

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

จากการคัดเลือกเชื้อยีสต์จากลูกแป้งในท้องที่จังหวัดทางภาคใต้ สามารถแยกเชื้อยีสต์ได้ทั้งหมด 74 ไอโซเลต เมื่อนำไปคัดเลือกหาเชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติย่อยแป้งมันสำปะหลังได้ดีที่สุด พบว่า เชื้อยีสต์สายพันธุ์ YCY1 มีความสามารถย่อยแป้งมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้ดีที่สุด ซึ่งได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $3.53 \pm 0.06$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำไปศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคส พบว่าเชื้อยีสต์ YCY1 ให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลต่ำ (0.35 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร) หรือมีค่าประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 4.91 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎี

นำเชื้อยีสต์ทั้ง 74 ไอโซเลต ไปคัดเลือกเชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติในการผลิตเอทานอลได้สูงสุด พบว่า เชื้อยีสต์สายพันธุ์ YTB3 ให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้ดีที่สุด กล่าวคือสามารถผลิตเอทานอลได้ 4.88 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร

เมื่อนำเชื้อยีสต์สายพันธุ์ YCY1 และ YTB3 ไปจัดจำแนกสายพันธุ์เชื้อโดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสรีรวิทยา และลักษณะทางพันธุกรรมของยีสต์ โดยการวิเคราะห์ลำดับเบสใน D1/D2 domain ของ 26S rDNA พบว่า เชื้อสายพันธุ์ YCY1 คือเชื้อ *Saccharomycopsis* sp. และเชื้อยีสต์สายพันธุ์ YTB3 คือเชื้อยีสต์ *Pichia anomala*

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งมันสำปะหลัง โดยเชื้อยีสต์ *Saccharomycopsis* sp. YCY1 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์คือ ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรต่อปริมาตร ในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลัง 5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นองค์ประกอบ เขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ  $46 \pm 0.53$  กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 84 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎี

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคส โดยเชื้อยีสต์ *P. anomala* YTB3 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสโดยเชื้อ *P. anomala* YTB3 คือ ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรต่อปริมาตร ในอาหาร YM ที่มีน้ำตาลกลูโคส 18 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นองค์ประกอบ และปรับพีเอชให้ได้ 6.5 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ  $3.12 \pm 0.14$  เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรต่อปริมาตร หรือคิดเป็นประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 34 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎี

หลังจากได้สภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์โดยเชื้อ *Saccharomycopsis* sp. YCY1 และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสโดยเชื้อ

*P. anomala* YTB3 จากนั้นนำมาศึกษาหากระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง ได้แก่ การหมักแบบใช้เชื้อเดี่ยว การหมักแบบใช้เชื้อร่วม และการหมักแบบแยกกระบวนการผลิต นอกจากนี้ยังได้ทำการเปรียบเทียบปัจจัยในการผลิตเอทานอลอย่างอื่นอีก เช่น ปัจจัยของชนิดของการผลิตเอทานอล โดยการปิดจุกพลาสติกด้วยวัสดุที่แตกต่างกันคือ ปิดจุกพลาสติกด้วยสำลีหุ้มฟอล์ย และปิดจุกพลาสติกด้วย air lock และปัจจัยการผลิตเอทานอลระหว่างการใช้เชื้อ *P. anomala* YTB3 ที่แยกได้จากลูกแป้ง กับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5088 พบว่า ปัจจัยในการผลิตเอทานอลโดยการปิดจุกพลาสติกด้วยวัสดุที่แตกต่างกันมีผลต่อการผลิตเอทานอลไม่ว่าจะเป็นการหมักแบบใช้เชื้อเดี่ยว และการหมักแบบใช้เชื้อร่วม โดยการปิดจุกพลาสติกด้วย air lock จะให้การผลิตเอทานอลได้ดีที่สุด ปัจจัยในการผลิตเอทานอลระหว่างการใช้เชื้อ *P. anomala* YTB3 ที่แยกได้จากลูกแป้ง กับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5088 พบว่าการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5088 จะให้การผลิตเอทานอลได้ดีกว่าการหมักโดยใช้เชื้อ *P. anomala* YTB3 ทั้งในการหมักแบบใช้เชื้อร่วม และการหมักแบบแยกกระบวนการผลิต ส่วนปัจจัยในการผลิตเอทานอลโดยใช้กระบวนการหมักที่แตกต่างกัน พบว่า การหมักแบบใช้เชื้อเดี่ยวจะให้การผลิตเอทานอลสูงกว่าการหมักแบบใช้เชื้อร่วม และการหมักแบบแยกกระบวนการผลิต

สรุปจากการทดลองได้ว่า การหมักแบบใช้เชื้อเดี่ยวหรือเชื้อ *Saccharomycopsis* sp. YCY1 ลงในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลัง 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณยีสต์สกัด 0.3 เปอร์เซ็นต์ มอลสกัด 0.3 เปอร์เซ็นต์ และเปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 3 เปอร์เซ็นต์ และปิดจุกพลาสติกด้วย air lock จากนั้นนำไปหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง จะได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 5.72 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎี

### ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังโดยเชื้อ *S. fibuligara* YCY1 พบว่าให้ประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สูงถึง 84 เปอร์เซ็นต์ หากมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดและการทำงานของเอนไซม์ที่เชื้อผลิต แล้วนำไปใช้ประโยชน์ อาจนำผลที่ได้ไปช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลให้สูงขึ้นได้
2. จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยเชื้อ *P. anomala* YTB3 ได้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลเพียง 34 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากรายงานพบว่าเชื้อ *Pichia anomala* มีความสามารถในการผลิตสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งอาจนำไปศึกษาการผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปได้
3. จากการทดลองการหมักเอทานอลแบบใช้เชื้อเดี่ยวจะได้ปริมาณเอทานอลที่น้อย ซึ่งอาจจะต้องทำการศึกษาปัจจัยอย่างอื่นเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลที่สูงขึ้นกว่าเดิม
4. ในการเลี้ยงเชื้อแบบปิดจุฬพลาสติกด้วย air lock พบว่ายังคงมีปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ ดังภาพที่ 28 ซึ่งอาจเป็นผลจากอากาศเริ่มต้นหมดทำให้เชื้อหยุดการเจริญและการสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยแป้ง ทำให้เกิดการย่อยสลายแป้งไม่สมบูรณ์ จึงได้ผลผลิตที่ต่ำกว่าความเป็นจริง ซึ่งอาจนำไปศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการให้อากาศในระบบ air lock เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล