บทที่ 5

การอภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการคัดแยกคลอสตริเดียมที่สามารถผลิตบิวทานอลได้จากดินในแหล่งต่าง ๆ โดยใช้อาหารโฟเตโต เด็กโตรส บรอท พบว่ามีคลอสตริเดียม 13 สายพันธุ์ที่สามารถผลิตบิวทานอลได้ในปริมาณสูง โดยคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 3p-3 ผลิตบิวทานอลได้สูงล่าสุดเป็น 7.77 กรัมต่อลิตร Calam (28) ใช้วิธีเดียวกันนี้สามารถคัดแยก Clostridium acetobutylicum ซึ่งสามารถผลิตอาซีโตน-บิวทานอลได้ถึง 18-20 กรัมต่อลิตร เมื่อนำคลอสตริเดียมทั้ง 13 สายพันธุ์ ที่คัดแยกได้ไปเลี้ยงในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 ผลิตบิวทานอลได้สูงสุดเป็น 6.81 และ 7.29 กรัมต่อลิตร ในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลัง 5 และ 7% ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงสรุปว่าคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนและผลิตบิวทานอลได้ในปริมาณสูง เช่นเดียวกับ Clostridium acetobutylicum และ Clostridium butylicum (5)

จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตนในถังหมัก โดยคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเป็น 6.0 พบว่าสภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 37 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณตัวทำละลายรวมเป็น 9.16, 10.65 และ 9.26 กรัมต่อลิตร สรุปได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส แต่การหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณบิวทานอล และอาซีโตนสูงสุดเป็น 7.0 และ 3.53 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตน

จากการศึกษาความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตน พบว่าเมื่อควบคุมความเป็นกรดด่างเป็น 5.5, 6.0 และ 6.5 จะทำให้ตัวทำละลายรวมเป็น 11.61, 12.70 และ 12.55 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อไม่ควบคุมความเป็นกรดด่างระหว่างการหมัก (ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเป็น 6.0) ได้ตัวทำละลายรวมเป็น 10.65 กรัมต่อลิตร จึงสรุปได้ว่าการควบคุมความเป็นกรดด่างจะให้ตัวทำละลายรวมมากกว่าการหมักที่ไม่ควบคุมความเป็นกรดด่าง และการหมักที่ควบคุมความเป็นกรดด่างเป็น 6.0 จะให้ปริมาณบิวทานอล และอาซีโตนสูงสุดเป็น 7.97 และ 4.59 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 16) จึงเลือกการควบคุมความเป็นกรดด่างเป็น 6.0 อย่างไรก็ตาม หากมีการผลิตบิวทานอล อาซีโตน โดยคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 ในระดับอุตสาหกรรม จะต้องมีการศึกษาในเชิงเศรษฐศาสตร์ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างการหมักที่ควบคุมความเป็นกรดด่างได้ตัวทำละลายสูงกว่า แต่ต้องใช้กรดเพื่อปรับความเป็นกรดด่าง กับการไม่ควบคุมความเป็นกรดด่าง แต่ให้ตัวทำละลายน้อยลง Beech (18) รายงานว่าอุตสาหกรรมการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตน จะปรับความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเป็น 6.0-6.5 และไม่ควบคุมความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมัก แต่เติมแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นบัฟเฟอร์ จิรกานต์และคณะ (14) ศึกษาการหมักน้ำตาลจากการย่อยแป้งมันสำปะหลังเพื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตน โดย Clostridium butylicum NRRL B592 พบว่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 5.5-6.5 ให้ตัวทำละลายรวมเป็น 14.03 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสม พบว่าปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 5% เหมาะสมต่อการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตน โดยคลอสติเดียมสายพันธุ์ 8p-2 ผลิตตัวทำละลายรวมได้ 12.70 กรัมต่อลิตร การเปลี่ยนแป้งมันสำปะหลังเป็นตัวทำละลายคิดเป็น 27.23% เหลือแป้งจากการหมัก 3.37 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 4% คลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 สามารถใช้แป้งอย่างรวดเร็วและหมดภายใน 36 ชั่วโมง ได้ตัวทำละลายรวมเป็น 8.63 กรัมต่อลิตร สรุปได้ว่าปริมาณแป้ง 4% ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและการผลิตตัวทำละลาย ทำให้ได้ตัวทำละลายลดลง เมื่อใช้ปริมาณแป้ง 7% พบว่าได้ตัวทำละลายรวมเป็น 10.26 กรัมต่อลิตร การเปลี่ยนแป้งเป็นตัวทำละลายคิดเป็น 19.0% มีน้ำตาลเหลือจากการหมัก 16 กรัมต่อลิตรแสดงว่าเมื่อเพิ่มปริมาณแป้งมันสำปะหลังมากขึ้น ตัวทำละลายจะไม่เพิ่มขึ้นตามและปริมาณแป้งมากเกินพอสำหรับการผลิตตัวทำละลาย

การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการหมักเนื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตน โดยคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 เมื่อใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าสารสกัดจากยีสต์มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต และการสร้างตัวทำละลายของคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 ปริมาณของสารสกัดจากยีสต์ที่เหมาะสมและเพียงพอต่อการผลิตบิวทานอล อาซีโตน คือ 0.5% ได้ตัวทำละลายรวมเป็น 11.74 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามปริมาณของสารสกัดจากยีสต์ 0.8% จะให้ปริมาณตัวทำละลายได้สูงสุดเป็น 12.91 แต่เมื่อเปรียบเทียบผลต่างระหว่างปริมาณของตัวทำละลายที่ผลิตได้กับผลต่างระหว่างปริมาณของสารสกัดจากยีสต์ที่ใช้ พบว่าปริมาณของสารสกัดจากยีสต์ 0.5% จะเหมาะสมที่สุด (ตารางที่ 12) เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน สรุปได้ว่าการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.2% ร่วมกันกับสารสกัดจากยีสต์ 0.2% จะให้ตัวทำละลายรวมเพิ่มขึ้นเป็น 8.13 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเติมเฉพาะสารสกัดจากยีสต์ 0.2% ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งได้ตัวทำละลายรวมเป็น 7.39 กรัมต่อลิตร แต่การเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.2% ร่วมกันกับสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.4, 0.5 และ 0.6 เปอร์เซนต์ จะได้ตัวทำละลายรวมลดลงเมื่อเทียบกับการเติมเฉพาะสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.4, 0.5 และ 0.6% จึงสรุปว่าการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.2% ร่วมกันกับสารสกัดจากยีสต์ในปริมาณ 0.4, 0.5 และ 0.6% จะไม่เพิ่มการเจริญเติบโตและการสร้างตัวทำละลายรวมของคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 แสดงว่าการเติมเฉพาะสารสกัดจากยีสต์ 0.2% จะยังไม่พอเพียงสำหรับการเจริญเติบโตและการสร้างตัวทำละลาย แต่การเติมเฉพาะสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.4, 0.5 และ 0.6% จะเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและการสร้างตัวทำละลายของคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 จากรายงานการวิจัยหลายฉบับพบว่าปริมาณของสารสกัดจากยีสต์ที่เหมาะสมต่อการผลิตอาซีโตน บิวทานอล จะอยู่ในช่วง 0.4-0.6% (33, 36, 37) Prescott และ Dunn (6) รายงานว่า ในสารสกัดจากยีสต์มีไบโอติน และกรดอะมิโนเบนโซอิค ซึ่งสารดังกล่าวเป็นปัจจัยการเจริญ (Growth factor) ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของคลอสตริเดียมที่ผลิตบิวทานอล อาซีโตน (20)

การศึกษาผลของแมกนีเซียมซัลเฟตต่อการเจริญเติบโต และการสร้างตัวทำละลายโดยคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 พบว่าปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 0.03% จะส่งเสริมการเจริญเติบโต และการสร้างตัวทำละลาย โดยผลิตตัวทำละลายได้สูงสุดเป็น 14.03

กรัมต่อลิตร การเปลี่ยนแป้งเป็นตัวทำละลายรวมเป็น 29.22% เมื่อไม่เติมแมกนีเซียมซัลเฟต พบว่าได้ตัวทำละลายลดลง (ตัวทำละลายรวม 9.26 กรัมต่อลิตร) การเจริญเติบโตไม่ดี การเปลี่ยนแปลงเป็นตัวทำละลายรวมเป็น 22.86% และได้ปริมาณกรดสูง (กรดบิวทิริค และกรดอะเซติก) เป็น 6.57 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาสภาวะต่าง ๆ ในการเลี้ยงเชื้อคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 เพื่อผลิตบิวทานอล อาซีโตน จากแป้งมันสำปะหลัง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมเป็นดังนี้ อุณหภูมิในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส ควบคุมความเป็นกรดด่างเป็น 6.0 อาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก. หมายเลข 3) ที่มีปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 5%, สารสกัดจากยีสต์ 0.5%, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.03% ผลิตตัวทำละลายรวมได้สูงสุดเป็น 14.03 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตบิวทานอล อาซีโตนกับ Clostridium butylicum NRRL B592 โดยใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า คลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 ผลิตบิวทานอล และอาซีโตน อยู่ในเกณฑ์ดี ดังแสดงไว้ในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตบิวทานอล อาซีโตน จากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง โดยคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 กับ Clostridium butylicum NRRL B592

ชนิดของจุลินทรีย์	สารอาหาร	ตัวทำละลายรวม (ก./ล.)	เอกสารอ้างอิง
คลอสตริเดียม สายพันธุ์ 8p-2	แป้งมันสำปะหลัง 5%	14.03	งานวิจัยนี้
Clostridium butylicum NRRL B592	น้ำตาลจากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 5%	14.03	14

จากการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตบิวทานอล อาซิโตน พบว่า คลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 สามารถใช้แป้งมันสำปะหลังและผลิตตัวทำละลายได้เท่ากับการใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังโดย Clostridium butylicum NRRL B592 ฉะนั้นการใช้คลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 ผลิตบิวทานอล อาซิโตน จากแป้งมันสำปะหลังจะลดขั้นตอนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลได้ นอกจากนี้ ยังพบว่าคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 สามารถผลิตบิวทานอล อาซิโตน ได้ปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 25-30 ของการหมัก ซึ่งในอุตสาหกรรมการหมักเพื่อผลิตบิวทานอล-อาซิโตน จากแป้งธัญพืช การหมักจะเสร็จสมบูรณ์ภายในระยะเวลา 50-60 ชั่วโมง (18) ดังนั้นคลอสตริเดียมสายพันธุ์ 8p-2 จึงจัดว่ามีประโยชน์ที่จะนำไปใช้ในการผลิตบิวทานอล อาซิโตนได้ อย่างไรก็ตามสารที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน คือสารสกัดจากยีสต์มีราคาแพง ฉะนั้นการหาแหล่งไนโตรเจนที่ถูกกว่าและใช้ทดแทนกันได้จึงจะสามารถลดต้นทุนการผลิตได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย