บทที่ 6

วิจารณ์

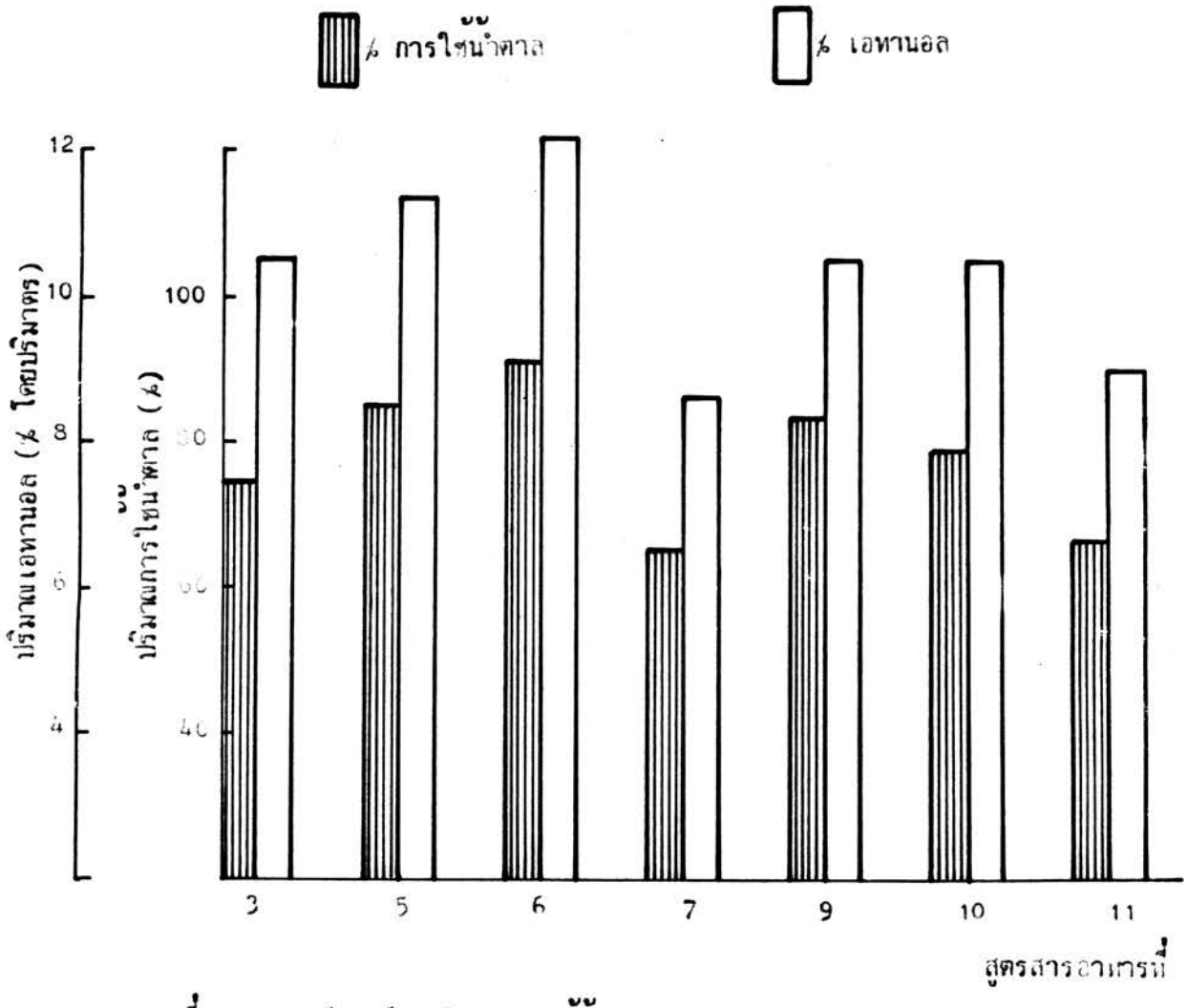
6.1 การทดลองในขวดแก้วเขย่า

การทดลองนี้เป็นการทดลองหาสูตรสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เพื่อเป็นแนวทางและเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำไปใช้ในขบวนการหมักในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ ซึ่งได้เลือกใช้เกลือแร่ในรูปของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารเสริม ดังแสดงในตารางที่ 4-1 โดยหมักกับเชื้อยีสต์ในเวลาการหมักเท่า ๆ กัน และจำนวนเชื้อหมักเริ่มต้นเท่า ๆ กัน เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองถึงชนิดและปริมาณของสารอาหารเสริมต่าง ๆ ที่เหมาะสม พบว่า สูตรสารอาหารที่ 6 ให้ค่าดีที่สุด แล้วเทียบกับสูตรสารอาหารที่ใช้อยู่เดิม คือ สูตรสารอาหารที่ 4 ของ (นิคม ติปะวาโร, 2521) ซึ่งใช้ในปริมาณ 0.5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปรากฏว่า สูตรสารอาหาร 6 ยังให้ผลดีกว่าสูตรสารอาหารที่ 4 และยังใช้ในปริมาณ 0.05% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งน้อยกว่าสูตรสารอาหารที่ใช้อยู่เดิมถึง 10 เท่า แสดงให้เห็นว่าในน้ำสับปะรดต้องการสารอาหารเสริมอีกเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ก็จะทำให้ขบวนการหมักสมบูรณ์ ดังนั้นในการทดลองเบื้องต้น สูตรสารอาหารที่ 6 จึงเป็นสูตรสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตเอทานอลในขวดแก้วเขย่า ซึ่งผลการเปรียบเทียบต่าง ๆ แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-1, 6-2 และ 6-3

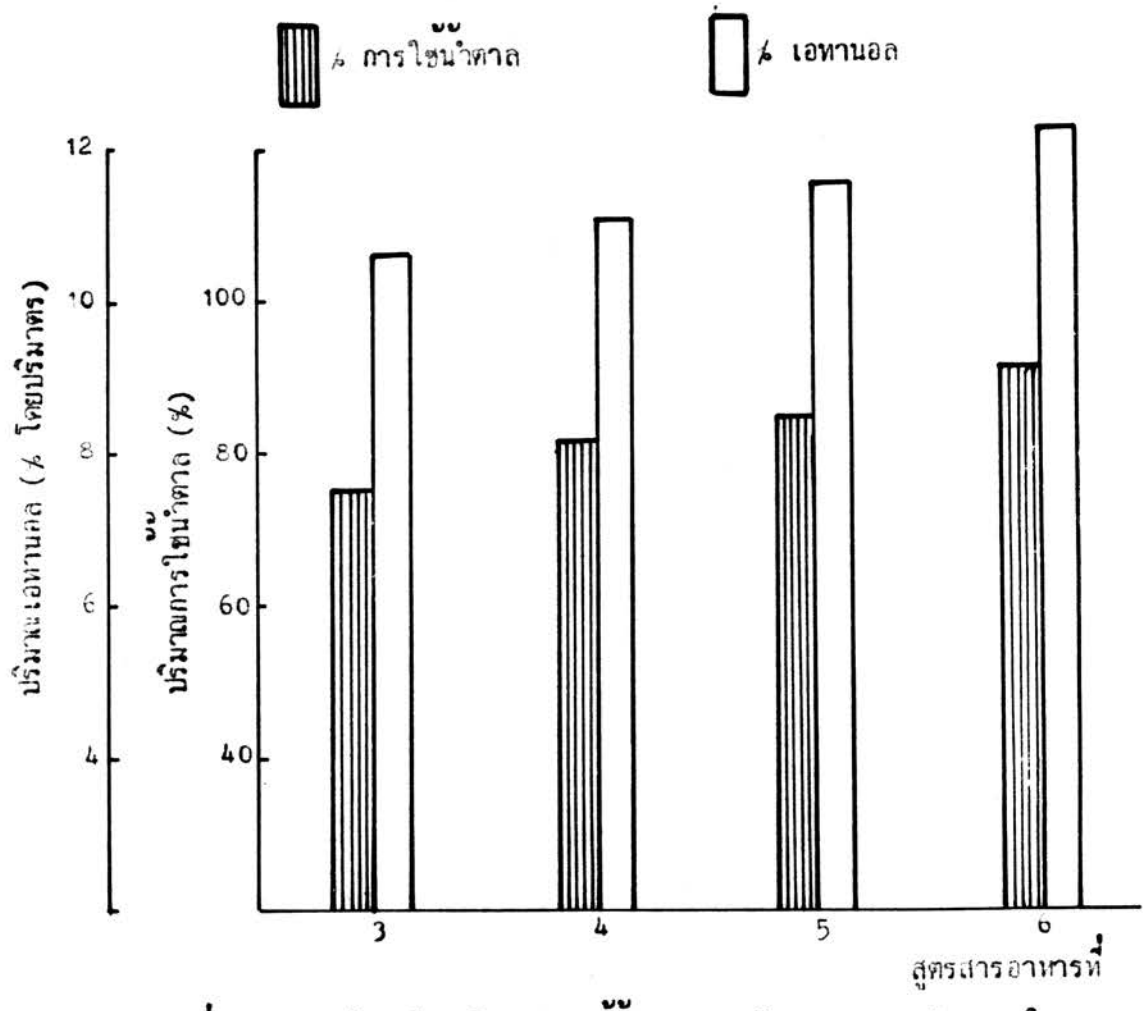
6.2 การทดลองในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง

การทดลองนี้เพื่อหาตัวแปรต่าง ๆ ในการหมักน้ำตาลในน้ำสับปะรดให้เป็นเอทานอล จำเป็นต้องมีตัวแปรที่มาเกี่ยวข้องไม่มากเกินไปที่จะควบคุมให้คงที่ได้ และได้อาศัยข้อมูลพื้นฐานเดิมที่ได้ทดลองไว้แล้วเป็นตัวเปรียบเทียบ ฉะนั้นการทดลองหาตัวแปรต่าง ๆ นั้นจึงได้ใช้การทดลองแบบไม่ต่อเนื่อง

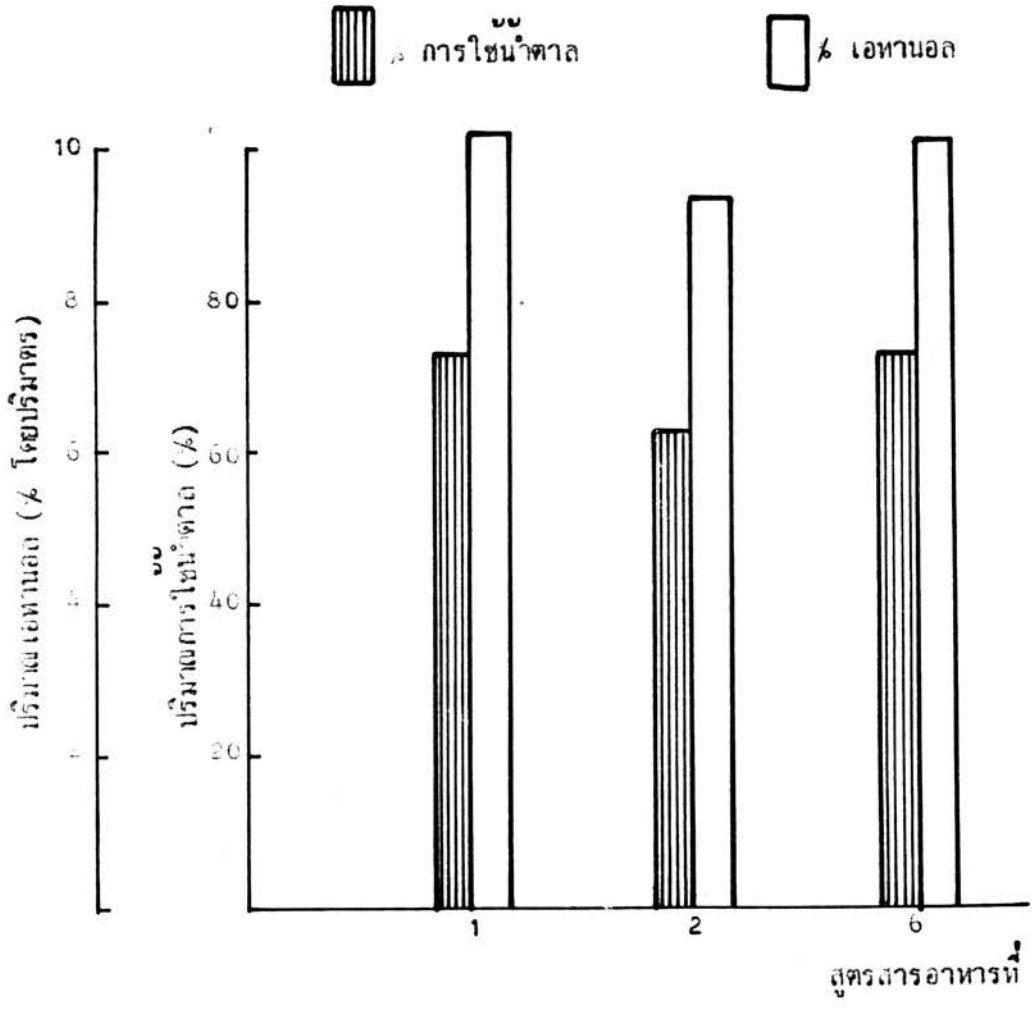
ในการทดลอง เพื่อทดสอบอิทธิพลของท่อปั่นย้อนกลับที่มีผลต่อขบวนการหมัก โดยทำการ



รูปที่ 6-1 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอล โดยเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เมื่อใช้สูตรสารอาหารชนิดต่าง ๆ กันในขวดแก้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 240 รอบต่อนาที



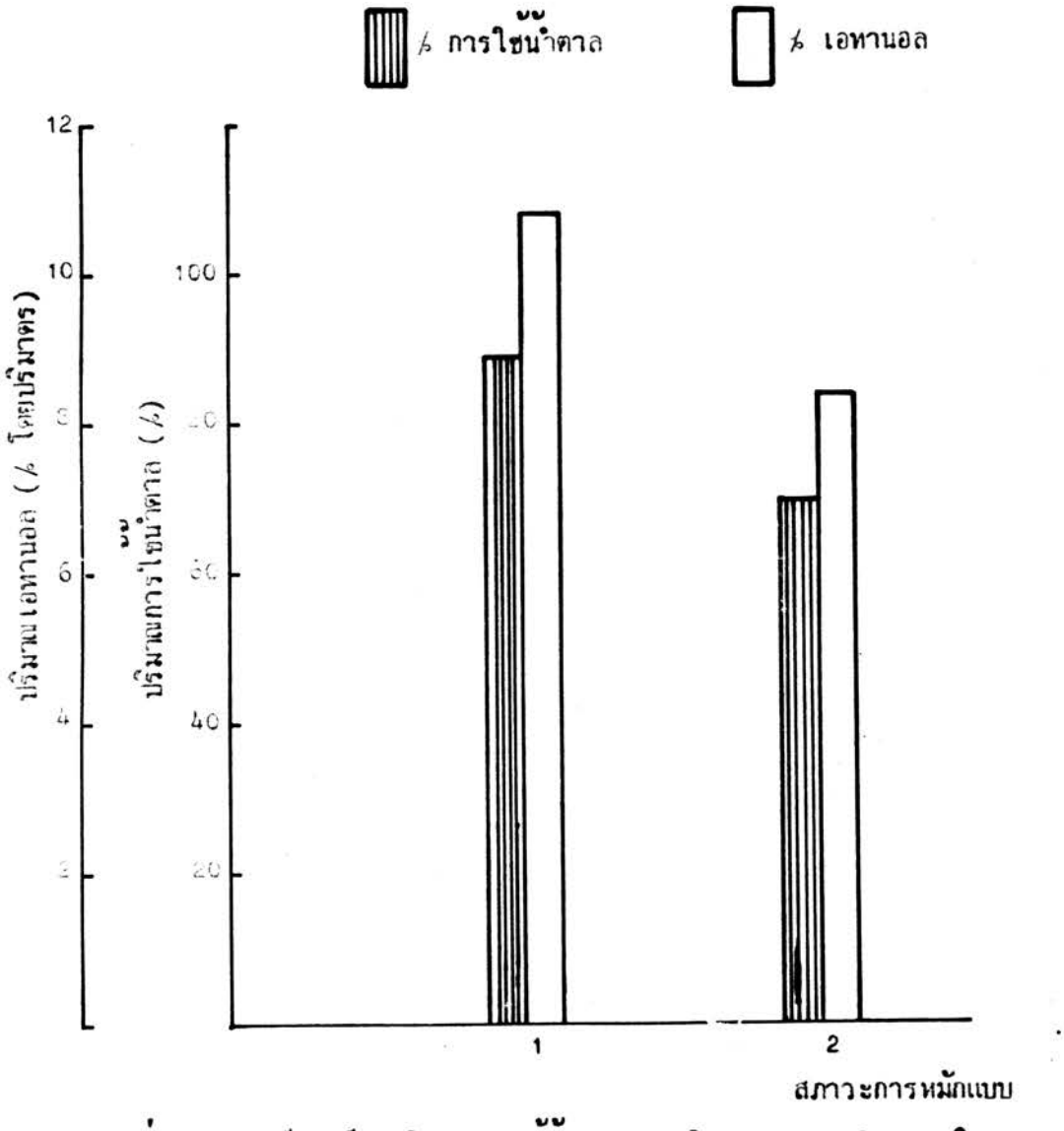
รูปที่ 6-2 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เมื่อใช้สูตรสารอาหารชนิดต่าง ๆ กัน ในขวดแก้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 240 รอบต่อนาที



รูปที่ 6-3 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอล ของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เมื่อใช้สูตรสารอาหารในปริมาณต่าง ๆ กันในขวดแก้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 240 รอบต่อนาที

เปรียบเทียบอิทธิพลการมีและไม่มีการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักในท่อป้อนย้อนกลับต่อการทดลอง โดยขั้นแรกจะทำการเปรียบเทียบการหมักแบบให้และไม่ให้อากาศเลย ในช่วงแรกของการหมัก ซึ่งใช้เวลาในการหมักเท่า ๆ กันคือ 22 ชั่วโมง พบว่า ชบวนการหมักแบบให้อากาศในช่วงแรกของการหมักนั้นจะให้ค่าต่าง ๆ ดีกว่าชบวนการหมักแบบไม่ให้อากาศเลย เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลในเวลาการหมักทั้งหมด 22 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าในชบวนการหมักแบบให้อากาศในช่วงแรกนั้นจะให้ผลดีกว่าชบวนการหมักแบบไม่ให้อากาศเลยถึง 22% ซึ่งค่าเปรียบเทียบต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-4 อาจจะกล่าวได้ว่าชบวนการหมักแบบให้อากาศในช่วงแรกนั้น จะทำให้เซลล์ยีสต์สามารถปรับตัวในเข้ากับน้ำตาลในน้ำสับปะรดที่ต้องการย่อยสลายก่อน เพื่อเป็นการเหนี่ยวนำให้ยีสต์สร้างเอ็นไซม์ที่ต้องการได้ และทำให้ลดปริมาณการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นลงไปได้ ดังนั้นชบวนการหมักแบบให้อากาศในช่วงแรกนั้นจะช่วยเพิ่มปริมาณของเซลล์ยีสต์ให้มากซึ่งตรงกับจุดมุ่งหมายของชบวนการหมักที่มุ่งที่จะให้มีเซลล์ที่มีชีวิตในเครื่องหมักเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้เพื่อให้มีระยะเวลาการหมักสั้นก็จะลดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการหมักของยีสต์ลง ทำให้ประสิทธิภาพการหมักดีขึ้น และยังลดค่าใช้จ่ายอื่น ๆ ลง จึงเป็นการแสดงให้ว่าชบวนการหมักในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ไม่ใช่ชบวนการหมักในเครื่องหมักแบบธรรมดา โดยสังเกตุความแตกต่างในการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ในช่วงแรกของการหมัก จากกราฟรูปที่ 5-10 และ 5-11 ที่ชั่วโมงที่ 4 ของการหมัก

การทดลองเปรียบเทียบชบวนการหมักเมื่อทำให้น้ำหมักไหลและไม่ไหลหมุนเวียนในท่อป้อนย้อนกลับ ซึ่งป้อนอากาศในปริมาณ 0.5 ปริมาตรอากาศ ต่อปริมาตรน้ำหมัก ต่อนาที ในช่วงแรกของการหมัก พบว่า ชบวนการหมักเมื่อทำให้น้ำหมักไหลหมุนเวียนในท่อป้อนย้อนกลับจะให้ผลดีกว่าเมื่อไม่ทำให้น้ำหมักไหลหมุนเวียน โดยเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลในเวลาการหมักทั้งหมด 13 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่า ในชบวนการหมักเมื่อทำให้น้ำหมักไหลหมุนเวียนในท่อป้อนย้อนกลับจะให้ผลดีกว่าถึง 10% ดังนั้นการทำให้น้ำหมักไหลหมุนเวียนในท่อป้อนย้อนกลับ จึงเป็นการเพิ่มปริทธิภาพของการหมักให้สูงขึ้น ซึ่งอาจจะกล่าวได้ว่าการไหลหมุนเวียนน้ำหมักในท่อป้อนย้อนกลับ ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ได้ให้ประโยชน์แก่ชบวนการหมัก เพราะทำให้เกิดการไหลเวียนของน้ำหมักผ่านหัวกระจายอากาศตลอดเวลา น้ำหมักได้สัมผัสกับอากาศบริสุทธิ์ที่เพิ่งออกจากหัวกระจาย ซึ่งมีปริมาณ

