2.19	54.35+/-3.46	16.85	17.64+/-0.93	6.35	0.13	0.38
0.35	3.19+/-0.25	1.34	86.44+/-5.56	12.18	9.06+/-0.69	3.81	0.11	0.31
0.40	2.52+/-0.36	1.21	96.34+/-5.58	8.64	7.43+/-0.56	3.57	0.14	0.41



รูปที่ 3.5.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อมีการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร โดยแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10 - 0.40 ต่อชั่วโมง

ตารางที่ 3.5.3 เปรียบเทียบอัตราการแยกเซลล์ของถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร โดยแปรอัตราการเจือจางเป็น 0.10 - 0.40 ต่อชั่วโมง

ถังหมัก		ถังตะกอน					
			ส่วนไหลล้น			ส่วนตกตะกอน	
อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เวลาที่น้ำหมักอยู่ในถัง (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราเซลล์ไหลล้น (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราเซลล์ที่แยกได้ (กรัมต่อชั่วโมง)
0.10	1.20	16.67	2.75	0.33	23.95	132.85	0.87
0.15	1.61	11.11	7.76	1.40	33.36	19.97	0.21
0.20	1.84	8.33	8.78	2.11	34.58	14.42	-0.27
0.25	2.21	6.67	9.48	2.84	35.75	12.33	-0.63
0.30	2.19	5.56	7.65	2.75	35.27	20.1	-0.56
0.35	1.34	4.76	7.27	3.05	33.22	18.14	-1.71
0.40	1.21	4.17	6.7	3.21	29.78	20.36	-2.00

ตารางที่ 3.6.1 การเจริญ และการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ระดับขวดแบบ static culture

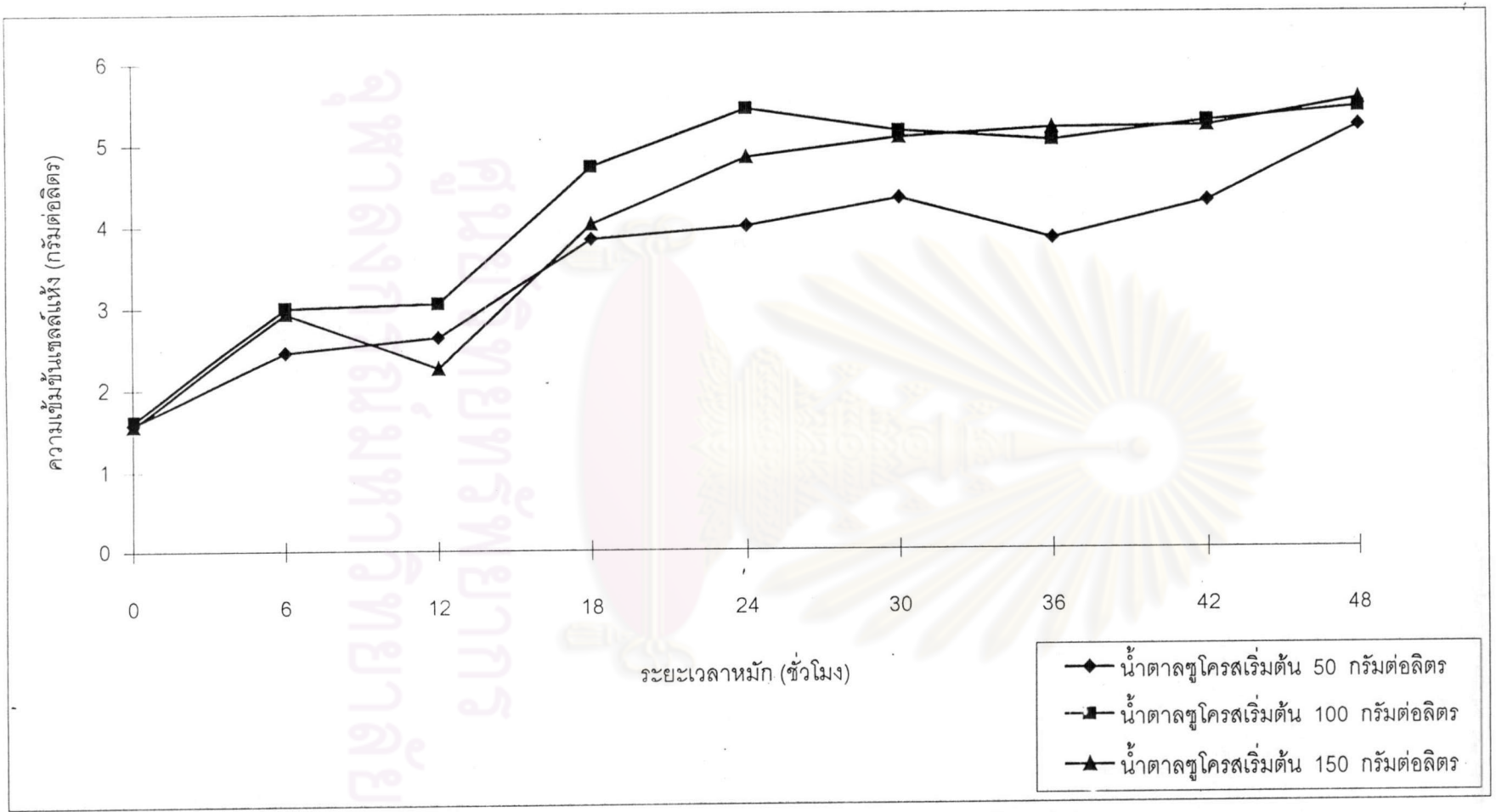
ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อเซลล์
0	1.58	-	64.67	0.70	-	-	-	-
6	2.44	0.07	50.16	5.25	0.38	0.06	0.31	5.29
12	2.63	0.01	34.38	10.45	0.34	0.03	0.32	9.29
18	3.85	0.06	15.46	21.06	0.55	0.05	0.41	8.97
24	4.00	0.01	5.99	25.35	0.18	0.04	0.42	10.19
30	4.34	0.01	7.57	24.99	-0.01	0.05	0.43	8.8
36	3.84	-0.02	6.47	25.15	0.01	0.04	0.42	10.82
42	4.30	0.02	5.68	25.87	0.03	0.05	0.43	9.25
48	5.22	0.03	4.89	24.81	-0.04	0.06	0.40	6.62

ตารางที่ 3.6.2 การเจริญ และการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ระดับขวดแบบ static culture

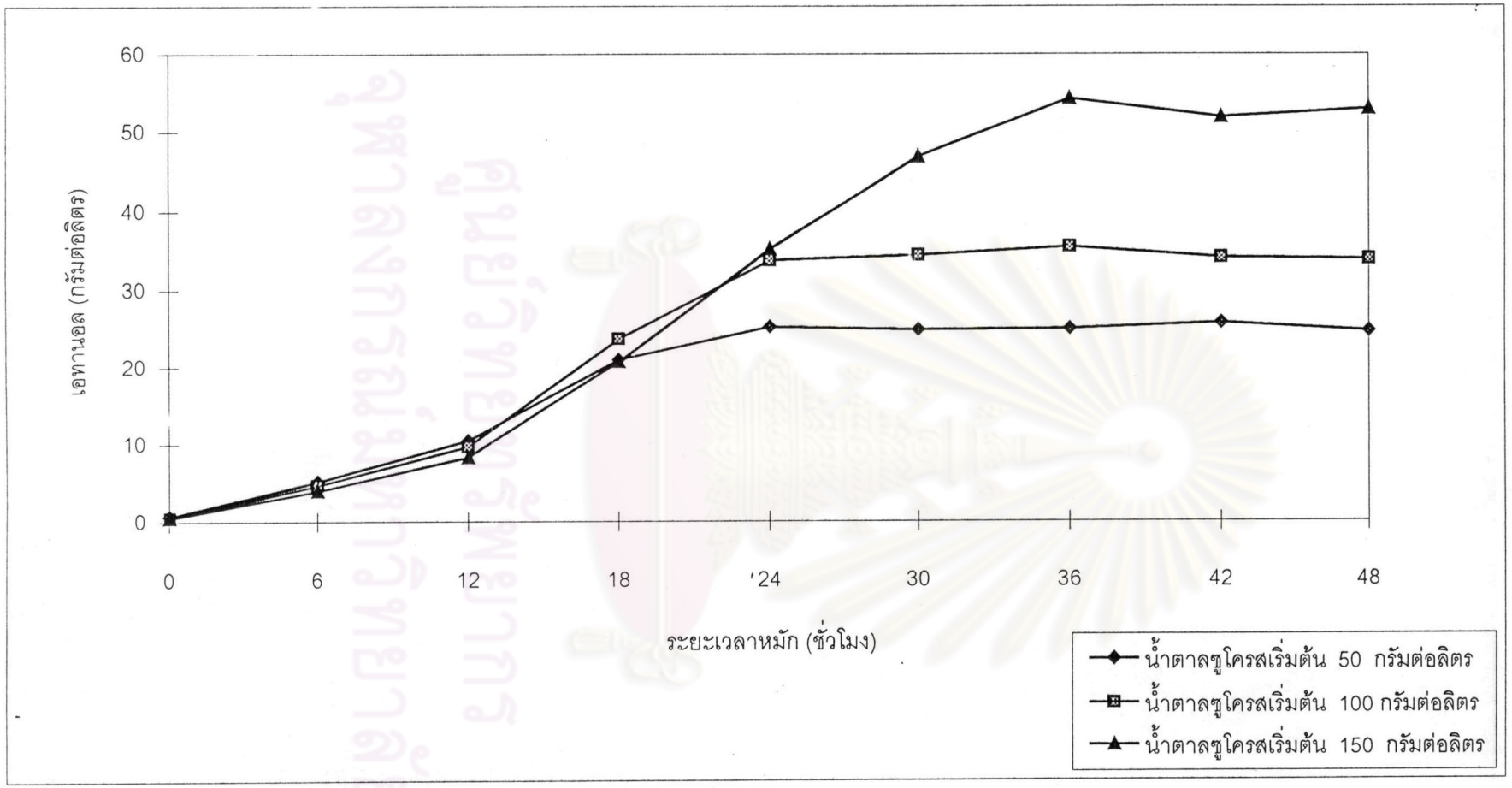
ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อเซลล์
0	1.62	-	99.36	0.51	-	-	-	-
6	3.00	0.10	73.19	4.71	0.30	0.05	0.16	3.04
12	3.05	0.00	63.09	9.67	0.27	0.04	0.25	6.41
18	4.73	0.07	28.39	23.77	0.60	0.04	0.33	7.48
24	5.44	0.02	6.31	33.81	0.33	0.04	0.36	8.72
30	5.16	-0.01	5.99	34.46	0.02	0.04	0.36	9.59
36	5.04	0.00	3.15	35.49	0.03	0.04	0.36	10.23
42	5.28	0.01	6.31	34.20	-0.04	0.04	0.36	9.2
48	5.44	0.00	3.47	33.97	-0.01	0.04	0.35	8.76

ตารางที่ 3.6.3 การเจริญ และการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 150 กรัมต่อลิตร ระดับขวดแบบ static culture

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อเซลล์
0	1.56	-	163.41	0.50	-	-	-	-
6	2.93	0.10	130.91	4.03	0.26	0.04	0.11	2.58
12	2.25	-0.04	97.16	8.35	0.28	0.01	0.12	11.38
18	4.03	0.09	75.71	20.81	0.66	0.03	0.23	8.22
24	4.84	0.03	47.63	35.24	0.54	0.03	0.30	10.59
30	5.08	0.01	22.08	46.90	0.39	0.02	0.33	13.18
36	5.20	0.00	10.09	54.25	0.24	0.02	0.35	14.77
42	5.22	0.00	11.04	51.95	-0.07	0.02	0.34	14.06
48	5.54	0.01	9.78	53.03	0.03	0.03	0.34	13.2



รูปที่ 3.6.1 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่แปรความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 50 - 150 กรัมต่อลิตร ในระดับขวดแบบ static culture



รูปที่ 3.6.2 เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่แปรความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 50 - 150 กรัมต่อลิตร ในระดับขวดแบบ static culture

3.2.2 การผลิตเอทานอลของยีสต์ระดับถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร แบบแบช

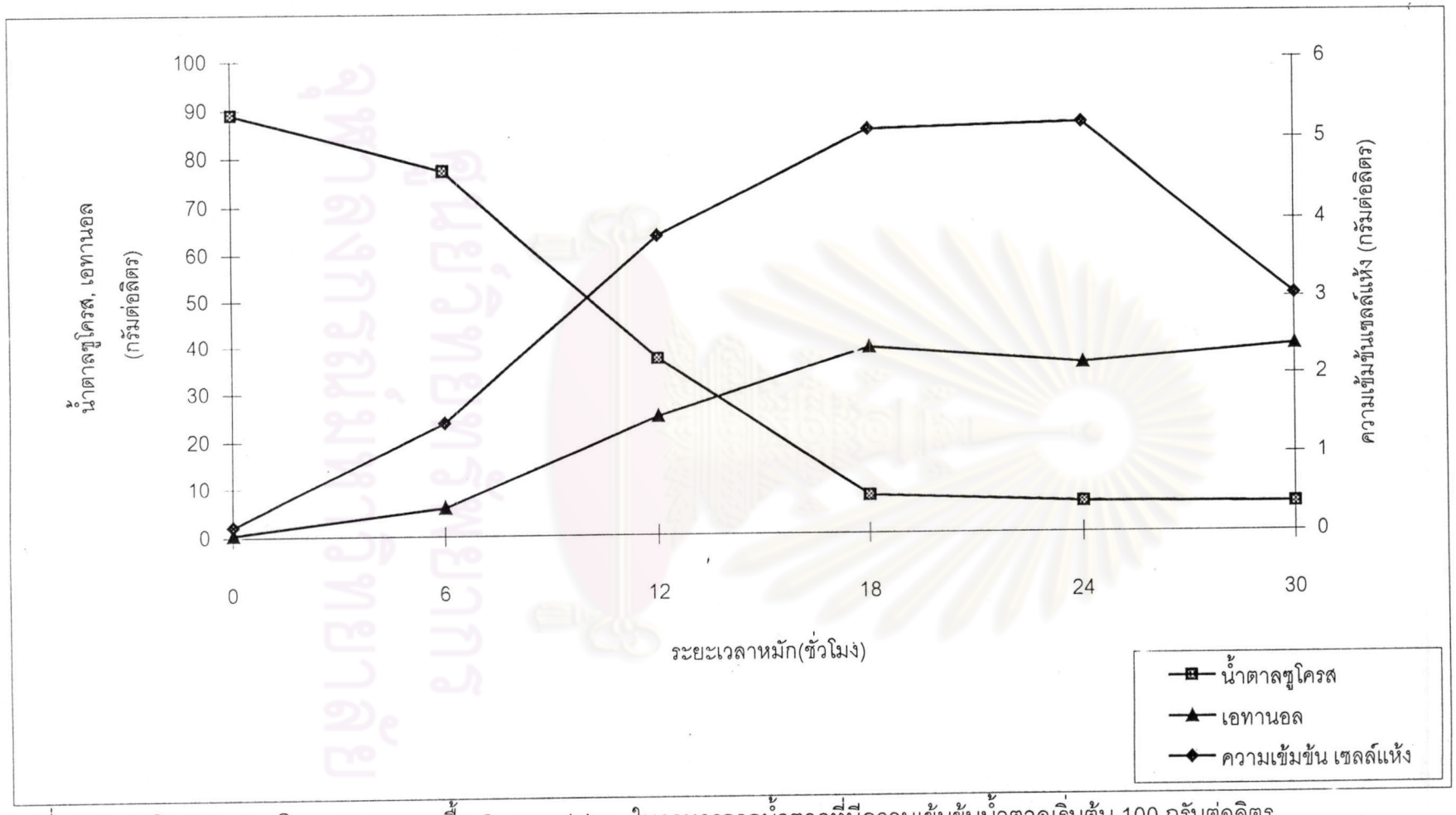
จากผลการทดลองที่ 3.2.1 ทำให้ทราบความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 100 กรัมต่อลิตร ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาการเจริญ, การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลของยีสต์ระดับถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร แบบแบช เพื่อต้องการทราบระยะเวลาในการหมักที่ให้อัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะสูงสุด โดยถ่ายหัวเชื้อ (ข้อ 2.5.1) ที่มีอายุ 8 ชั่วโมง 10 % (ปริมาตร: ปริมาตร) ลงในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร ที่บรรจุอาหารสูตร C ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ทำการหมักแบบแบช (ข้อ 2.5.3) เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.7 และรูปที่ 3.7 พบว่าเชื้อยีสต์มีการผลิตเอทานอลอย่างรวดเร็วในช่วง 18 ชั่วโมงแรก จากนั้นการผลิตคงที่จนจบการทดลอง จะเห็นได้ว่าที่ชั่วโมงที่ 12 มีอัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะสูงสุดมีค่าเท่ากับ 1.20 ต่อชั่วโมง ดังนั้นเพื่อต้องการรักษาอัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะสูงสุดไว้ในการหมักแบบต่อเนื่องจึงเริ่มเติมอาหารที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมักสำหรับการทดลองต่อไป

3.2.3 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบการหมักต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ในการหมักแบบต่อเนื่องระบบเซลล์อิสระโดยใช้ระบบเวียนกลับเซลล์ยีสต์ที่อัตราการเจือจาง 0.2 ต่อชั่วโมง และอัตราการหมุนเวียนเซลล์ 1ต่อ1

จากผลการทดลองที่ 3.2.1 และ 3.2.2 ทำให้ทราบว่าภาวะที่เหมาะสมในการเริ่มต้นหมักแบบต่อเนื่องใช้อาหารสูตร C ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น100 กรัมต่อลิตร เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ และเริ่มเติมอาหารที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ในการทดลองนี้จึงต้องการทราบค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำตาลในอาหารสูตร D ที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบหมักแบบต่อเนื่องและประสิทธิภาพของถังตกตะกอนที่ให้อัตราการแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักดีที่สุดเพื่อนำเซลล์ยีสต์เวียนกลับมาใช้อีกครั้ง จึงแปรความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารสูตร D เป็น 170 และ 200 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงทำการเลี้ยงเชื้อโดยถ่ายหัวเชื้อที่มีอายุ 8 ชั่วโมง 10 % (ปริมาตร:ปริมาตร) ลงในอาหารสูตร C ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 100 กรัมต่อลิตร บรรจุในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร แล้วจึงทำการหมักแบบต่อเนื่อง (ข้อ 2.5.4) โดยชั่วโมงที่ 12 ของการหมักเริ่มเติมอาหารสูตร D ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร และเซลล์ยีสต์เข้มข้นจากการผลิตเซลล์แบบต่อเนื่อง(ข้อ 3.1) ซึ่งอัตราส่วนการไหลเข้าระบบของอาหารและเซลล์ยีสต์เป็น 1 ต่อ 1(ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในระบบพร้อมทั้งปล่อยน้ำหมักไหลออกจากระบบเข้าสู่ถังตกตะกอน โดยควบคุมอัตราการไหลเข้าและออกของสารต่อปริมาตรน้ำหมักให้เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.2 ต่อชั่วโมง ส่งผลให้น้ำหมักมีเวลาอยู่ในถังตกตะกอนเท่ากับ 22.22 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1),

ตารางที่ 3.7 การเจริญและการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ระดับถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร แบบแบช

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอลจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอลต่อเซลล์
0	0.13	-	88.96	0.46	-	-	-	-
6	1.43	0.28	77.32	5.98	1.18	0.11	0.47	4.25
12	3.82	0.15	37.22	24.88	1.20	0.07	0.47	6.62
18	5.12	0.05	7.89	39.30	0.54	0.06	0.48	7.78
24	5.20	0.00	6.31	35.86	-0.11	0.06	0.43	6.98
30	3.04	-0.09	5.99	39.67	0.15	0.04	0.47	13.47



รูปที่ 3.7 การเจริญและการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ระดับถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร แบบแบช

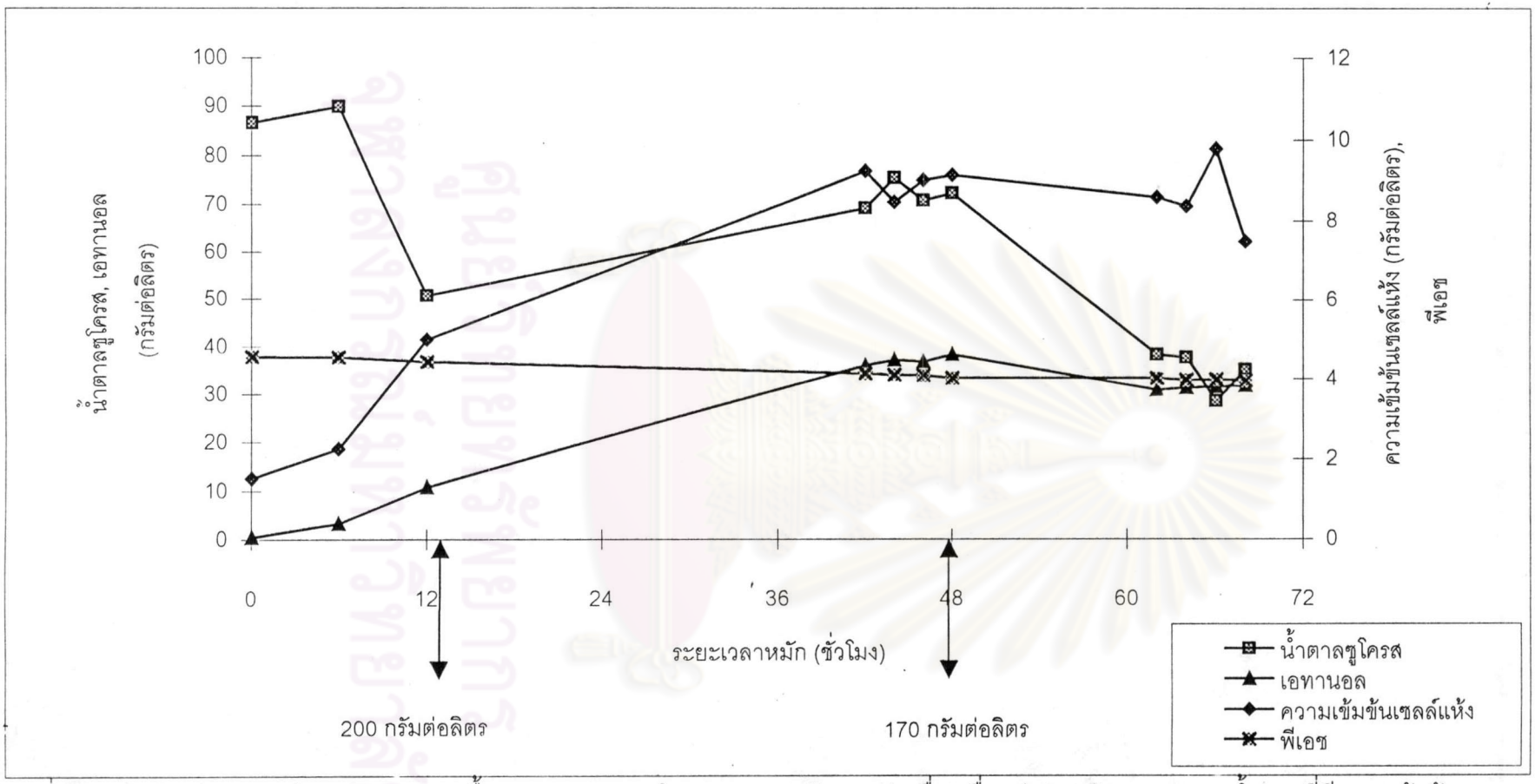
ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 170 กรัมต่อลิตร แล้วทำการทดลองเช่นเดิม ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.8.1 และรูปที่ 3.8 สำหรับค่าเฉลี่ยปริมาณเซลล์ที่ได้, การใช้น้ำตาล, ปริมาณเอทานอล, ผลผลิตเซลล์และเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้แสดงในตารางที่ 3.8.2 และ 3.8.3 เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารสูตร D ที่เติมเข้าสู่ระบบหมักแบบต่อเนื่องเป็น 170 และ 200 กรัมต่อลิตร ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอจะเห็นได้ว่าเชื้อยีสต์ผลิตเอทานอลได้ปริมาณใกล้เคียงกันคือ 31.55 และ 37.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้เท่ากันคือ 0.24 และยังพบอีกว่าปริมาณน้ำตาลที่เหลือนั้นทำให้เชื้อยีสต์มีการหมักเอทานอลต่อในถังตกตะกอนทำให้ไม่สามารถตกตะกอนเซลล์ยีสต์เพื่อนำกลับมาใช้หมักเอทานอลอีกครั้งได้และเมื่อทำการทดลองเป็นเวลานานจะพบว่าเซลล์จะหนีออกจากระบบจนหมด (wash out) ดังนั้นการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบเซลล์อิสระและมีระบบเวียนกลับเซลล์ยีสต์ด้วยถังตกตะกอนนั้นมีประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลต่ำ

3.2.4 ผลของอัตราการเจือจาง, ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ และความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบการหมักแบบต่อเนื่องต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ในการหมักแบบต่อเนื่องด้วยการตรึงเซลล์ยีสต์

จากการทดลองที่ 3.2.3 ทำให้ทราบว่าการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบเซลล์อิสระที่มีระบบเวียนกลับเซลล์ยีสต์ มีปัญหาที่เซลล์หนีออกจากระบบเมื่อทำการหมักเป็นเวลานาน ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลต่ำ ดังที่กล่าวในบทนำการหมักเอทานอลแบบตรึงเซลล์นั้นมีข้อดีคือป้องกันเซลล์หนีออกจากระบบการหมัก ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวในการทดลองนี้จึงเปลี่ยนระบบการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องจากระบบเซลล์อิสระเป็นระบบตรึงเซลล์ยีสต์ โดยใช้โซเดียมอัลจิเนต (ภาคผนวก ข - 3) เป็นวัสดุตรึงเซลล์ ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาผลของอัตราการเจือจาง, ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ และความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารสูตร E ที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบการหมักแบบต่อเนื่องต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์โดยแปรอัตราการเจือจาง 2 ค่า คือ 0.1 และ 0.3 ต่อชั่วโมง, ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 2 ค่า คือ 170 และ 200 กรัมต่อลิตร ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์เป็น 3 ขนาด คือ 2.10 x 3.45, 2.05 x 5.95 และ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร แล้วทำการทดลองดังนี้

ตารางที่ 3.8.1การเจริญและการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบหมุนเวียนเซลล์ยีสต์ เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 170 และ 200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.20 ต่อชั่วโมง และอัตราการหมุนเวียนเซลล์ 1ต่อ1

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	ระยะ เวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
	0	1.51	86.70	0.50	4.55
	6	2.23	89.85	3.31	4.53
	12	4.98	50.76	10.75	4.42
200	42	9.24	69.36	36.14	4.13
	44	8.48	75.66	37.27	4.10
	46	9.02	70.93	36.99	4.08
	48	9.14	72.51	38.41	4.01
170	62	8.60	38.46	31.04	4.01
	64	8.38	37.83	31.48	3.97
	66	9.78	28.69	31.68	3.98
	68	7.48	35.31	31.99	3.96



รูปที่ 3.8 การเจริญและการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องเมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 และ 200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.20 ต่อชั่วโมง และอัตราการหมุนเวียนเซลล์ 1ต่อ1

(↕ คือเวลาเริ่มเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลสำหรับเติมเข้าสู่ระบบ)

ตารางที่ 3.8.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.20 ต่อชั่วโมง และอัตราการหมุนเวียนเซลล์ 1ต่อ1

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
170	8.56+/-0.95	35.07+/-4.47	31.55+/-0.40	4.08+/-0.05
200	8.97+/-0.34	72.12+/-2.69	37.20+/-0.94	3.98+/-0.02

ตารางที่ 3.8.3 เปรียบเทียบอัตราการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.20 ต่อชั่วโมง และอัตราการหมุนเวียนเซลล์ 1ต่อ1

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเอทานอล ต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตเอทานอล ต่อเซลล์
170	0.77	11.91	2.84	0.24	3.69
200	0.81	14.08	3.35	0.24	4.15

3.2.4.1 ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร, อัตราการเจือจาง 0.10 และ 0.30 ต่อชั่วโมง อาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 170 และ 200 กรัมต่อลิตร

ในการเตรียมเจลมีจำนวนเซลล์ยีสต์ต่อน้ำหนักเจลที่เตรียมได้เท่ากับ 4.42×10^9 เซลล์ต่อกรัมเจล หรือ 80.0 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตรน้ำหมัก หรือ 40.0 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตรเจล การขึ้นรูปเจลโดยการปั๊มผ่านเข็มฉีดยาซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 0.5 มิลลิเมตร ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก:ปริมาตร) ในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร (ข้อ 2.5.5) ได้ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร ทำการหมักแบบต่อเนื่อง (ข้อ 2.5.6) โดยเริ่มเติมอาหารสูตร E ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร ลงในระบบพร้อมปล่อยน้ำหมักออกจากระบบด้วยอัตราที่เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.10 ต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ 2.6.3) และ ปริมาณ เอทานอล (ข้อ 2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนอัตราการเจือจางเป็น 0.30 ต่อชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร และ อัตราการเจือจาง 0.10, 0.30 ต่อชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติมเป็น 170 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แล้วทำการทดลองเช่นเดิม ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.9.1 - 3.9.2 และรูปที่ 3.9 จากตารางที่ 3.9.3 และ 3.9.4 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางจาก 0.10 เป็น 0.30 ต่อชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลงจาก 69.83 เหลือ 27.40 กรัมต่อลิตร และมีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ลดลงจาก0.43 เป็น 0.41 ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 170 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางจาก 0.10 เป็น 0.30 ต่อชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลงจาก 64.37 เหลือ 50.02 กรัมต่อลิตร และมีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ลดลงจาก 0.42 เป็น 0.40 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเอทานอลมากกว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 170 กรัมต่อลิตร

3.2.4.2 ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.05 x 5.95 มิลลิเมตร, อัตราการเจือจาง 0.10 และ 0.30 ต่อชั่วโมง อาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 170 และ 200 กรัมต่อลิตร

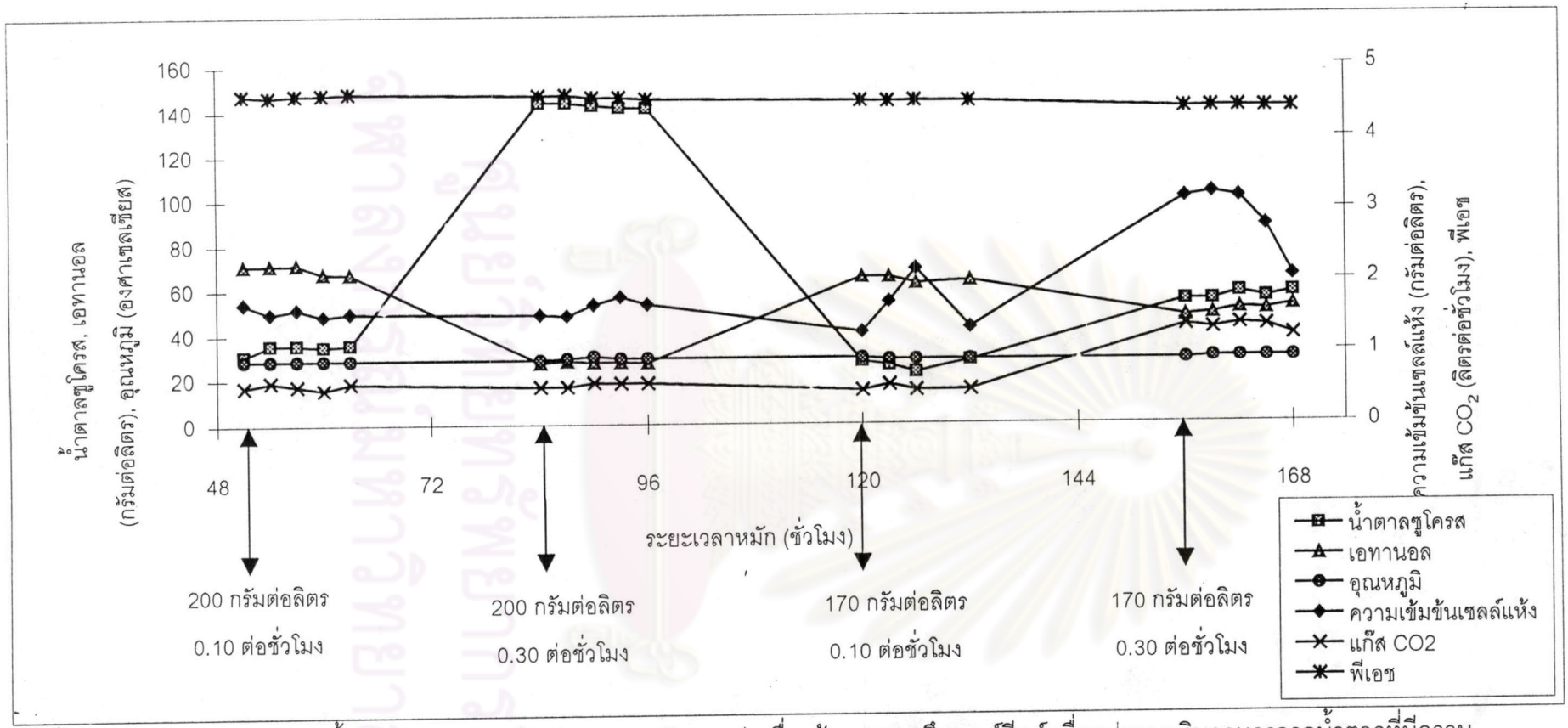
ในการเตรียมเจลมีจำนวนเซลล์ยีสต์ต่อน้ำหนักเจลที่เตรียมได้เท่ากับ 4.32×10^9 เซลล์ต่อกรัมเจล หรือ 78.6 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตรน้ำหมัก หรือ 39.3 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตรเจล การขึ้นรูปเจลโดยการปั๊มผ่านเข็มฉีดยาซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง เท่ากับ 0.7 มิลลิเมตร ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในถังหมักทรงสูง

ตารางที่ 3.9.1 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
0.10	51	1.69	30.58	71.18	0.53	4.61	28.5
	54	1.55	35.40	71.43	0.59	4.59	28.5
	57	1.61	35.40	71.67	0.54	4.61	28.5
	60	1.51	34.76	67.62	0.49	4.62	28.5
	63	1.55	35.40	67.24	0.57	4.63	28.5
0.30	84	1.53	144.19	27.13	0.52	4.6	28.5
	87	1.51	144.19	27.83	0.52	4.61	29.0
	90	1.67	142.90	27.47	0.57	4.57	30.0
	93	1.77	141.94	27.37	0.57	4.57	29.0
	96	1.67	141.62	27.22	0.56	4.55	29.0

ตารางที่ 3.9.2 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
0.10	120	1.28	27.36	65.49	0.46	4.52	29.0
	123	1.70	25.75	65.59	0.54	4.51	28.5
	126	2.16	22.53	62.70	0.46	4.52	28.5
	129	1.80	25.75	64.25	0.39	4.5	28.5
	132	1.34	28.00	63.81	0.46	4.51	28.5
0.30	156	3.16	54.72	47.68	1.36	4.42	28.5
	159	3.22	54.72	48.62	1.32	4.43	29.0
	162	3.16	58.26	50.99	1 37	4.43	29.0
	165	2.76	55.86	50.46	1.35	4.42	29.0
	168	2.06	58.26	52.37	1.22	4.42	29.0



รูปที่ 3.9 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร

(↕ คือเวลาของการหมักเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอที่แต่ละอัตราการเจือจางและความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลสำหรับเติมเข้าสู่ระบบ)

ตารางที่ 3.9.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกาก น้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
200	0.10	1.58+/-0.07	34.31+/-2.10	69.83+/-2.20	0.54+/-0.04	4.61+/-0.01	28.5+/-0.00
	0.30	1.63+/-0.11	142.97+/-1.21	27.40+/-0.27	0.55+/-0.03	4.58+/-0.02	29.1+/-0.22
170	0.10	1.66+/-0.36	25.88+/-2.12	64.37+/-1.21	0.46+/-0.05	4.51+/-0.01	28.6+/-0.22
	0.30	2.87+/-0.49	56.36+/-1.79	50.02+/-1.88	1.33+/-0.06	4.42+/-0.01	28.9+/-0.22

ตารางที่ 3.9.4 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกาก น้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครสที่ใช้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอลต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตรเจลต่อชั่วโมง)	แก๊ส CO_2 ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตแก๊ส CO_2ต่อน้ำตาลที่ใช้
200	0.10	0.02	2.43	1.05	3.49	0.97	0.43	0.40
	0.30	0.07	3.02	1.23	4.11	0.97	0.41	0.32
170	0.10	0.02	2.32	0.97	3.22	0.82	0.42	0.35
	0.30	0.13	5.57	2.25	7.50	2.36	0.40	0.42

ขนาด 0.45 ลิตร (ข้อ 2.5.5) ได้ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 2.05 x 5.95 มิลลิเมตร ทำการหมักแบบต่อเนื่อง (ข้อ 2.5.6) โดยเริ่มเติมอาหารสูตร E ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร ลงในระบบพร้อมปล่อยน้ำหมักออกจากระบบด้วยอัตราที่เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.30 ต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนอัตราการเจือจางเป็น 0.10 ต่อชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร และ อัตราการเจือจาง 0.10, 0.30 ต่อชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติมเป็น 170 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แล้วทำการทดลองเช่นเดิม ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.10.1 - 3.10.2 และรูปที่ 3.10 จากตารางที่ 3.10.3 และ 3.10.4 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตรเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางจาก 0.10 เป็น 0.30 ต่อชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลงจาก 63.94 เหลือ 24.54 กรัมต่อลิตร และมีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ลดลงจาก 0.43 เป็น 0.40 ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 170 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางจาก 0.10 เป็น 0.30 ต่อชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลงจาก60.68เหลือ49.19 กรัมต่อลิตรและมีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ลดลงจาก 0.40 เป็น 0.37 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเอทานอลมากกว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 170 กรัมต่อลิตร

3.2.4.3 ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร, อัตราการเจือจาง 0.10 และ 0.30 ต่อชั่วโมง อาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 170 และ 200 กรัมต่อลิตร

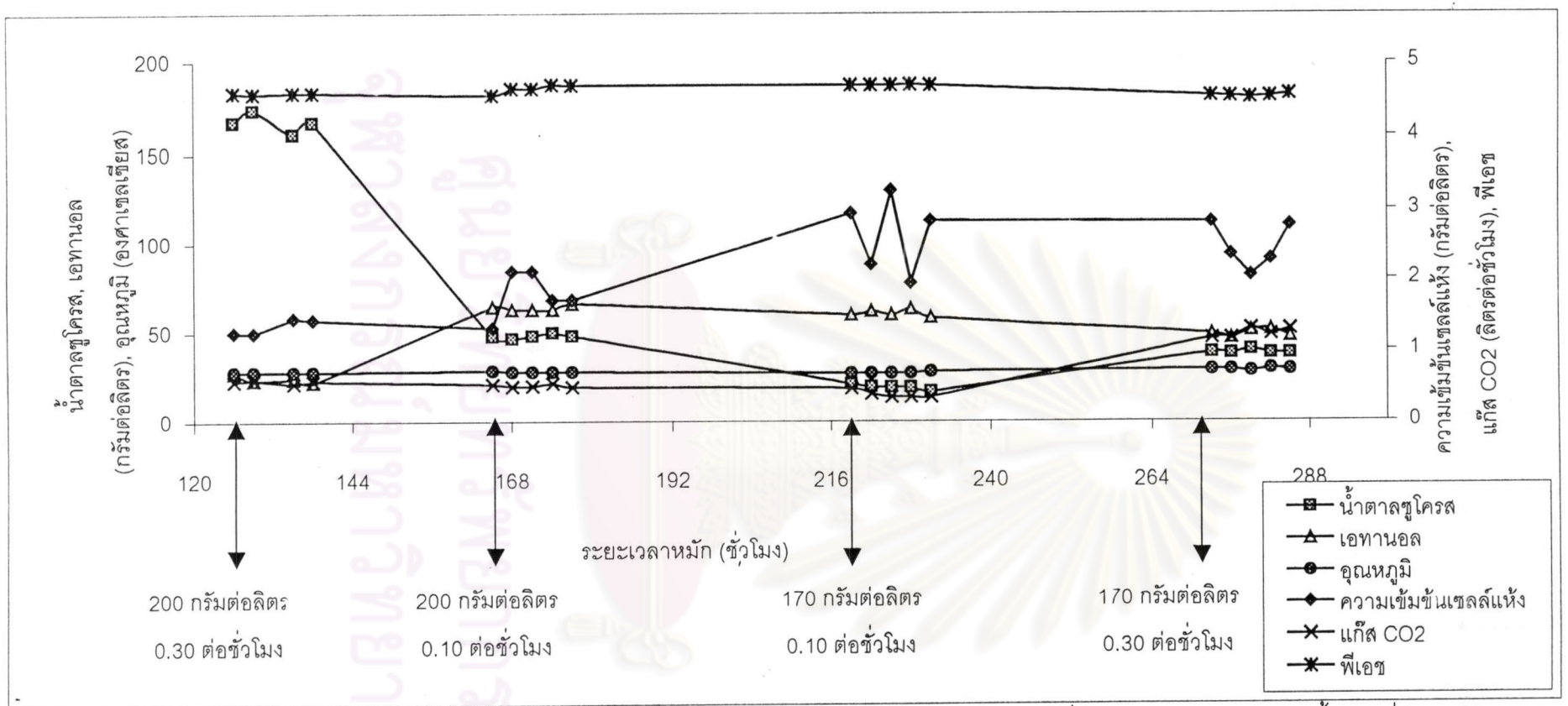
ในการเตรียมเจลมีจำนวนเซลล์ยีสต์ต่อน้ำหนักเจลที่เตรียมได้เท่ากับ 4.23×10^9 เซลล์ต่อกรัมเจล หรือ 75.0 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตรน้ำหมัก หรือ 37.5 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตรเจล การขึ้นรูปเจลโดยการปั๊มผ่านเข็มฉีดยาซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 1.0 มิลลิเมตร ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร (ข้อ 2.5.5) ได้ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร ทำการหมักแบบต่อเนื่องเช่นเดียวกับข้อ 3.2.4.2 ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.11.1-.3.11.2 และรูปที่ 3.11 จาก ตารางที่ 3.11.3 และ 3.11.4 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตรเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางจาก 0.10 เป็น 0.30 ต่อชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลงจาก 64.18 เหลือ 29.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้เท่ากันคือ 0.38 ส่วนความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 170 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางจาก 0.10 เป็น 0.30 ต่อชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลงจาก 63.05 เหลือ 58.96 กรัมต่อลิตร และมีค่า

ตารางที่ 3.10.1 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.05 x 5.95 มิลลิเมตร

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
0.3	126	1.25	167.26	27.27	0.57	4.58	28.0
	129	1.24	173.69	23.44	0.59	4.56	28.0
	132	1.74	164.04	25.51	0.60	4.58	28.0
	135	1.45	160.82	24.16	0.54	4.58	28.0
	138	1.43	167.26	22.34	0.57	4.58	28.0
0.1	165	1.32	47.93	64.49	0.53	4.55	28.5
	168	2.11	46.64	62.96	0.50	4.64	28.0
	171	2.11	48.25	63.03	0.50	4.64	28.0
	174	1.71	49.86	62.83	0.54	4.69	28.0
	177	1.71	48.25	66.39	0.49	4.68	28.0

ตารางที่ 3.10.2 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.05 x 5.95 มิลลิเมตร

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
0.1	219	2.94	21.23	59.79	0.47	4.68	27.0
	222	2.21	19.62	62.04	0.39	4.68	27.0
	225	3.26	19.30	60.86	0.34	4.68	27.0
	228	1.94	19.30	63.13	0.35	4.69	27.0
	231	2.83	16.73	58.58	0.34	4.68	28.0
0.3	273	2.82	38.60	49.10	1.17	4.54	29.0
	276	2.35	37.95	46.79	1.17	4.53	29.0
	279	2.05	40.02	50.98	1.31	4.52	28.0
	282	2.28	37.95	51.47	1.22	4.53	29.5
	285	2.77	37.95	47.59	1.29	4.56	29.0



รูปที่ 3.10 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10 และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.05 x 5.95 มิลลิเมตร

(↕ คือเวลาของการหมักเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอที่แต่ละอัตราการเจือจางและความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลสำหรับเติมเข้าสู่ระบบ)

ตารางที่ 3.10.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกาก น้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.05 x 5.95 มิลลิเมตร

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
200	0.10	0.86+/-0.16	48.19+/-1.15	63.94+/-1.53	0.51+/-0.02	4.60+/-0.02	28.0+/-0.61
	0.30	1.79+/-0.33	166.61+/-4.77	24.54+/-1.91	0.57+/-0.02	4.64+/-0.06	28.1+/-0.22
170	0.10	2.64+/-0.54	19.24+/-1.61	60.68+/-1.85	0.38+/-0.05	4.68+/-0.00	27.2+/-0.45
	0.30	2.45+/-0.33	38.49+/-0.90	49.19+/-2.05	1.23+/-0.07	4.54+/-0.02	28.9+/-0.55

ตารางที่ 3.10.4 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกาก น้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.05 x 5.95 มิลลิเมตร

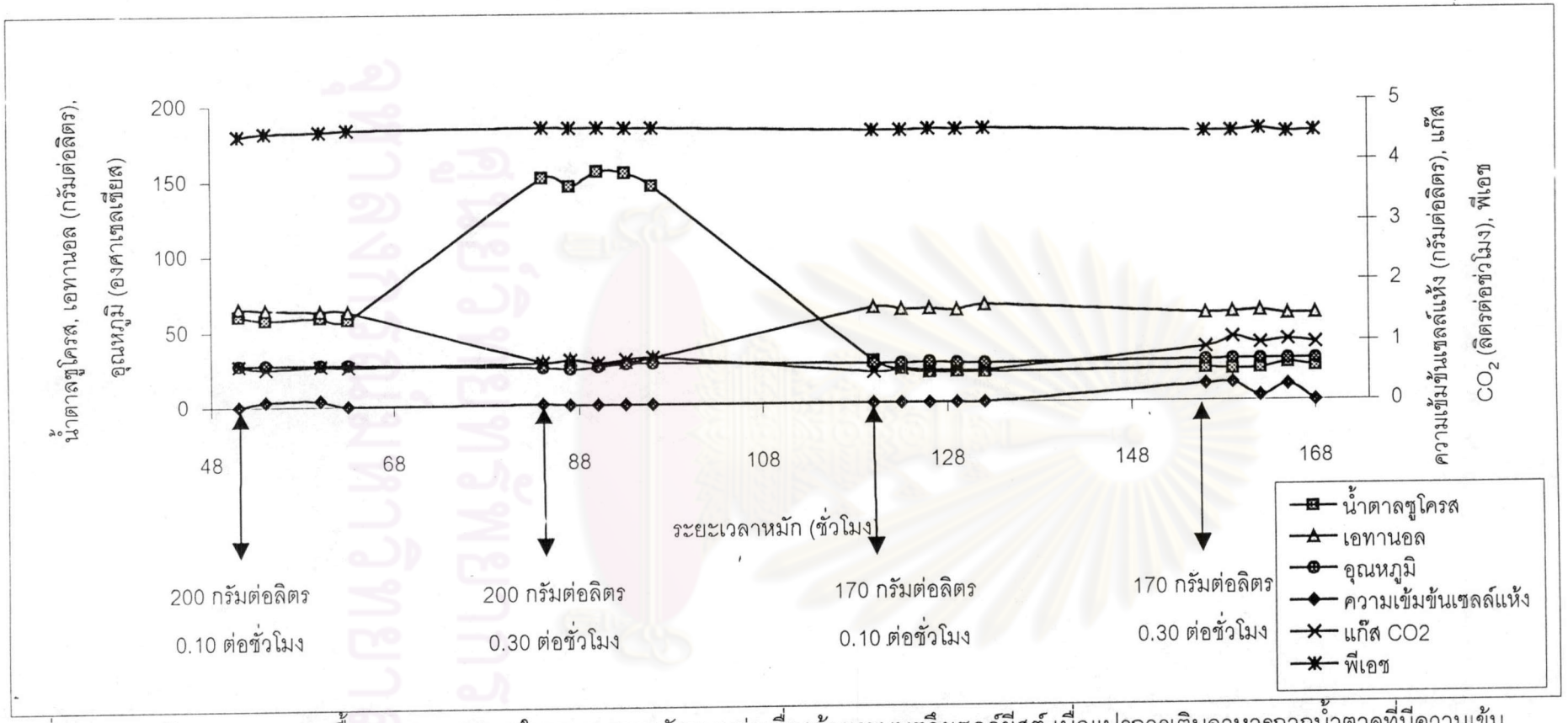
น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครสที่ใช้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอลต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตรเจลต่อชั่วโมง)	แก๊ส CO_2 ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตแก๊ส CO_2ต่อน้ำตาลที่ใช้
200	0.10	0.01	2.22	0.96	3.20	0.91	0.43	0.41
	0.30	0.08	3.71	1.10	3.67	1.02	0.30	0.27
170	0.10	0.04	2.29	0.91	3.03	0.68	0.40	0.29
	0.30	0.11	6.01	2.21	7.38	2.19	0.37	0.36

ตารางที่ 3.11.1 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
0.1	51	0.00	60.51	65.75	0.68	4.49	27.5
	54	0.08	57.93	64.40	0.63	4.54	27.5
	57	0.02	60.51	64.32	0.63	4.54	27.5
	60	0.10	59.54	63.25	0.67	4.56	27.5
	63	0.00	57.93	63.16	0.65	4.58	27.5
0.3	84	0.02	151.27	28.95	0.71	4.61	25.0
	87	0.00	145.48	30.93	0.76	4.60	24.0
	90	0.00	155.46	27.36	0.70	4.60	25.5
	93	0.00	154.49	28.21	0.75	4.59	27.0
	96	0.00	145.48	31.14	0.79	4.59	27.5

ตารางที่ 3.11.2 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร

อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
0.1	120	0.00	28.32	63.74	0.52	4.53	26.5
	123	0.00	22.53	62.29	0.56	4.53	26.5
	126	0.00	19.95	62.61	0.53	4.55	27.0
	129	0.00	20.28	61.64	0.53	4.54	26.5
	132	0.00	19.95	64.97	0.53	4.55	26.0
0.3	156	0.28	21.89	58.61	0.91	4.48	27.5
	159	0.30	20.92	59.60	1.07	4.48	28.0
	162	0.08	21.89	60.30	0.97	4.52	28.0
	165	0.26	25.10	58.00	1.03	4.47	28.0
	168	0.00	22.85	58.30	0.97	4.48	28.0



รูปที่ 3.11 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อแปรการเติมอาหารกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 และ200 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร

(⇕ คือเวลาของการหมักเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอที่แต่ละอัตราการเจือจางและความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลสำหรับเติมเข้าสู่ระบบ)

ตารางที่ 3.11.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกาก น้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
200	0.1	0.04+/-0.05	59.28+/-1.30	64.18+/-1.05	0.65+/-0.02	4.54+/-0.03	27.5+/-0.00
	0.3	0.00+/-0.01	150.44+/-4.78	29.32+/-1.67	0.74+/-0.04	4.60+/-0.01	25.8+/-1.44
170	0.1	0.00+/-0.00	22.21+/-3.58	63.05+/-1.32	0.54+/-0.02	4.54+/-0.01	26.5+/-0.35
	0.3	0.18+/-0.14	22.53+/-1.59	58.96+/-0.96	0.99+/-0.06	4.49+/-0.02	27.9+/-0.22

ตารางที่ 3.11.4 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรการเติมอาหารกาก น้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170และ200กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง 0.10และ0.30 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.40 x 5.15 มิลลิเมตร

น้ำตาลซูโครสที่เติม - (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครสที่ใช้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอลต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตรเจลต่อชั่วโมง)	แก๊ส CO_2 ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตแก๊ส CO_2 ต่อน้ำตาลที่ใช้
200	0.1	0.00	2.51	0.96	3.21	1.16	0.38	0.46
	0.3	0.00	3.43	1.32	4.40	1.33	0.38	0.39
170	0.1	0.00	2.20	0.95	3.15	0.97	0.43	0.44
	0.3	0.01	6.59	2.65	8.84	1.77	0.40	0.27

ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ลดลงจาก 0.43 เป็น 0.40 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับความเข้มข้นของน้ำตาล 170 กรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองที่ 3.2.4.1 - 3.2.4.3 จะเห็นได้ว่าที่ภาวะอัตราการเจือจาง 0.10 ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร และขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.10 x 3.45 มิลลิเมตร (ขึ้นรูปเจลโดยใช้เข็มมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 0.5 มิลลิเมตร) เชื้อยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุดแตกต่างจากภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดย Duncan's Multiple Range Test (ภาคผนวก จ) จึงเลือกภาวะนี้ใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.5 ผลของอาหารกากน้ำตาลที่เจือจางด้วยน้ำหมักต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ในการหมักแบบต่อเนื่องระบบตรึงเซลล์

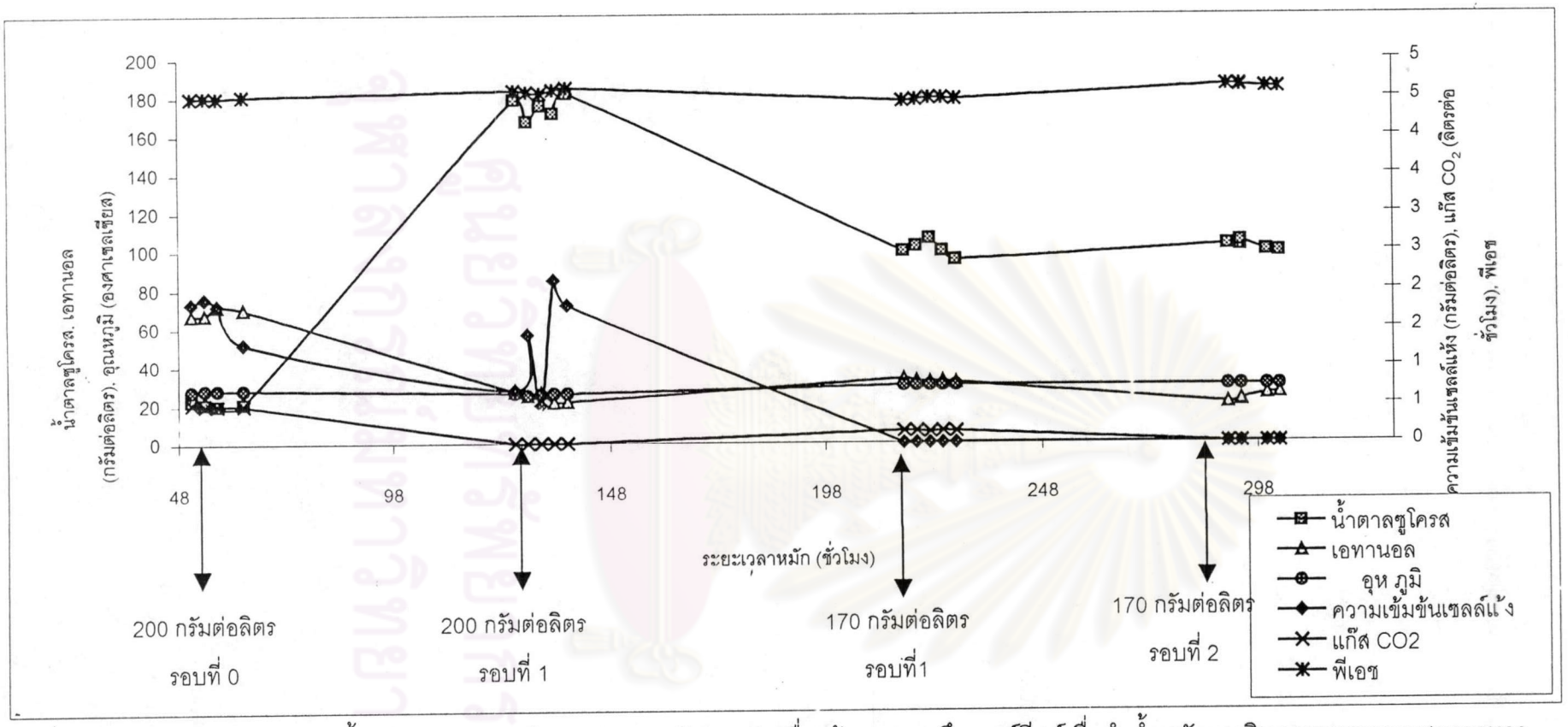
3.2.5.1 ผลของอาหารกากน้ำตาลที่เจือจางด้วยน้ำหมักที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร ต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์

กระบวนการผลิตเอทานอล หลังจากการกลั่นเอทานอลออกไปแล้วจะพบว่ามีน้ำส่าที่เหลือจากการกลั่นปริมาณมากซึ่งในน้ำนั้นประกอบด้วย สารอาหารที่เหลืออยู่บางส่วน, เถ้า และของแข็งที่สามารถละลายน้ำได้ รวมทั้งสารที่ยีสต์สร้างขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลจึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการบำบัดก่อนทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต เพื่อเป็นการลดต้นทุน การทดลองนี้จึงได้นำน้ำหมักที่ผ่านการกลั่นโดยวิเคราะห์สารอาหารที่เหลือแล้วนำมาเจือจางกากน้ำตาลแล้วนำกลับไปหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องระบบตรึงเซลล์อีกครั้ง ในการทดลองมีจำนวนเซลล์ยีสต์ต่อน้ำหนักเจลที่เตรียมได้เท่ากับ 4.38×10^9 เซลล์ต่อกรัมเจล การขึ้นรูปเจลโดยการปั๊มผ่านเข็มฉีดยาซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 0.5 มิลลิเมตร ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร (ข้อ 2.5.5) ได้ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร ทำการหมักแบบต่อเนื่อง (ข้อ 2.5.6) โดยเริ่มเติมอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร (รอบของการนำกลับมาใช้ 0) ลงในระบบพร้อมปล่อยน้ำหมักออกจากระบบด้วยอัตราที่เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.10 ต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ 2.6.3) และ ปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนอาหารกากน้ำตาลเป็นรอบที่นำกลับมาใช้ 1 (นำน้ำหมักที่ผ่านการหมักจากรอบที่ 0 มากลั่นแยกเอทานอลแล้วเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับรอบที่ 1) แล้วทำการทดลองเช่นเดิม ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.12.1 และรูปที่ 3.12 จากตารางที่ 3.12.3 และ3.12.4 จะเห็นได้ว่าในรอบที่ 0 (อาหารเลี้ยงเชื้อใหม่) ยีสต์ผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 69.22 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อนำน้ำหมักกลับมาใช้รอบที่ 1

ตารางที่ 3.12.1 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์เมื่อนำน้ำหมักมาเติมสารอาหารตามสูตรอาหารแล้วนำกลับมาหมักเอทานอลอีกครั้ง ในการหมักแบบต่อเนื่องความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร

รอบของการนำกลับมาใช้ใหม่	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
0	51	1.83	22.53	67.20	0.52	4.50	27.5
	54	1.89	20.92	67.35	0.50	4.51	28.0
	57	1.81	19.95	71.93	0.50	4.50	28.0
	60	2.13	19.95	69.39	0.50	4.50	28.5
	63	1.30	20.92	70.22	0.50	4.52	28.0
1	126	0.69	179.08	27.00	**	4.59	26.0
	129	1.42	167.82	24.94	**	4.57	25.0
	132	0.50	175.87	26.67	**	4.56	25.5
	135	2.13	172.00	21.46	**	4.60	26.0
	138	1.81	182.30	21.81	**	4.63	26.0

หมายเหตุ : ** = มีค่าน้อยมาก



รูปที่ 3.12 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์เมื่อนำน้ำหมักมาเติมสารอาหารตามสูตรอาหาร แล้วนำกลับมาหมักเอทานอลอีกครั้ง ในการหมักแบบต่อเนื่องที่ความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 170 และ 200 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร

(↕ คือเวลาของการหมักเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอที่แต่ละรอบของความเข้มข้นของอาหารกากน้ำตาลที่นำกลับมาใช้)

ตารางที่ 3.12.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อนำน้ำหมักมาเติมสารอาหารตามสูตรอาหารแล้วนำกลับมาหมักเอทานอลอีกครั้ง ในการหมักแบบต่อเนื่องความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 200 และ 170 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	รอบของการนำกลับมาใช้ใหม่	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
200	0	1.79+/-0.30	20.85+/-1.06	69.22+/-2.00	0.50+/-0.01	4.51+/-0.01	28.0+/-0.35
	1	1.31+/-0.70	175.41+/-5.71	24.38+/-2.62	**	4.59+/-0.03	25.7+/-0.45
170	1	0.00+/-0.00	100.67+/-4.01	32.23+/-0.78	0.15+/-0.01	4.48+/-0.01	30.0+/-0.00
	2	0.00+/-0.00	101.77+/-2.28	23.12+/-2.24	**	4.64+/-0.02	30.0+/-0.00

หมายเหตุ : ** = มีค่าน้อยมาก

ตารางที่ 3.12.4 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อนำน้ำหมักมาเติมสารอาหารตามสูตรอาหารแล้วนำกลับมาหมักเอทานอลอีกครั้ง ในการหมักแบบต่อเนื่องความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 200 และ 170 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร

น้ำตาลซูโครสที่เติม (กรัมต่อลิตร)	รอบของการนำกลับมาใช้ใหม่	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครสที่ใช้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอลต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตรเจลต่อชั่วโมง)	แก๊ส CO_2 ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตแก๊ส CO2ต่อน้ำตาลที่ใช้
200	0	0.03	2.39	1.04	3.46	0.89	0.43	0.37
	1	0.02	0.86	0.37	1.22	**	0.42	**
170	1	0.00	1.19	0.48	1.61	0.27	0.41	0.22
	2	0.00	1.02	0.35	1.16	**	0.34	**

หมายเหตุ : ** = มีค่าน้อยมาก

เอทานอลที่ผลิตได้ลดลงอย่างมากเหลือเท่ากับ 24.38 กรัมต่อลิตร ซึ่งในรอบที่ 1 มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นน้อยมากจนไม่สามารถวัดได้แต่ค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ของรอบที่ 0 และ 1 มีค่าใกล้เคียงกันคือ มีค่า 0.43 และ0.42 ตามลำดับ จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าไม่สามารถนำน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่ได้

3.2.5.2 ผลของอาหารกากน้ำตาลที่เจือจางด้วยน้ำหมักที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 170 กรัมต่อลิตร ต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์

จากผลการทดลองที่ 3.2.5.1 จะเห็นได้ว่าการหมักเอทานอลไม่สามารถนำน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่ได้นั้น อาจเกิดจากอาหารกากน้ำตาลมีความเข้มข้นของน้ำตาลมากประกอบกับเกลืออนินทรีย์ถูกสะสมมากจนมีผลไปยับยั้งการผลิตเอทานอลของยีสต์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงลดความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาล เป็น 170 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้ได้ทำการทดลองต่อจากข้อ 3.2.5.1 โดยเริ่มเติมอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 170 กรัมต่อลิตร (รอบของการนำกลับมาใช้ 1) ลงในระบบพร้อมปล่อยน้ำหมักออกจากระบบด้วยอัตราที่เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.10 ต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ 2.6.3) และ ปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนอาหารกากน้ำตาลที่มีรอบของการนำกลับมาใช้เท่ากับ 2 (นำน้ำหมักที่ผ่านการหมักจากรอบที่ 1 มากลั่นแยกเอทานอลแล้วเตรียมเป็นอาหารสำหรับรอบที่ 2) แล้วทำการทดลองเช่นเดิม ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.12.2 และรูปที่ 3.12 จากตารางที่ 3.12.3 ในรอบที่ 1 ยีสต์ผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 32.23 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ 3.2.4.1 เชื้อยีสต์ผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 64.37 กรัมต่อลิตร(ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่) จึงเห็นได้ว่าเมื่อนำน้ำหมักกลับมาใช้รอบที่ 1 เอทานอลที่ผลิตได้ลดลงอย่างมาก และนำน้ำหมักกลับมาใช้ในรอบที่ 2 อีกครั้ง เอทานอลที่ผลิตได้ก็ลดลงอีกเหลือเท่ากับ 23.12 กรัมต่อลิตร ซึ่งในรอบที่ 2 มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นน้อยมากจนไม่สามารถวัดได้ ส่วนค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ของรอบที่ 1 และ 2 มีค่าลดลงคือ มีค่า 0.41 และ0.34 ตามลำดับซึ่งแสดงในตารางที่ 3.12.4 จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าไม่สามารถนำน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่ได้

3.2.6 ผลของอุณหภูมิต่อการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์

จากที่กล่าวในบทนำว่าอุณหภูมิมีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงต้องการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอล ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมนั้นต้องไม่เป็นการสิ้นเปลืองพลังงานในการหล่อเย็นซึ่งจะเพิ่มต้นทุนการผลิตเอทานอลมากขึ้น โดยถ้าต้องการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในระดับต่ำซึ่งจะต้องสิ้นเปลืองพลังงานในการหล่อเย็นสูง ในการทดลองที่

ตารางที่ 3.12.2 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์เมื่อนำน้ำหมักมาเติมสารอาหารตามสูตรอาหารแล้วนำกลับมาหมักเอทานอลอีกครั้ง ในการหมักแบบต่อเนื่องความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 170 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร

รอบของการนำกลับมาใช้ใหม่	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
1	216	0.00	99.77	33.46	0.16	4.46	30.0
	219	0.00	102.35	32.21	0.16	4.47	30.0
	222	0.00	106.21	31.61	0.14	4.49	30.0
	225	0.00	99.77	32.34	0.16	4.49	30.0
	228	0.00	95.27	31.51	0.15	4.48	30.0
2	291	0.00	102.99	20.61	**	4.66	30.0
	294	0.00	102.35	21.85	**	4.66	30.0
	294	0.00	104.60	22.20	**	4.64	30.0
	300	0.00	99.77	25.10	**	4.63	30.0
	303	0.00	99.13	25.83	**	4.62	30.0

หมายเหตุ : ** = มีค่าน้อยมาก

ผ่านมาจะควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ดังนั้นถ้าสามารถเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ควบคุมโดยไม่มี ผลกระทบต่อการผลิตเอทานอลก็จะเป็นการลดต้นทุนได้ ในการทดลองนี้จึงทำการแปรอุณหภูมิของระบบจาก 30 องศาเซลเซียส เป็น 25, 33และ 36 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งได้ทำการทดลองต่อจากข้อ 3.2.5.2 โดยเริ่มเติมอาหารกากน้ำตาลสำหรับผลิตเอทานอลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร ลงในระบบพร้อมปล่อยน้ำหมักออกจากระบบด้วยอัตราที่เท่ากันด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.10 ต่อชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ (ข้อ 2.6.1), ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ข้อ 2.6.3) และ ปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4) จนเชื้อเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ จากนั้นจึงเปลี่ยนอุณหภูมิการหมักเป็น 25 และ33 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่อุณหภูมิการหมัก 36 องศาเซลเซียสได้ทำการทดลองขึ้นรูปเซลล์ใหม่ ได้ขนาดเม็ดตรึงเซลล์ 2.15 x 3.20 มิลลิเมตร แล้วทำการทดลองเช่นเดิมได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.13.1 –3.13.2 และรูปที่ 3.13 จากตารางที่ 3.13.3 และ 3.13.4 จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส ยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ปริมาณใกล้เคียงกันคือเท่ากับ 67.67 และ 68.52 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้เท่ากับ 0.40 และ 0.45 ตามลำดับในขณะที่เพิ่มอุณหภูมิเป็น 33 และ 36 องศาเซลเซียส ปริมาณเอทานอลที่ได้มีค่าเท่ากับ 63.32 และ 29.84 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส และผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้เท่ากับ 0.42 และ 0.44 จากการทดลองนี้จึงเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นภาวะที่เชื้อยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ดีและไม่ต้องสิ้นเปลืองพลังงานในระบบหล่อเย็นเพื่อลดอุณหภูมิลง และมีค่าผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้ไปดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกที่จะควบคุมอุณหภูมิของระบบเป็น 30 องศาเซลเซียส เป็นภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอทานอล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

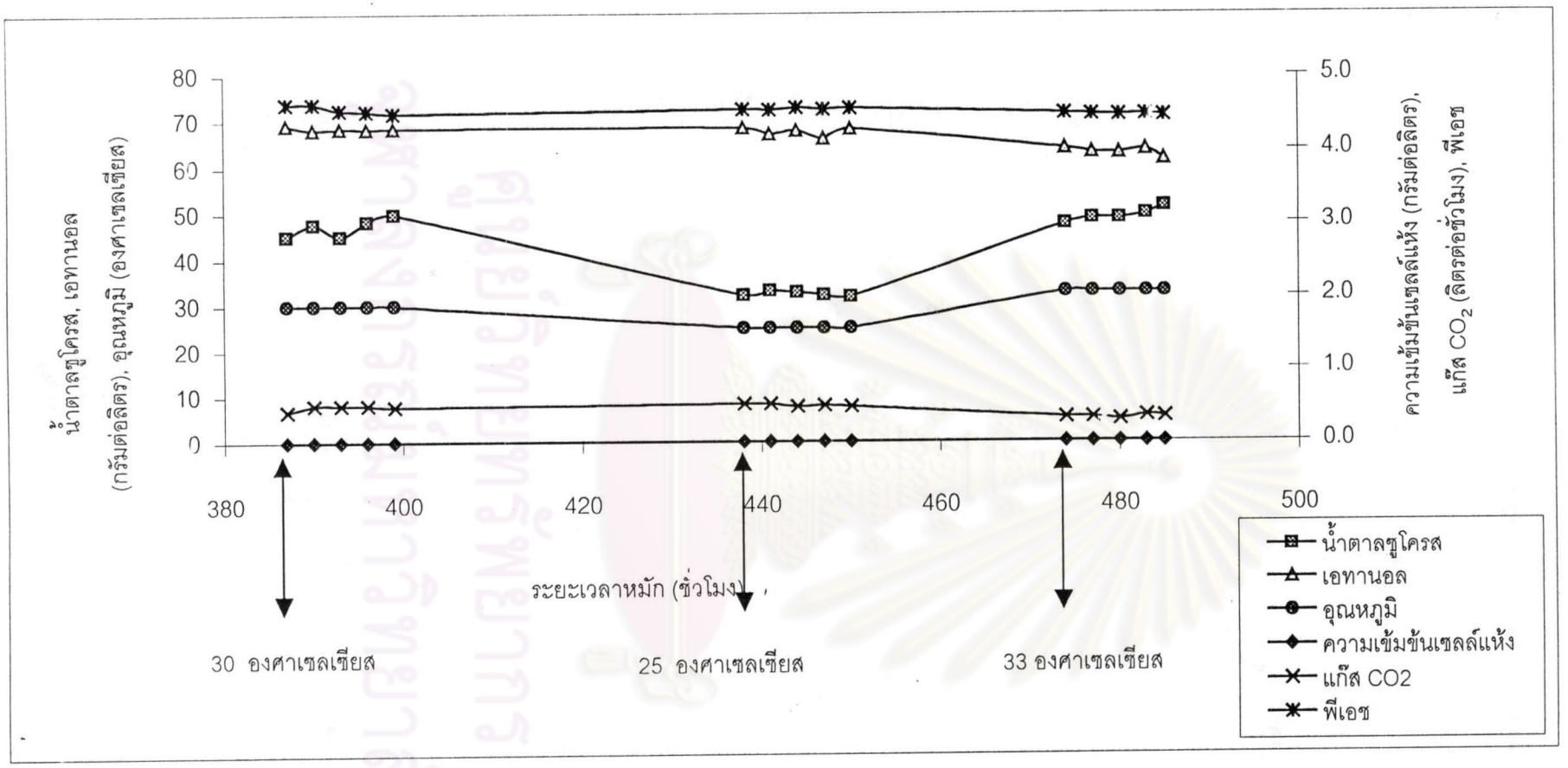
ตารางที่ 3.13.1 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์เมื่อแปรอุณหภูมิในการหมักแบบต่อเนื่องเป็น 25, 30และ33 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติมเข้าสู่ระบบเป็น 200 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
30	387	0.00	45.06	69.16	0.42	4.61	30.0
	390	0.00	47.63	68.15	0.50	4.61	30.0
	393	0.00	45.06	68.51	0.50	4.53	30.0
	396	0.00	48.28	68.27	0.50	4.51	30.0
	399	0.00	49.89	68.49	0.48	4.48	30.0
25	438	0.00	32.19	68.62	0.52	4.54	25.0
	441	0.00	33.15	67.22	0.51	4.53	25.0
	444	0.00	32.83	67.93	0.48	4.56	25.0
	447	0.00	32.19	66.31	0.49	4.54	25.0
	450	0.00	31.86	68.29	0.48	4.55	25.0
33	474	0.00	47.63	64.24	0.33	4.48	33.0
	477	0.00	48.92	63.33	0.33	4.47	33.0
	480	0.00	48.92	63.20	0.30	4.46	33.0
	483	0.00	49.89	63.96	0.35	4.47	33.0
	485	0.00	51.50	61.87	0.34	4.45	33.0

ตารางที่ 3.13.2 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์เมื่ออุณหภูมิในการหมักแบบต่อเนื่องเป็น 36 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติมเข้าสู่ระบบเป็น 200 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.15 x 3.20 มิลลิเมตร

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ช่วงเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเซลล์แห้งในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
36	48	0.00	145.18	29.42	**	4.57	36.0
	51	0.00	141.96	29.69	**	4.56	36.0
	54	0.00	142.60	31.42	**	4.56	36.0
	57	0.00	143.22	30.69	**	4.56	36.0
	60	0.00	145.70	28.00	**	4.56	36.0

หมายเหตุ : ** = มีค่าน้อยมาก



รูปที่ 3.13 การผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบต่อเนื่องด้วยระบบตรึงเซลล์ยีสต์ เมื่อแปรอุณหภูมิการหมักเป็น 25, 30 และ 33 องศาเซลเซียส ในการหมักแบบต่อเนื่องที่ความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.1 ต่อชั่วโมง ขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ 2.00 x 3.30 มิลลิเมตร ↕ คือเวลาการมักเข้าสู่ภาวะคงที่สม่ำเสมอที่แต่ละอุณหภูมิในการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่อง)

ตารางที่ 3.13.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรอุณหภูมิการหมักแบบต่อเนื่องเป็น 25, 30, 33และ36 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้นเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	แก๊ส CO_2 (ลิตรต่อชั่วโมง)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
25	0.00+/-0.00	32.44+/-0.53	67.67+/-0.92	0.50+/-0.02	4.54+/-0.01	25.0+/-0.00
30	0.00+/-0.00	47.18+/-2.11	68.52+/-0.39	0.48+/-0.04	4.55+/-0.06	30.0+/-0.00
33	0.00+/-0.00	49.37+/-1.44	63.32+/-0.92	0.33+/-0.02	4.47+/-0.01	33.0+/-0.00
36	0.00+/-0.00	143.73+/-1.63	29.84+/-1.30	**	4.56+/-0.00	36.0+/-0.00

หมายเหตุ : ** = มีค่าน้อยมาก

ตารางที่ 3.13.4 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญ การผลิตเอทานอลและการใช้น้ำตาลของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ภาวะคงที่สม่ำเสมอ เมื่อแปรอุณหภูมิการหมักแบบต่อเนื่องเป็น 25, 30, 33และ36 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นน้ำตาลในอาหารกากน้ำตาลที่เติม 200 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	น้ำตาลซูโครสที่ใช้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	เอทานอลต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตรเจลต่อชั่วโมง)	แก๊ส CO_2 ต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเอทานอลต่อน้ำตาลที่ใช้	ผลผลิตแก๊ส CO2ต่อน้ำตาลที่ใช้
25	0.00	2.51	1.02	3.38	0.90	0.40	0.36
30	0.00	2.29	1.03	3.43	0.85	0.45	0.37
33	0.00	2.26	0.95	3.17	0.58	0.42	0.26
36	0.00	1.02	0.45	1.49	**	0.44	**

หมายเหตุ : ** = มีค่าน้อยมาก