บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณและผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลอ้อยต่อการหมักเอธานอลด้วยยีสต์ ในขั้นแรกได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาล ด้วยวิธีโบรโมฟีนอลบลู (Cunniff et al. 1997) พบว่าประสบปัญหาไม่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลได้ ทั้งนี้เนื่องจากยังไม่มีวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลได้โดยตรง และปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลมีปริมาณน้อย รวมทั้งสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลไม่สามารถแสดงผลได้สมบูรณ์ Longsnan (1975) กล่าวถึงการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมนั้นทำได้ยากกว่าการแยกสารดังกล่าวออก ทั้งนี้เนื่องจากความหลากหลายของสายความยาวหมู่อัลคิล ซึ่งจะมีผลต่อความสามารถในการละลาย ดังนั้นจึงแก้ไขปัญหาโดยการสร้างกราฟมาตรฐานของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่เติมในน้ำขจัดไอออนเพื่อเป็น model solution ซึ่งจะนำไปคำนวณหาสมการถดถอยเชิงเส้นตรง ที่จะนำมาใช้ในการอธิบายผลการวิเคราะห์หาสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาล โดยเริ่มจากการทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินระหว่างเกลือควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่เติมในน้ำขจัดไอออนกับสารละลายอินดิเคเตอร์โบรโมฟีนอลบลูและทำการสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรอีเธน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายมาตรฐาน QAC ความเข้มข้น 2 - 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับค่าการดูดกลืนแสง พบว่ากราฟที่ได้เป็นเส้นตรงตามกฎของ Beer - Lambert หลังจากนั้นนำค่าความสัมพันธ์ทั้งสองตัวแปร มาหาค่าสมการถดถอยเชิงเส้นตรงได้ค่า $Y = -0.1279 + 0.0917X$ เพื่อคำนวณความเข้มข้นของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม โดยมีระดับความเชื่อมั่น 98% และจากการทดสอบความเที่ยงของสมการดังกล่าว พบว่าสามารถยอมรับได้ จึงใช้สมการมาตรฐานนี้ ในการอธิบายการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลต่อไป

จากการศึกษาความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่จะใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาล เนื่องจากปัญหาความหนืดของกากน้ำตาล ซึ่งหากใช้

ความเข้มข้นของกากน้ำตาลมากเกินไป เมื่อทำการเขย่าเพื่อจะสกัดเกลือควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลให้ออกมาละลายในตัวทำละลายไดคลอโรอีเธน พบว่าจะเกิด emulsion ซึ่งจะมีปัญหาต่อการแยกชั้นในการสกัด และถ้าหากใช้ความเข้มข้นของกากน้ำตาลน้อยเกินไปค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ก็จะสูงเกินไป ซึ่งเป็นค่าที่จะมีความผิดพลาดในการหาความเข้มข้นของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลได้ จากการทดลองจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของกากน้ำตาล 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตรในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาล

เนื่องจากสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลมีปริมาณน้อย และการแสดงออกของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลแสดงออกได้ไม่ดีทำให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมกระทำได้ยาก จึงต้องใช้วิธี standard addition curve คือการที่เติมสารละลายมาตรฐานควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ทราบความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ ลงในสารละลายกากน้ำตาลที่จะนำมาทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีโบรโมฟีนอลบลู หลังจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้แต่ละช่วงความเข้มข้นมาแทนค่าในสมการถดถอยเชิงเส้นมาตรฐาน $Y = -0.1279 + 0.0917X$ เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม และนำมาคำนวณค่าสมการถดถอยอีกครั้งหนึ่ง เพื่อทำนายสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ตกค้างเหลืออยู่ในกากน้ำตาลในแต่ละโรงงาน พบว่ากากน้ำตาลจากโรงงาน A 1 กรัม มีปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม 3.66 ไมโครกรัม ส่วนกากน้ำตาลจากโรงงาน B, C และ D มีปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม 4.38, 2.89 และ 6.73 ไมโครกรัม ตามลำดับ ดังนั้นในการใช้สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม เพื่อควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตน้ำตาล จะทำให้มีสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมตกค้างในกากน้ำตาล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Nickisch-Hartfiel (1984) ที่คาดว่าอาจมีสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมตกค้างในกากน้ำตาลบีท โดยจะถูกดูดซับไว้ในเศษชิ้นส่วนของหัวบีทหรือตะกอน แต่อย่างไรก็ตามเขาคาดว่าปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ตกค้างในกากน้ำตาลนี้ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

Spencer and Meade (1963) กล่าวถึงการใช้สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกระบวนการผลิตน้ำตาล อาจทำให้มีสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมหลงเหลือในกากน้ำตาลแต่ก็ยังไม่มีผลที่ชัดเจนในการนำกากน้ำตาลดังกล่าวไปใช้ในการหมัก ดังนั้นในขั้นตอนที่สองนี้ จะศึกษาประเมินผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลต่อการหมักแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ *Saccharomyces* sp. โดยเริ่มจากการศึกษาการเจริญและการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์ ในกากน้ำตาลที่เจือจางที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลพอเหมาะสำหรับหมักแอลกอฮอล์ คือ

ประมาณ 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในระดับขวดชมพู่ที่ปิดจุกด้วยสำลี บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการเกิดแอลกอฮอล์ในช่วงแรกจะต่ำทั้ง ๆ ที่ปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปมาก ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลส่วนหนึ่งถูกนำไปใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์และการที่อัตราการเกิดแอลกอฮอล์ในช่วงท้ายจะต่ำ เนื่องจากแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นจะมีผลยับยั้งการหมักของเซลล์ยีสต์ ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นนี้จะสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ยีสต์ โดยการหมักจะเริ่มคงที่เมื่อเวลา 21 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณเอธานอล 35.04 กรัมต่อลิตร และปริมาณเอธานอลสูงสุดเท่ากับ 43.17 กรัมต่อลิตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเหลือ 31 กรัมต่อลิตร ซึ่งในจำนวนนี้มี unfermentable sugar และน้ำตาลบางส่วนที่ยังไม่ถูกเปลี่ยนไปเป็นเอธานอล ดังนั้นจึงทำการศึกษาผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการเจริญและการหมักเอธานอล ในอาหารกากน้ำตาลที่เติมสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม ความเข้มข้น 0, 10, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในระดับขวดชมพู่ปิดจุกด้วยสำลี ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณเอธานอลที่เกิดขึ้น จากผลการทดลองพบว่า น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และการผลิตเอธานอลในอาหารกากน้ำตาลที่มีปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะไม่มีผลแตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ถ้าในอาหารกากน้ำตาลที่มีปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และการผลิตเอธานอล ลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยจะมีผลยับยั้งการหมักเอธานอลอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังนั้นในการใช้กากน้ำตาลเพื่อหมักเอธานอล อาหารกากน้ำตาลต้องมีความเข้มข้นของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมมากกว่า 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงจะมีผลยับยั้งการเจริญและการหมักเอธานอลของยีสต์

ในขั้นตอนที่สามนี้ จะศึกษากรรมวิธีในการปรับปรุงคุณภาพกากน้ำตาลอ้อย เนื่องจากงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลอ้อยต่อการหมักเอธานอลด้วยยีสต์ ดังนั้นในการปรับปรุงคุณภาพกากน้ำตาล จึงทำการศึกษากรรมวิธีในการลดปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาล

Hugot and Jenkins (1986) กล่าวถึงรายงานการศึกษาในประเทศแอฟริกาใต้ว่าสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ใช้ในโรงงานน้ำตาล จะสลายตัวไปด้วยความร้อนในขั้นตอนการต้มระเหยน้ำอ้อย ดังนั้นจึงทำการทดลองศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ต่อปริมาณของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม จากการทดลองผลของอุณหภูมิที่ 110 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 และ 30 นาที ต่อการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบควอ

เทอร์นารีแอมโมเนียม ทั้งในน้ำขจัดไอออน (model solution) และในกากน้ำตาลแต่ละโรงงาน พบว่าความร้อนมีผลต่อสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม ในเชิงการลดปริมาณลง โดยที่อุณหภูมิยิ่งสูงและเวลายิ่งนาน สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่วิเคราะห์ได้ก็จะมีแนวโน้มลดลง ซึ่งในการทดลองนี้ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จะให้ผลดีที่สุด และจากการศึกษาทางจลนพลศาสตร์ของสารประกอบ ควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำขจัดไอออน พบว่ามีค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมเกิดช้ามาก คือที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.0066, 0.0077 และ 0.0079 (นาที)$^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่งต้องใช้พลังงานกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาเท่ากับ 2550.62 KCal/mol โดยค่าการลดลงครึ่งหนึ่งของปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส ต้องใช้เวลา 105, 90 และ 87.7 นาที ตามลำดับ สำหรับผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อการลดปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในกากน้ำตาล พบว่าสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมจะสลายตัวด้วยความร้อนแต่อัตราการเกิดปฏิกิริยาช้ามาก โดยมีค่าคงที่อัตราการสลายตัวของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.0021, 0.0035 และ 0.0054 (นาที)$^{-1}$ ตามลำดับ โดยมีค่าพลังงานกระตุ้นเท่ากับ 13395.57 KCal/mol และค่าการลดลงครึ่งหนึ่งของปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 330, 198 และ 128.4 นาที ตามลำดับ ดังนั้นหากต้องการที่จะลดปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลต้องใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลาที่นานมาก เพื่อที่จะทำให้สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมลดลงครึ่งหนึ่งจากที่ตั้งต้น ซึ่งหากใช้กรรมวิธีดังกล่าวจะทำให้กากน้ำตาลเปลี่ยนสีและสารอาหารต่าง ๆ ในกากน้ำตาลจะสูญสลายไป ส่วนการปั่นแยกตะกอนออกจากกากน้ำตาล พบว่าลดปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาลได้น้อยมาก โดยเปรียบเทียบค่าความชันของสมการถดถอยระหว่างกากน้ำตาลที่ทำการปั่นแยกตะกอนกับกากน้ำตาลที่ไม่ได้ทำการปั่นแยกตะกอนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.01$)

ดังนั้นจากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาล พบว่ากากน้ำตาลจากโรงงาน A, B, C และ D 1 กรัม มีปริมาณสารประกอบควอเทอร์นารแอมโมเนียม 3.66, 4.38, 2.89 และ 6.73 ไมโครกรัม ตามลำดับ ส่วนผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการหมักเอธานอล พบว่าสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมมากกว่า 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงจะมีผลยับยั้งการหมักเอธานอล สำหรับค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในกากน้ำตาล ที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.0021, 0.0035 และ 0.0054 (นาที)$^{-1}$ ตามลำดับ โดยค่าการลดลง

ครึ่งหนึ่งของปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 330, 198 และ 128.4 นาที ตามลำดับ