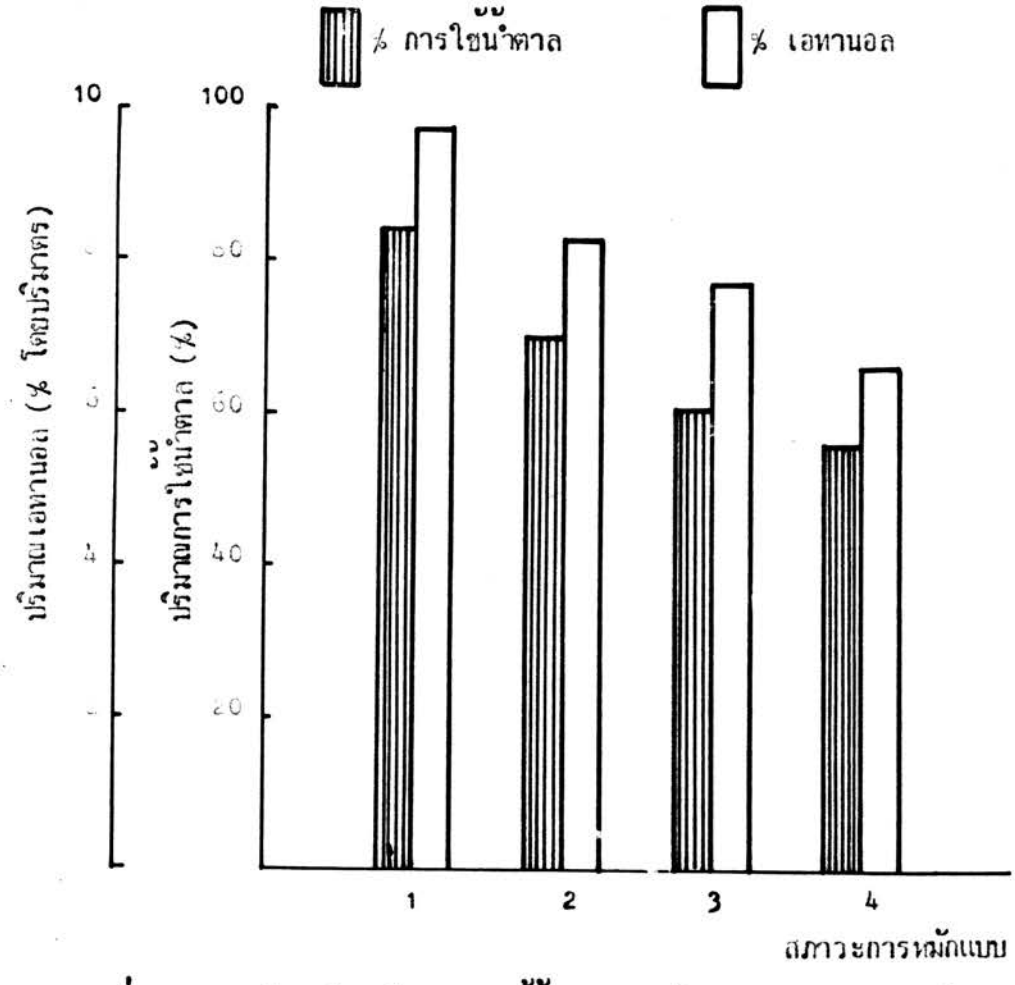


รูปที่ 6-4 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอล ของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus ในชบวนการหมักแบบให้และไม่ให้อากาศในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง

ออกซิเจนสูง จากการไหลเวียนของน้ำหมักทำให้การผสมผสานเกิดได้ดีและเร็วขึ้น ด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้พอสรุปได้ว่าการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักช่วยลดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการหมักของเชื้อยีสต์ลง อันเป็นผลทำให้มีการเพิ่มปริมาณเซลล์เชื้อหมักในช่วงแรกของการทดลองมีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้น สังเกตุความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์จากรูปที่ 5-14 และ 5-15 โดยเฉพาะที่ชั่วโมงที่ 4 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในการผลิตยีสต์ C.utilis จากน้ำสับปะรดของ (อำนวย สุขเหมือน, 2521)

ดังนั้นจึงเลือกขบวนการหมักในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ โดยมีการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักในท่อป้อนย้อนกลับ โดยป้อนอากาศในปริมาณ 0.5 ปริมาตรอากาศ ต่อปริมาตรน้ำหมัก ต่อนาที ในช่วงแรกของการหมักต่อไป สำหรับผลการเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-5

ในการทดลองเพื่อหาสูตรสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ และเทียบกับสูตรสารอาหารที่ใช้อยู่เดิม ซึ่งได้เลือกใช้เกลือแร่ในรูปของ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และแมกเนเซียม เป็นสารอาหารเสริม ดังแสดงในตารางที่ 4-2 โดยหมักกับเชื้อยีสต์ในเวลาการหมักเท่า ๆ กัน และจำนวนเชื้อหมักเริ่มต้นเท่า ๆ กัน เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองถึงชนิดและปริมาณของสารอาหารเสริมต่าง ๆ ที่เหมาะสม พบว่า สูตรสารอาหารที่ 7 จะให้ค่าสูงในขั้นต้น แล้วเทียบกับสูตรสารอาหารที่ใช้อยู่เดิมของ (นิคม ติปะวาโร, 2523) ก็สอดคล้องกับการทดลองในขวดแก้วเขย่า คือสามารถใช้ปริมาณสารอาหารเสริมน้อยกว่าสูตรสารอาหารที่ใช้อยู่เดิมถึง 10 เท่า จากนั้นได้ทำการทดลองเพิ่มเติม โดยเติม แมกเนเซียม ซัลเฟต ในปริมาณ 0.01% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงในสูตรสารอาหารที่ 7 ซึ่งแสดงในตารางที่ 4-2 จะเป็นสูตรสารอาหารที่ 1 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันก็พบว่าสูตรสารอาหารที่ 1 จะให้ค่าที่ใกล้เคียงกับสูตรสารอาหารที่ 7 ยกเว้นค่าความเข้มข้นของเซลล์เท่านั้นที่ให้ค่าสูงกว่า แสดงว่าการเติม แมกเนเซียม ในรูปแมกเนเซียม ซัลเฟต เสริมเพียงเล็กน้อยทำให้อัตราการเจริญของเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้น จากการทดลองนี้อาจกล่าวได้ว่า การเติมเกลือแมกเนเซียมลงไปมีความสำคัญโดยเฉพาะในการเติมเชื้อหมักเริ่มต้น จุดประสงค์เพื่อต้องการเตรียมเชื้อยีสต์ในปริมาณมาก ๆ จึงเหมาะสมในการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นเป็นอย่างยิ่ง การที่เลือก เกลือ แอมโมเนียม ซัลเฟต และ ไดแอมโมเนียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต เป็นสารอาหารเสริมที่เหมาะสมที่สุด จาก



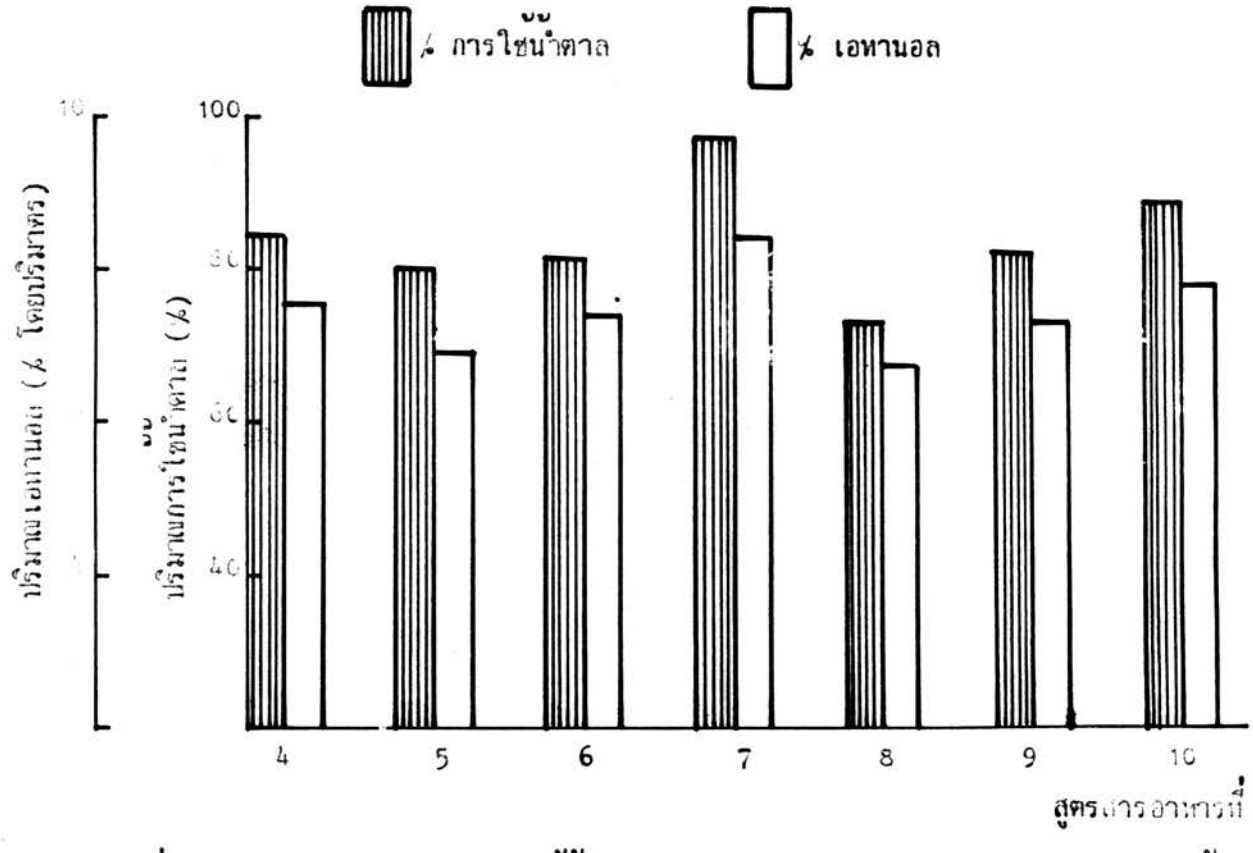
รูปที่ 6-5 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอลของเชื้อ S.ellipsoideus ในขบวนการหมักแบบมีและไม่มีการไหลหมุนเวียนของน้ำหมักในท่อป้อนย้อนกลับ ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง

การสังเกตุก็พบว่า ถ้าใช้เกลือแร่ในรูปไนโตรเจนอื่นแทน แอมโมเนียม ซัลเฟต อย่างเช่น ยูเรีย ถึงแม้ยูเรียจะมีราคาถูกและเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีสำหรับเชื้อยีสต์ โดยเฉพาะการเจริญในช่วงการหมักแบบให้อากาศ เพราะยูเรียสลายตัวต่อไปอย่างรวดเร็ว (สังเกตุจากกราฟรูปที่ 5-18 และ 5-19) แต่ไม่เหมาะกับสภาพที่ปราศจากอากาศ เนื่องจากความเป็นกรด-ด่างในสารอาหารจะเปลี่ยนเป็นกรดมาก (สังเกตุจากรูปที่ 5-21) นอกจากนี้ยังเกิด fusel oil หรือ higher alcohol มากกว่าการใช้เกลือแอมโมเนียม ซึ่งมีผลต่อการหมักของยีสต์ทั้งสิ้น จากการทดลองของ Zngram พบว่า amyl alcohol เพียง 0.6% (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้โดยเด็ดขาดในสภาพที่ปราศจากอากาศ และมีผลยิ่งขึ้นถ้าอุณหภูมิที่ใช้หมักสูงขึ้น สำหรับ แอมโมเนียม คลอไรด์ ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน คือเมื่อให้ไนโตรเจนแล้ว ก็จะเหลือคลอไรด์ อิออน ซึ่งจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อหมัก (Rose และ Harrison, 1971) ส่วนเกลือ แอมโมเนียม ซัลเฟต ได้มีผู้ศึกษาทดลองมาแล้ว พบว่าใช้ได้ดีกว่าทั้งยังเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ด้วย ดังนั้นจึงได้เลือก แอมโมเนียม ซัลเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน สำหรับการเลือกใช้เกลือ ไดแอมโมเนียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต เป็นแหล่งฟอสฟอรัสนั้น เพราะเกลือฟอสเฟตของแอมโมเนียมจะเป็นแหล่งให้ทั้ง ฟอสฟอรัส และไนโตรเจน ถึงแม้ว่าเกลือฟอสเฟตของ โปตัสเซียม โดยเฉพาะ โปตัสเซียม ไดไฮโดเจน ฟอสเฟต ให้ผลที่ใกล้เคียงกับเกลือฟอสเฟตของแอมโมเนียม อาจเป็นเพราะในน้ำสับปะรดมีแร่ธาตุโปตัสเซียมเพียงพอแล้วก็ได้ (ดูในตารางที่ 3-2) ดังนั้นเกลือฟอสเฟตของแอมโมเนียมจึงให้ผลดีกว่าเกลือฟอสเฟตของโปตัสเซียม สำหรับการเติมแมกเนเซียม เสริมเพียงเล็กน้อย ทำให้อัตราการเจริญของเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้น จึงจัดได้ว่าจำเป็นที่จะต้องมีอยู่ในสารอาหาร โดยเฉพาะในการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้น เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองซึ่งได้แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-5 พบว่า เมื่อเติมสารอาหารเสริมลงในสารละลายน้ำสับปะรดจะลดเวลาในการหมักลงได้ถึง 15% เมื่อไม่เติมสารอาหารเสริมแสดงว่าถ้าต้องการให้เซลล์ยีสต์เจริญไปได้ด้วยดี และผลิตเอทานอลอย่างมีประสิทธิภาพแล้ว จะต้องเติมเกลือแร่ในรูปของ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ แมกเนเซียม ลงในสารละลายน้ำสับปะรด ซึ่งเสริมอีกเล็กน้อยเท่านั้น ก็จะทำให้ขบวนการหมักดำเนินไปได้ดี

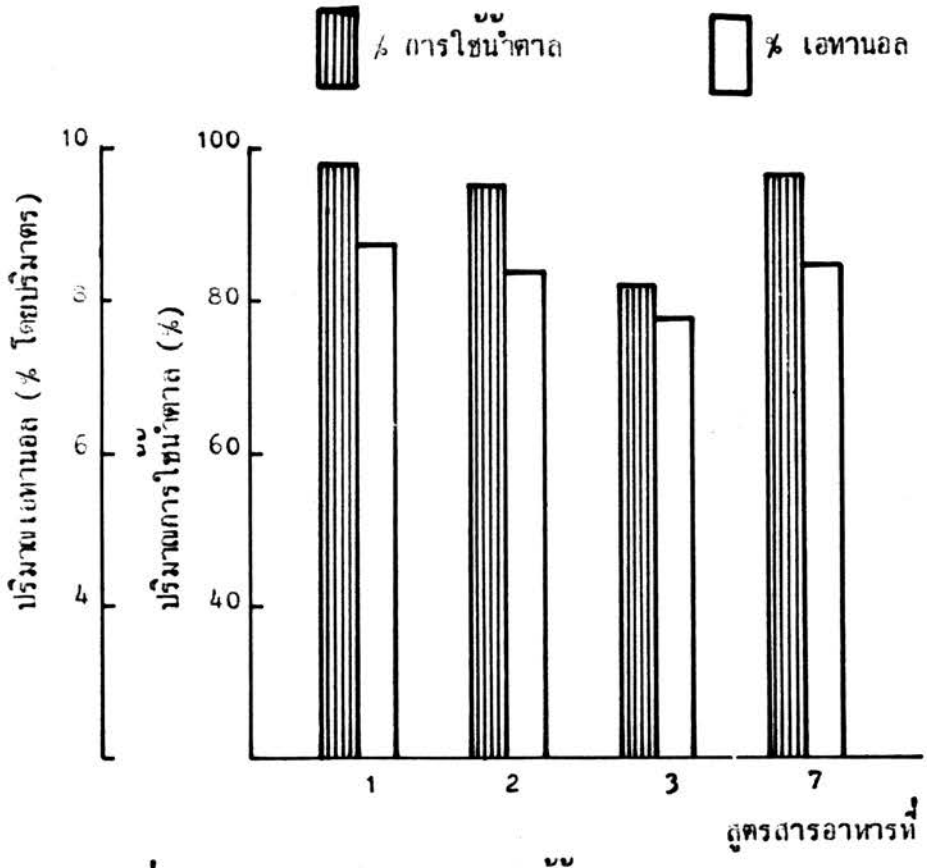
จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้เลือก แอมโมเนียม ซัลเฟต ไดแอมโมเนียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต

อย่างละ 0.05% และแมกเนเซียม ซัลเฟต 0.01% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นสารอาหารเสริม ทำการทดลองต่อไป ซึ่งผลการเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-6 และ 6-7

ในการทดลองหาความเหมาะสมของปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลในน้ำสับปะรดที่จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด โดยใช้ระยะเวลาหมักสั้น ในตอนที่หนึ่งของการทดลองใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 14, 18, 20, 25 และ 30 องศาบริกซ์ (ปรับความเข้มข้นน้ำตาลในน้ำสับปะรดด้วยน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์) เป็นสารอาหาร ซึ่งไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีใด ๆ ทั้งสิ้น เนื่องจากไม่มีความจำเป็นที่ไปฆ่าเชื้ออื่น เพราะจุดประสงค์เป็นการผลิตเอทานอล เอทานอลที่ได้นำไปกลั่นอีกครั้งหนึ่ง และถ้าหากมีเชื้ออื่น ๆ ปนมาบ้าง แต่เมื่อใส่เชื้อยีสต์ปริมาณมาก ๆ ลงไป เชื้ออื่น ๆ ที่มีปริมาณน้อยกว่าก็จะสู้เชื้อยีสต์ที่ใส่ลงไปไม่ได้ ประกอบกับสภาพแวดล้อมของการหมักเหมาะกับการเจริญของยีสต์มากกว่าด้วย อย่างเช่น การควบคุมความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ 4.5 ก็แทนการฆ่าเชื้อได้ จึงช่วยลดพลังงานในการฆ่าเชื้อและลดค่าใช้จ่ายลงได้ เนื่องจากการฆ่าเชื้อในสารอาหารต้องใช้ค่าใช้จ่ายมาก แล้วนำผลมาเปรียบเทียบกัน จึงพบว่า สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 14, 18 และ 20 องศาบริกซ์ จะได้ปริมาณเอทานอล 8.7, 10.9 และ 12.6% โดยปริมาณในเวลาการหมักทั้งหมด 13, 16 และ 22 ชั่วโมง ตามลำดับ ปริมาณการใช้น้ำตาล 97% แต่เมื่อใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 25 และ 30 องศาบริกซ์ จะได้ปริมาณเอทานอล 12.8% และ 11.9% โดยปริมาตร ในเวลาการหมัก 22 ชั่วโมง ปริมาณการใช้น้ำตาล 81% และ 70% ตามลำดับ ซึ่งจะเหลือน้ำตาลในน้ำหมักในปริมาณสูง แสดงว่าสารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 20 องศาบริกซ์ จะมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ ถึงแม้ว่าที่ความเข้มข้นน้ำตาลสูง เชื้อยีสต์ยังทำงานได้ แต่ประสิทธิภาพการทำงานได้ช้าลง นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นน้ำตาลสูง ยังมีผลต่อการให้อากาศแก่น้ำหมักในช่วงแรกของการทดลอง เนื่องจากความหนืดของสารละลาย (สังเกตุจากกราฟที่แสดงความเข้มข้นของเชลล์ที่ชั่วโมงที่ 4) จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้ได้ปริมาณเอทานอลน้อยลง เมื่อเทียบกับปริมาณการใช้น้ำตาลกับเอทานอลที่ได้ในจำนวนชั่วโมงที่เท่ากัน ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ จึงสามารถเลือกใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาลตั้งแต่ 14-20 องศาบริกซ์ เป็นสารอาหาร ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นน้ำตาลที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงและใช้ระยะเวลาพอสมควร แต่ที่จะให้อัตราส่วนของเอทานอลต่อระยะเวลาสูงสุด คือ ที่



รูปที่ 6-6 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอล ในการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เมื่อใช้สูตรสารอาหารชนิดต่าง ๆ กัน ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง

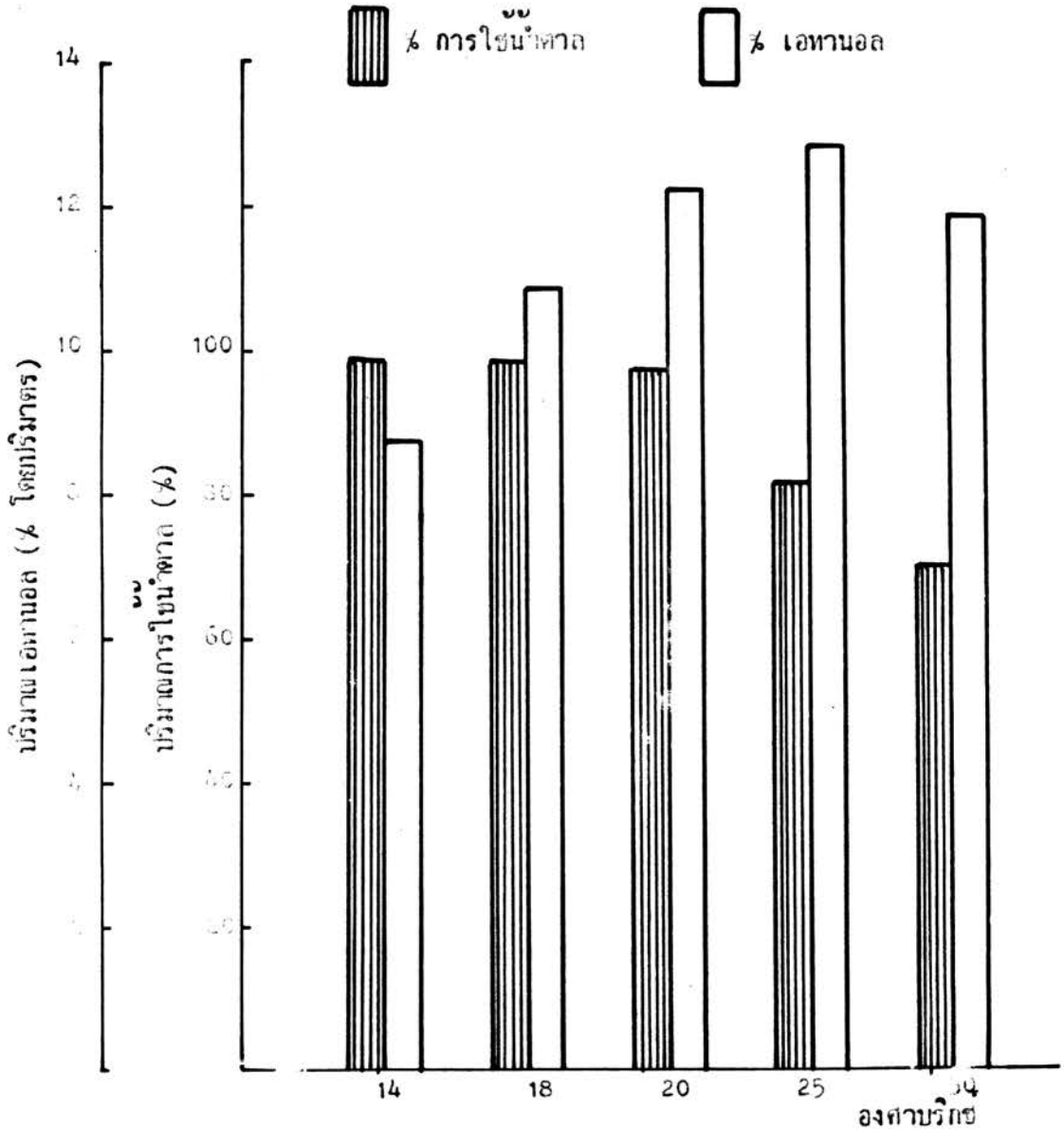


รูปที่ 6-7 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอล ในการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เมื่อใช้สูตรสารอาหารในปริมาณต่าง ๆ กัน ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง

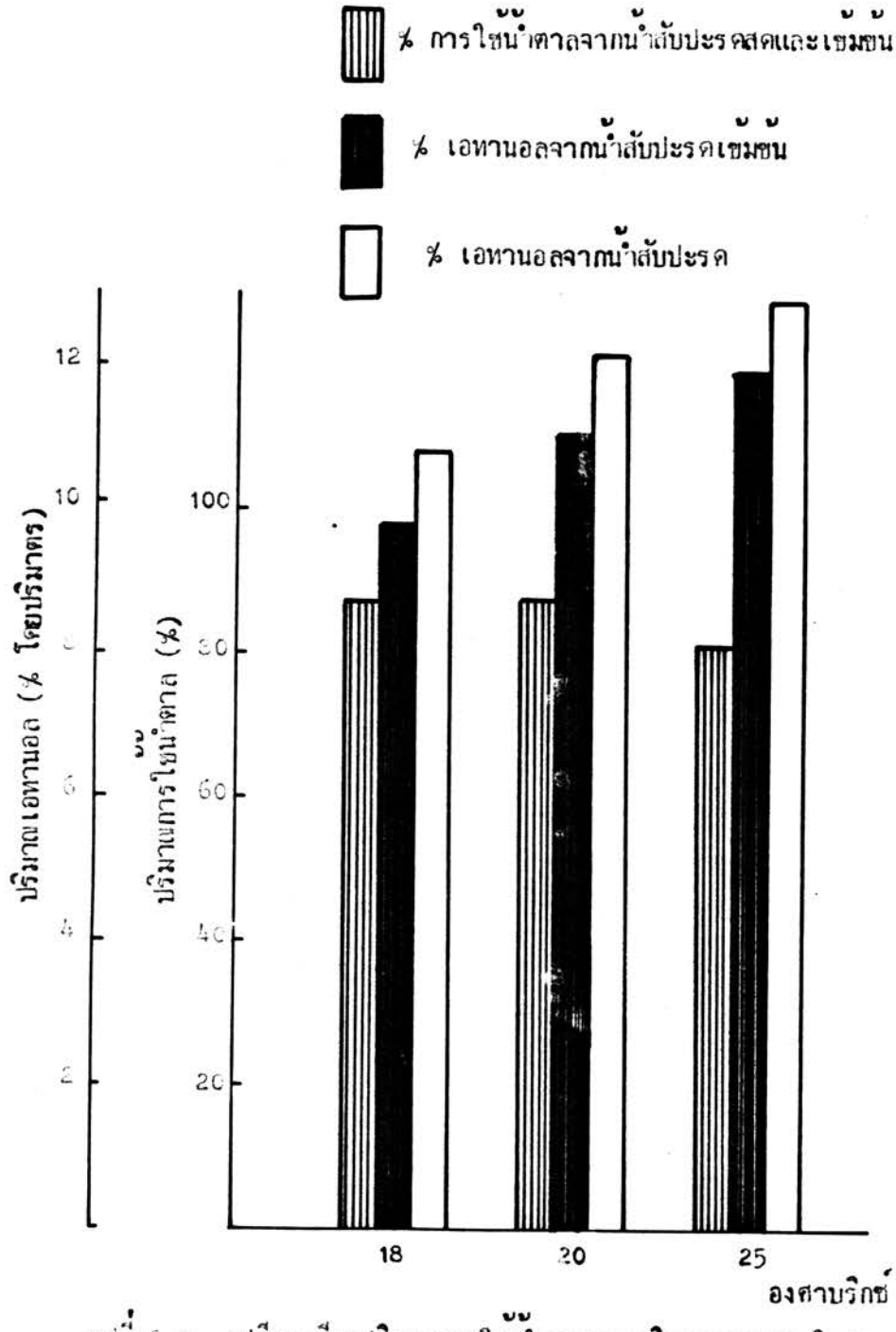
ความเข้มข้นน้ำตาล 18 องศาบริกซ์ จะได้ปริมาณเอทานอล 10.9% โดยปริมาตร ในเวลา 16 ชั่วโมง ปริมาณการใช้น้ำตาล 97% ซึ่งผลการเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-8 จากการสังเกตุกราฟรูปที่ 5-30 และ 5-31 เมื่อพิจารณาเส้นกราฟของสภาพการดูดกลืนแสงและจำนวนเซลล์ที่นับได้ ก็พบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาล 18 องศาบริกซ์เป็นสารอาหาร จะให้ความเข้มข้นของเซลล์สูงกว่าการใช้ความเข้มข้นน้ำตาล 20 องศาบริกซ์ ซึ่งจากการทดลองนี้ จะมีประโยชน์ต่อการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้น เนื่องจากการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นเพื่อเป็นเพิ่มปริมาณของเซลล์ยีสต์ให้มาก และในขั้นนี้ยังอยู่ในสภาพที่มีอากาศซึ่งจะทำให้เชื้อยีสต์สามารถสร้างพลังงานได้มากโดยใช้ขบวนการ Kreb's cycle (แสดงไว้ในภาคผนวก ช) ดังนั้น ความเข้มข้นน้ำตาลก็ไม่จำเป็นต้องสูงเท่ากับในตอนหมักเอทานอล เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งสอง จะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นน้ำตาลต่างกันเพียง 10% ก็จะมีผลต่อความเข้มข้นของเซลล์ เมื่อเป็นเช่นนี้ ในการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นถ้าใช้ความเข้มข้นน้ำตาลน้อยกว่า 10% ของความเข้มข้นน้ำตาลในตอนหมักเอทานอล นอกจากจะเพิ่มปริมาณของเซลล์ยีสต์ให้มากแล้วยังอาจจะช่วยลดปริมาณความร้อนในการฆ่าเชื้อสารอาหารเหลวที่จะนำมาเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นด้วย

ในตอนที่สองของการทดลองได้ใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่ได้จากการเจือจางน้ำสับปะรดเข้มข้น ซึ่งมีน้ำตาลเข้มข้น 60 องศาบริกซ์ นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 18, 20 และ 25 องศาบริกซ์ เป็นสารอาหาร เมื่อนำผลมาเปรียบเทียบกันพบว่า สารละลายน้ำสับปะรดที่ได้จากการเจือจางน้ำสับปะรดเข้มข้นให้มีความเข้มข้นน้ำตาลในช่วง 18-20 องศาบริกซ์ เป็นช่วงที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดและใช้ระยะเวลาสั้น ซึ่งผลการทดลองนี้ก็สอดคล้องกับการทดลองใช้สารละลายน้ำสับปะรดสด ผลเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-9

เมื่อได้พิจารณาเปรียบเทียบการใช้สารละลายน้ำสับปะรดทั้งสองชนิดโดยสังเกตุจากกราฟพบว่า การใช้น้ำสับปะรดที่ได้จากการเจือจางน้ำสับปะรดเข้มข้นเป็นสารอาหารเหลวนั้น จะได้ปริมาณเอทานอลต่ำกว่าการใช้สารละลายน้ำสับปะรดสด เนื่องจากน้ำสับปะรดเข้มข้นจากโรงงานนั้นผ่านขบวนการระเหยน้ำออกภายใต้อุณหภูมิสูงหลายขั้นตอน จึงเป็นเหตุให้สารประกอบที่เป็นสารอาหารสำคัญบางอย่างในน้ำสับปะรดสำหรับยีสต์ถูกทำลายด้วยความร้อน อย่างเช่น กรดอะมิโน และ



รูปที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอล ในการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เมื่อใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่ความเข้มข้นน้ำตาล 14, 18, 20, 25 และ 30 องศาบริกซ์ ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง



รูปที่ 6-9 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ S.ellipsoideus เมื่อใช้สารละลายน้ำสับปะรดสดและน้ำสับปะรดเข้มข้นที่ความเข้มข้นน้ำตาลเดียวกันและเวลาในการหมักเท่ากัน ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง

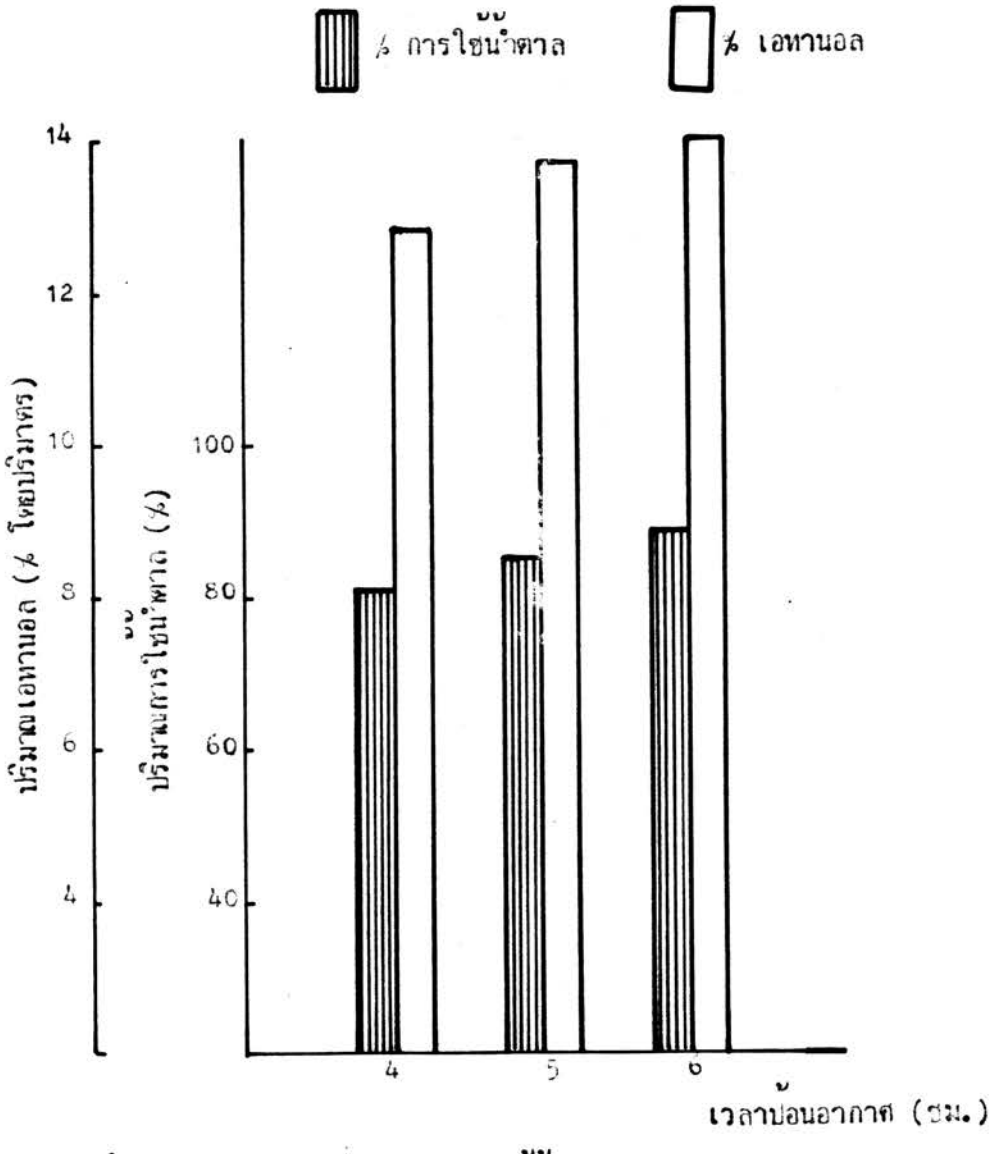
ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพทางเคมีและทางกายภาพของโปรตีน ตลอดจนการเกิดปฏิกริยาสร้างสารโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ไม่ต้องการในน้ำสับปะรด อันเป็นผลให้คุณค่าทางอาหารสำหรับยีสต์ลดลง ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณเอทานอลที่ได้จากน้ำสับปะรดเข้มข้นลดลง ถึงแม้ว่าปริมาณการใช้น้ำน้ำตาลจะให้ค่าที่ใกล้เคียงก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ (นิคม ติปะวาโร, 2523)

ในการทดลองเมื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่อนอากาศสำหรับสารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาลสูงกว่า 20 องศาบริกซ์ โดยใช้สารละลายน้ำสับปะรดมีความเข้มข้นน้ำตาล 25 องศาบริกซ์ เป็นสารอาหาร การเพิ่มระยะเวลาในการบ่อนอากาศ เพื่อต้องการเพิ่มปริมาณของเซลล์ยีสต์ให้มากและให้สอดคล้องกับปริมาณการใช้น้ำตาล เนื่องจากการบ่อนอากาศเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แก่น้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 25 องศาบริกซ์นั้น น้ำตาลยังคงเหลือในน้ำหมักในปริมาณสูง ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการบ่อนอากาศนั้นอาจทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการเพิ่มระยะเวลาในการบ่อนอากาศจากเดิม 4 ชั่วโมง เป็น 5 และ 6 ชั่วโมง ที่อัตราการบ่อนอากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศ ต่อปริมาตรน้ำหมัก ต่อนาที จากการทดลองพบว่า ระยะเวลาบ่อนอากาศ 5 และ 6 ชั่วโมง จะได้ปริมาณเอทานอล 13.7% และ 14.0% โดยปริมาตร ในเวลาการหมักทั้งหมด 23 และ 24 ชั่วโมง ปริมาณการใช้น้ำตาล 85% และ 88% ตามลำดับ เทียบกับการบ่อนอากาศ 4 ชั่วโมง ก็พบว่าค่าต่าง ๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แสดงว่าที่ปริมาณเอทานอลสูง ๆ จะทำให้อัตราการทำงานของเชื้อยีสต์จะลดลงและทำให้ปริมาณการผลิตเอทานอลลดลงด้วย โดยสังเกตุจากเส้นกราฟของปริมาณการใช้น้ำตาล และปริมาณเอทานอล (ดูกราฟรูปที่ 5-38 และ 5-39) จะเห็นว่าปลายเส้นกราฟทั้งสามจะมีแนวโน้มที่จะทับกัน และปริมาณเอทานอลในช่วงท้าย ๆ จะสั้นลง ถึงแม้ว่าปริมาณน้ำตาลจะเหลือมากก็ตาม ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นการเพิ่มระยะเวลาการบ่อนอากาศนั้น ถึงแม้การผลิตเอทานอลในช่วงแรกจะเร็วกว่าการบ่อนอากาศ 4 ชั่วโมง แต่ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการบ่อนอากาศเพิ่มขึ้น และเมื่อคำนึงถึงการผลิตเอทานอลควบคู่กับค่าใช้จ่ายในการบ่อนอากาศแล้ว การบ่อนอากาศเป็นเวลา 4 ชั่วโมง น่าจะเหมาะสมสำหรับความเข้มข้นน้ำตาล 25 องศาบริกซ์ จากการทดลองยังพบว่า การเพิ่มระยะเวลาการบ่อนอากาศ 6 ชั่วโมงนั้น ความเข้มข้นของเชื้อหมักมีแนวโน้มที่จะลดลง เมื่อเทียบกับการบ่อนอากาศ 5 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4-36 และ 4-37 พอจะอธิบายได้ว่า การบ่อนอากาศมากเกินไปอาจทำให้การเจริญของ

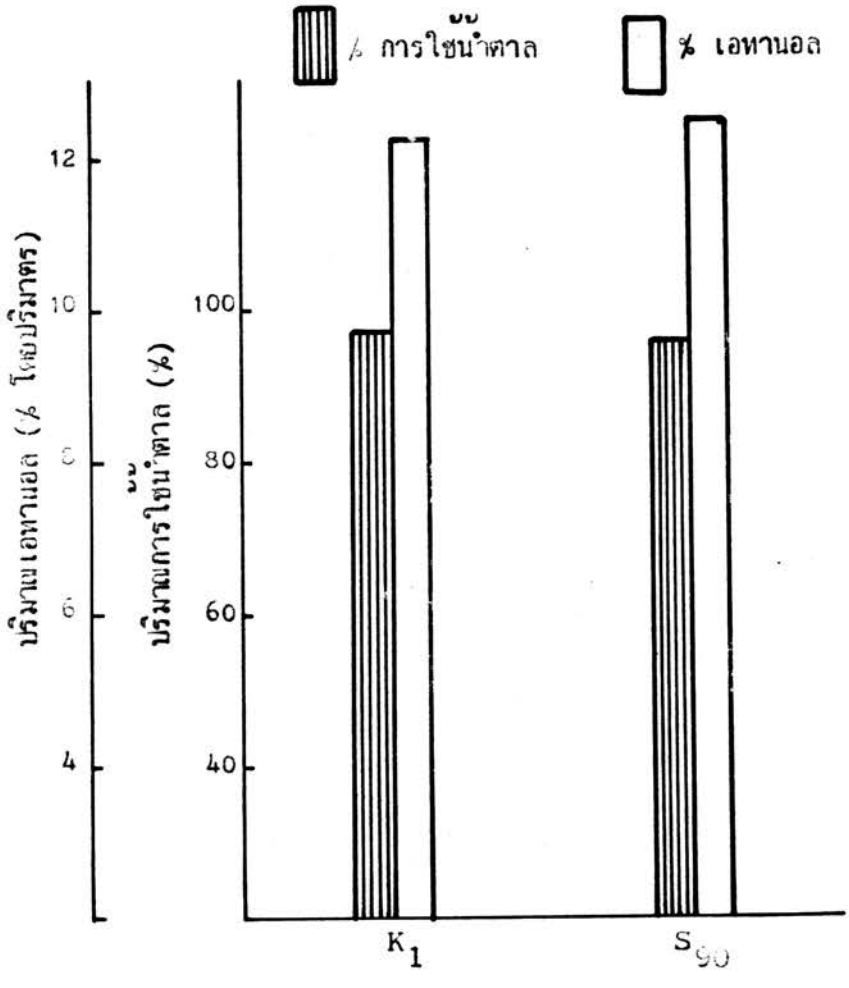
เชื้อหมักหยุดชงักได้ ซึ่งมักก่อให้เกิดผลเสียต่อเมตาไบสิสมภายในเซลล์ยีสต์ จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นแสดงว่าการเพิ่มระยะเวลาการป้อนอากาศจากเดิม 4 ชั่วโมง สำหรับน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูง ๆ นั้น แนวโน้มที่จะทำให้อัตราการผลิตเอทานอลสูงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยใช้ระยะเวลาพอควร ผลการเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ ไว้ในกราฟรูปที่ 6-10

ในการทดลองดูเชื้อยีสต์ที่ให้เอทานอลสูงอื่น ๆ เท่าที่จะหาได้เปรียบเทียบกับเชื้อยีสต์ที่ใช้อยู่เดิม คือ S.ellipsoideus (K_1) และได้ใช้เชื้อ S.cerevisiae (S_{90}) เป็นตัวเปรียบเทียบ โดยใช้สภาวะการหมักที่ดีที่สุดของเชื้อยีสต์ที่ใช้อยู่เดิมเป็นเกณฑ์ ผลการทดลองจากกราฟรูปที่ 5-40 ถึง 5-43 พบว่า เชื้อยีสต์ทั้งสองให้ค่าต่าง ๆ ที่ใกล้เคียงกันมากคือ เชื้อยีสต์ S_{90} จะได้ปริมาณเอทานอล 12.4% โดยปริมาตร ในเวลาการหมักทั้งหมด 22 ชั่วโมง ปริมาณการใช้น้ำตาล 98% ส่วนเชื้อยีสต์ K_1 จะได้ปริมาณเอทานอล 12.1% โดยปริมาตร ในเวลาการหมักทั้งหมด 22 ชั่วโมง ปริมาณการใช้น้ำตาล 97% การที่เชื้อยีสต์ S_{90} ให้ค่าต่าง ๆ ดีกว่าเชื้อยีสต์ K_1 นั้น ซึ่งพอจะอธิบายได้ดังนี้ เชื้อยีสต์ K_1 นั้น ได้ใช้ทำการทดลองในการหมักต่อเนื่องกันมาเป็นเวลานานหลายปี ในการเก็บรักษาเชื้อยีสต์ให้บริสุทธิ์และดำรงชีวิตอยู่ได้ ทำการเก็บไว้ในตู้เย็นซึ่งโอกาสที่จะเกิดการแปรสภาพทางพันธุกรรมไปจากเดิมได้ เช่น ความสามารถในการเจริญและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลอาจลดลงบ้าง ส่วนเชื้อยีสต์ S_{90} เป็นเชื้อใหม่จากโรงงาน ดังนั้นทั้งความสามารถในการเจริญและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลน่าจะดีกว่าเชื้อยีสต์ K_1 จากเหตุผลดังกล่าวแสดงว่าการใช้ยีสต์ S_{90} และ K_1 น่าจะให้ค่าต่าง ๆ เท่ากัน และเป็นเชื้อยีสต์ที่ให้อัตราการผลิตเอทานอลสูงเท่าที่จะหาได้ในขณะนี้ ผลการเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ แสดงไว้ในกราฟรูปที่ 6-11

ในการทดลองเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ โดยใช้น้ำสับปะรดที่มีน้ำตาลเข้มข้นน้อยกว่า 20 องศาบริกซ์ ประมาณ 10% เป็นสารอาหาร ในการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้น 5% ของ 6 ลิตร ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ ที่อัตราการป้อนอากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศ ต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที เป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ (โดยใช้หลักว่าป้อนอากาศจนได้ความเข้มข้นของเชื้อหมักเท่ากับการป้อนอากาศในช่วงแรก เมื่อใช้เชื้อหมักเริ่มต้นจากขวดเขย่า) จากการทดลองพบว่าระยะเวลาการป้อนอากาศ 8 ชั่วโมง จะได้ค่าความเข้มข้นของเซลล์ใกล้เคียงกับการป้อนอากาศใน



รูปที่ 6-10 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอลของเชื้อ S.ellipsoideus เมื่อให้ระยะเวลาในการบ่อนอากาศ 4, 5 และ 6 ชั่วโมง สำหรับสารละลายน้ำตับประกอบความเข้มข้นน้ำตาล 25 องศาบริกซ์ ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง



รูปที่ 6-11 เปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลในการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ K_1 และ S_{90} ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดไม่ต่อเนื่อง

ในช่วงแรกเมื่อใช้เชื้อหมักเริ่มต้นจากขวดเขย่าก่อน และจะให้ค่าต่าง ๆ สูงกว่าระยะเวลาการป้อนอากาศ 4 ชั่วโมงในการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้น ในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ ดังรูปที่ 5-44 ถึง 5-47 แสดงว่าระยะเวลาการป้อนอากาศ 4 ชั่วโมง ปริมาณการเพิ่มของเชื้อหมักยังไม่เพียงพอสำหรับสำหรับแบบไม่ให้อากาศ เป็นผลให้อัตราการผลิตเอทานอลเกิดขึ้นได้ช้า จากการนำผลที่ได้จากการทดลองนี้ เปรียบเทียบกับการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในขวดเขย่าก่อน จึงถ่ายลงหมักกับสารละลายน้ำสับปะรดในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ ซึ่งต้องป้อนอากาศอีก 4 ชั่วโมง เมื่อเทียบปริมาณเอทานอลที่เท่ากันปรากฏว่า การเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ ใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 26 ชั่วโมง (รวมเวลาการป้อนอากาศ 8 ชั่วโมงด้วย) ส่วนการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในขวดเขย่าก่อน ใช้เวลาในการหมักทั้งสิ้น 44 ชั่วโมง (รวมเวลาในการเขย่า 22 ชั่วโมงด้วย) เมื่อดูแนวโน้มแล้วจะเห็นว่า การเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในเครื่องหมักแบบคอลัมน์โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนในการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในขวดเขย่าก่อน อาจจะลดเวลาในการหมักได้ ก็ไม่ใช่เป็นวัตถุประสงค์ที่แท้จริง ซึ่งการทดลองนี้เพื่อแสดงให้เห็นว่า การดำเนินงานในการผลิตเอทานอลสามารถลดขั้นตอนในการผลิตได้ จึงเป็นเรื่องที่น่าศึกษา เพราะทำให้การดำเนินงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น ถึงแม้ว่าการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในขวดเขย่าจะใช้เวลาในการเตรียมไปพร้อม ๆ กับขบวนการหมักก็ตาม และการเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นในเครื่องหมักแบบคอลัมน์นี้ก็จะเป็นขั้นตอนหนึ่งในการทดลองแบบต่อเนื่องในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ต่อไป

6.3 การทดลองในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ชนิดกึ่งต่อเนื่อง

เมื่อได้ศึกษาตัวแปรต่าง ๆ ในการทดลองแบบไม่ต่อเนื่องแล้ว ก็หันมาสนใจการทดลองผลิตเอทานอลแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองแบบไม่ต่อเนื่องมาใช้ วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ เพื่อต้องการดูแนวโน้มในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยไม่ต้องเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นบ่อย ๆ และเป็นแนวทางในการทดลองแบบต่อเนื่องในเครื่องหมักแบบคอลัมน์ต่อไป

ในการทดลองหาอัตราการถ่ายเทน้ำหมักโดยเริ่มในชั่วโมงที่ 16 ของการหมัก ด้วยอัตรา 25%, 50% และ 75% ของ 6 ลิตร ตามลำดับ จากการทดลองใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 20 องศาบริกซ์ เป็นสารอาหารและใช้ทดแทนในปริมาณเดียวกัน ดังกราฟรูปที่ 5-48

และ 5-49 พบว่า อัตราการถ่ายเท 25% จะใช้เวลาในการถ่ายเทน้ำหมักทุก ๆ 3 ชั่วโมง จะให้ปริมาณเอทานอลและปริมาณการใช้น้ำตาลเกือบคงที่ คือจะได้ปริมาณเอทานอลอยู่ในช่วง 9.8-10% โดยปริมาตร ในปริมาณ 1.5 ลิตรทุก 3 ชั่วโมง ซึ่งปริมาณการใช้น้ำตาลในช่วง 70-75% แต่ความเข้มข้นของเชื้อหมักจะลดลงบ้าง พอจะอธิบายได้ว่าอัตราการเจริญของเชื้อหมักไม่เท่าเทียมกันกับอัตราการถ่ายเทออกของเชื้อหมัก ซึ่งอาจจะเป็นผลจากปริมาณเอทานอลสูง ๆ เมื่อเปลี่ยนอัตราการถ่ายเทน้ำหมักเป็น 50% แล้วเทียบกับการถ่ายเทที่ 25% ดังกราฟรูปที่ 5-50 และ 5-51 ซึ่งพบว่า จะได้ปริมาณเอทานอลอยู่ในช่วง 9.10% โดยปริมาตร ในปริมาณ 3 ลิตรทุก 6 ชั่วโมง แต่ปริมาณเอทานอลจะมีแนวโน้มที่จะลดลงและมีผลการลดลงของเชื้อหมักมากกว่าอัตราการถ่ายเท 25% เพื่อให้การทดลองเห็นได้ชัดเจนขึ้น จึงได้ทดลองถ่ายเทน้ำหมัก 75% ดังกราฟรูปที่ 5-52 และ 5-53 ก็พบว่า ปริมาณการลดลงของเชื้อหมัก ปริมาณเอทานอล และปริมาณการใช้น้ำตาล 9 ชั่วโมง จะมีมากยิ่งขึ้นเมื่อเทียบกับอัตราการถ่ายเทน้ำหมัก 25% จากการศึกษาอัตราการถ่ายเทน้ำหมักทั้ง 3 พบว่า จะให้อัตราการถ่ายเทน้ำหมักโดยปริมาตรต่อหนึ่งหน่วยเวลาเท่ากับ 0.08 ต่อชั่วโมงเท่ากัน ซึ่งอัตราการถ่ายเทน้ำหมัก 25% ทุก 3 ชั่วโมง ปริมาณการลดลงของเชื้อหมักน้อยที่สุด และอัตราการผลิตเอทานอลมีลักษณะเกือบคงที่ ด้วยเหตุนี้การที่จะทำให้อัตราการเจริญและอัตราการถ่ายเทออกของเชื้อหมักอยู่ในระดับเท่ากันอาจเป็นไปได้โดยการนำเชื้อหมักกลับคืนเข้าสู่เครื่องหมักใหม่ก็ทำให้ความเข้มข้นของเซลล์สูงขึ้นและอยู่ในสภาวะสมดุลย์ เป็นเวลานาน ๆ ได้ คือ อัตราการผลิตเอทานอล 10% โดยปริมาตร ในปริมาณ 1.5 ลิตรทุก ๆ 3 ชั่วโมง ต่อเนื่องกันไปเป็นเวลานาน ๆ ฉะนั้นจึงได้เลือกอัตราการถ่ายเทน้ำหมัก 25% ทุก 3 ชั่วโมงทำการทดลองที่ชั่วโมงและความเข้มข้นน้ำตาลต่าง ๆ ต่อไป

ในการทดลองหาปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลในสารละลายน้ำสับปะรดที่เหมาะสมที่จะให้ปริมาณเอทานอลอยู่ในสภาวะสมดุลย์เป็นเวลานาน ๆ ที่อัตราการถ่ายเทน้ำหมัก 25% ทุก 3 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งแรก จะใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 20 องศาบริกซ์ เป็นสารอาหาร โดยเริ่มทำการถ่ายเทน้ำหมักในชั่วโมงที่ 19 ของการหมัก ดังกราฟรูปที่ 5-54 และ 5-55 พบว่า ค่าต่าง ๆ มีแนวโน้มที่จะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อเทียบกับเริ่มต้นทำการถ่ายเทน้ำหมักในชั่วโมงที่ 16 ทั้งนี้เพราะการถ่ายเทน้ำหมักออกในช่วงนี้อัตราการเพิ่มจำนวนของเชื้อหมักมีค่าน้อยเมื่อเทียบกับอัตราการถ่ายเชื้อหมักออก แสดงให้เห็นว่าการทำงานของเชื้อยีสต์มีประสิทธิภาพลดลง เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ของ

เอทานอลสูงถึง 11% โดยปริมาตร และมีปริมาณน้ำตาลเหลือเพียง 10% เท่านั้น เมื่อทำการถ่ายเท น้ำหมักเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 13 ของการหมัก โดยใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเท่าเดิม ดังกราฟรูปที่ 5-56 และ 5-57 พบว่า จะได้ปริมาณเอทานอล 8% โดยปริมาตร และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนความเข้มข้นของเซลล์จะเพิ่มเล็กน้อยในช่วงแรกของการถ่ายเท แสดงว่าการทำงานของเชื้อยีสต์ยังมีประสิทธิภาพ แต่ในตอนท้าย ๆ ของการถ่ายเทปริมาณเชื้อหมักจะมีแนวโน้มที่จะลดลง เนื่องจากปริมาณการผลิตเอทานอลสูงขึ้น ดังนั้นจึงมีผลทำให้อัตราการเจริญน้อยกว่าอัตราการถ่ายเชื้อหมัก จากการสังเกตุพบว่าลักษณะการถ่ายเทนั้นค่าต่าง ๆ มีแนวโน้มเหมือนกับการถ่ายเทเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 16 ของการหมัก เพียงต่างกันในชั่วโมงต้น ๆ เท่านั้น แต่เมื่อเปลี่ยนการทดแทนน้ำหมักด้วยสารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 15 องศาบริกซ์ เนื่องจากการถ่ายเทน้ำหมักเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 13 นั้น ในช่วงแรกจะมีปริมาณน้ำตาลเหลือสะสมอยู่มาก จากการทดลองพบว่า ปริมาณเอทานอลในช่วงแรกจะเพิ่มขึ้นแล้วก็ลดลงในช่วงท้าย ๆ ของการถ่ายเท เพราะปริมาณสารอาหารไม่เพียงพอในน้ำหมัก สังเกตุจากกราฟรูปที่ 5-58 และ 5-59

ดังนั้นจึงพอสรุปสำหรับสารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 20 องศาบริกซ์ที่อัตราการถ่ายเทน้ำหมัก 25% ทุก 3 ชั่วโมง ได้ว่า ชั่วโมงเริ่มต้นการถ่ายเทที่เหมาะสม คือ ชั่วโมงที่ 16 ของการหมัก เนื่องจากค่าต่างๆ ของการถ่ายเทมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก นอกจากความเข้มข้นของเซลล์เท่านั้นลดลง อาจเป็นผลจากปริมาณของเอทานอลที่สูง ดังนั้นถ้านำเชื้อหมักกลับคืนเข้าสู่เครื่องหมักใหม่เพื่อทดแทนเชื้อหมักส่วนที่หายไป ก็จะทำให้ความเข้มข้นของเชื้อหมักสูงและจะได้ปริมาณเอทานอล 10% โดยปริมาตร เป็นเวลานาน ๆ ได้ สำหรับการถ่ายเทน้ำหมักชั่วโมงเริ่มต้นที่ต่ำกว่าชั่วโมงที่ 13 จะไม่ทำการทดลอง เพราะจะได้ปริมาณเอทานอลต่ำเกินไป

ในการทดลองใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 18 องศาบริกซ์เป็นสารอาหารและทดแทน เมื่อสังเกตจากกราฟที่ได้จากการแบบไม่ต่อเนื่องสำหรับความเข้มข้นน้ำตาล 18 องศาบริกซ์ จะเห็นได้ว่ามีสองช่วงเท่านั้นที่เหมาะสม คือ ที่ชั่วโมงที่ 13 และชั่วโมงที่ 16 ของการหมัก จากกราฟรูปที่ 5-60 และ 5-61 ซึ่งเป็นการถ่ายเทน้ำหมักเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 13 พบว่า ทุก ๆ 3 ชั่วโมง จะได้ปริมาณเอทานอล 8% โดยปริมาตร และปริมาณการใช้น้ำตาลอยู่ในช่วง ปรากฏว่า อัตราการผลิตเอทานอล ปริมาณการใช้น้ำตาลและความเข้มข้นของเซลล์ จะมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลง

น้อยมาก ซึ่งอัตราการเพิ่มจำนวนเชื้อหมักกับอัตราการถ่ายเทเชื้อหมักออกเกือบจะเท่ากัน แสดงว่าการถ่ายเทน้ำหมักในช่วงนี้จะอยู่ในสภาวะสมดุลย์เป็นเวลานาน ๆ ได้ ดังนั้นการถ่ายเทน้ำหมักในช่วงนี้น่าจะเหมาะสมที่สุด เมื่อเปลี่ยนการถ่ายเทน้ำหมักเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 16 ของการหมัก ดังกราฟรูปที่ 5-62 และ 5-63 ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงมีแนวโน้มเหมือนกับการถ่ายเทเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 16 เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาล 20 องศาบริกซ์ ยกเว้นปริมาณการใช้น้ำตาล พบว่าจะใช้น้ำตาลถึง 97% ซึ่งข้อดีของการถ่ายเทน้ำหมักในช่วงนี้คือมีปริมาณน้ำตาลเหลือสะสมอยู่ในน้ำหมักน้อย แต่อัตราการเพิ่มจำนวนเชื้อหมักมีโอกาสที่จะลดลงมาก ดังนั้นถ้าต้องการทำการถ่ายเทน้ำหมักในช่วงนี้ต้องนำเชื้อหมักกลับเข้าสู่เครื่องหมักใหม่เพื่อทดแทนจำนวนเชื้อหมักที่หายไป ก็น่าจะทำให้อัตราการผลิตเอทานอลอยู่ในสภาวะสมดุลย์ได้นาน ๆ เช่นเดียวกัน

ส่วนในการทดลองใช้สารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 14 องศาบริกซ์ โดยเริ่มถ่ายเทน้ำหมักในชั่วโมงที่ 13 ของการหมัก ดังกราฟรูปที่ 5-64 และ 5-65 พบว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงมีแนวโน้มเหมือนกับการถ่ายเทเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 16 เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาล 18 องศาบริกซ์ ต่างกันที่ปริมาณเอทานอลเท่านั้นคือ จะได้เอทานอล 8% โดยปริมาตร ข้อดีของการถ่ายเทในช่วงนี้คือ ปริมาณเอทานอลจะมีต่อการอัตราการเพิ่มจำนวนเชื้อหมักมีน้อยกว่า ถึงแม้ว่าปริมาณน้ำตาลจะเหลือน้อยก็ตาม แต่เมื่อทดแทนสารละลายน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 18 องศาบริกซ์ แทน 14 องศาบริกซ์ ดังกราฟรูปที่ 5-66 และ 5-67 ก็พบว่า มีแนวโน้มที่จะได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มจาก 8% เล็กน้อย แต่ปริมาณการใช้น้ำตาลก็จะลดลงเล็กน้อย แสดงว่าเริ่มมีปริมาณน้ำตาลสะสมในน้ำหมัก ดังนั้นอาจจะกล่าวได้ว่าขบวนการหมักเริ่มมีการปรับสภาวะให้เข้าสู่สภาวะสมดุลย์ ซึ่งจากการสังเกตุน่าจะมีแนวโน้มเหมือนการถ่ายเทน้ำหมักโดยเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 13 เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาล 18 องศาบริกซ์

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลต่อชั่วโมงในขบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องกับแบบกึ่งต่อเนื่อง เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาล 20 องศาบริกซ์ ก็พบว่า ในการหมักแบบไม่ต่อเนื่องจะได้ปริมาณเอทานอล 12% โดยปริมาตร ในเวลาการหมักทั้งหมด 22 ชั่วโมง ทั้งหมด 6 ลิตรหรือประมาณ 33 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง แล้วเทียบกับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง จะได้ปริมาณเอทานอล 10% โดยปริมาตรทุก 3 ชั่วโมง ในการทดลองนี้ทำการถ่ายเทต่อเนื่องกันเป็นเวลา 31 ชั่วโมง (รวมการหมัก 16 ชั่วโมงแรก

ด้วย) เท่านั้นทั้งหมด 13.5 ลิตรหรือประมาณ 44 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง แสดงว่าการถ่ายเทน้ำหมักออกและทดแทนในปริมาณเดียวกัน จะได้ปริมาณเอทานอลมากกว่า ไม่มีการถ่ายน้ำหมักออก ยิ่งขบวนการหมักอยู่ในสภาวะสมดุลย์นาน ๆ โอกาสที่จะได้ปริมาณเอทานอลก็ยิ่งมากขึ้น ข้อดีสำหรับการถ่ายเทน้ำหมักคือ ไม่ต้องเตรียมเชื้อหมักเริ่มต้นบ่อย ๆ สามารถนำเซลล์ยีสต์กลับมาทำการหมักใหม่ได้ ฉะนั้นจึงเป็นการลดต้นทุนการผลิตและช่วยเพิ่มผลผลิตได้

ในการผลิตเอทานอลจากน้ำสับปะรดดังกล่าวมาแล้วข้างต้น จะได้ปริมาณเอทานอลออกมาค่อนข้างจะสูง คือประมาณ 13% โดยปริมาตร ในเวลาการหมักทั้งหมด 22 ชั่วโมง เพื่อที่จะให้ดูต้นทุนการผลิตเอทานอลจากน้ำสับปะรดว่าคุ้มกับการผลิตหรือ ก็จะสมมติตัวเลขประกอบดังนี้ เมื่อโรงงานผู้ผลิตสับปะรดกระป๋องต้องการผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำสับปะรด 2,500 ลิตรต่อวัน จึงจะพอใช้เป็นเชื้อเพลิงทั้งโรงงาน จากการทดลองพบว่า น้ำสับปะรด 1 ตัน สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ประมาณ 120 ลิตร ดังนั้น ในการผลิตแอลกอฮอล์ 2,500 ลิตร จะต้องใช้น้ำสับปะรด 21 ตัน (ราคาของน้ำสับปะรดตกตันละ 1,000 บาท) เป็นจำนวน 21,000 บาท ต้องใช้สารเคมีและการใช้ต่าง ๆ เป็นจำนวน 725 บาท และค่าแรงงาน (คิดจาก 10% ของราคาต้นทุนการผลิตทั้งหมดเป็นจำนวน 2,173 บาท เพราะฉะนั้น ต้นทุนการผลิตแอลกอฮอล์ 25,000 ลิตร จากน้ำสับปะรดเท่ากับ 23,898 บาท) จะเห็นได้ว่า ต้นทุนของน้ำสับปะรดเป็น 87% ของต้นทุนการผลิตแอลกอฮอล์ (ในที่นี้ไม่ได้พิจารณา ค่าบำรุง ค่าประกัน ค่าภาษี ค่าเสื่อมราคา และค่าใช้จ่ายในด้านบริหาร) เมื่อนำข้อมูลเหล่านี้มาประกอบการพิจารณา ซึ่งถ้ามีข้อมูลดังกล่าวแล้ว การคำนวณหาต้นทุนของน้ำสับปะรดน่าจะมีราคาต่ำกว่านี้ แต่ในที่นี้เพียงแต่ชี้ให้เห็นว่าในการผลิตแอลกอฮอล์ต้นทุนการผลิตส่วนใหญ่จะอยู่ที่สับปะรด ดังนั้นถ้าใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้จากการผลิตสับปะรดกระป๋องของโรงงานดังได้กล่าวมาแล้ว ก็สามารถลดต้นทุนการผลิตแอลกอฮอล์ในราคาต่ำที่จะนำมาทดแทนน้ำมันจากปิโตรเลี่ยมได้ ทำให้โรงงานไม่ต้องพะวงต่อการที่น้ำมันเชื้อเพลิงมีราคาสูงขึ้นอีกต่อไป นอกจากนี้จะให้ประโยชน์ทั้งทางด้านการกำจัดของเสียจากโรงงาน และเพิ่มพูนรายได้ขึ้นด้วย