

# สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาจนผลศาสตร์ของกระบวนการหมักโดยใช้แบบจำลองสามมิติ



เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 33527

วัน, เดือน, ปี 13 ส.ค. 2542

โครงการพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงปีการศึกษา 2541 อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Fermentation Kinetics Study by Three-Dimensional Model



A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the  
Requirement for the Degree of Bachelor of Science  
Department of Applied Biology  
Faculty of Science

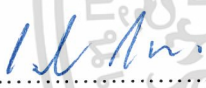
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

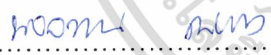
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
1998  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


หัวข้อโครงการพิเศษ : การศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก โดยใช้แบบจำลองสามมิติ  
ผู้เสนอ : นายณัฐสิทธิ์ ชนะปักษ์  
นายสุรพงษ์ อัญชฎีพร  
นายศุวัฒน์ ชูคเทพ  
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. อรไท สุขเจริญ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นำโครงการพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

  
..... หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์  
(รศ.ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต)

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ  
  
..... ประธานกรรมการ  
(ผศ. เนาวรัตน์ ปานเยี่ยม)

  
..... กรรมการ  
(ผศ. ดร. นवलพรธม ญ ระนอง)

  
..... กรรมการ  
(ผศ. อรไท สุขเจริญ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ข้อมูลใดๆ ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

หัวข้อ ครงงานพิเศษ : การศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักโดยใช้แบบจำลองสามมิติ  
 ผู้เสนอ : นายณัฐสิทธิ์ ฐานะปิกย์  
 นายสุรพงษ์ อัญชูลิพร  
 นายสุวัฒน์ ชูคเทพ  
 อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.อรไท สุขเจริญ  
 ภาควิชา : ชีววิทยาประยุกต์  
 ปีการศึกษา : 2541

### บทคัดย่อ

จลนพลศาสตร์การหมัก คือ การเปลี่ยนแปลง การใช้สารอาหาร (S) การเจริญของเซลล์ (X) และ การสร้างผลิตภัณฑ์ (P) ที่เวลาต่างๆ ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญ สำหรับการขยายขนาด (scale-up) และ การควบคุมสถานะให้เหมาะสม (optimal control) สำหรับโครงการพิเศษฉบับนี้ จะศึกษาความสัมพันธ์ การเจริญของเซลล์ การใช้สารอาหาร และ การสร้างผลิตภัณฑ์ ของการผลิตกรดแลคติก และ เอทานอล โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสามารถอธิบายโดยใช้สมการ  $\frac{1}{Y_c}X + \frac{1}{Y_p}P + S = K$  แล้วนำมาแสดงในรูปของระนาบการหมัก

Special Project Title : Fermentation Kinetics Study by Three-Dimensional Model

Name : Mr. Nattasit Thanapak  
 Mr. Surapong Unchuleeporn  
 Mr. Suwat Choodtep

Special Project Adviser : Assistant Professor Oratai Sukcharoen

Department : Applied Biology

Academic Year : 1998

### Abstract

Fermentation kinetics are change of substrate consumption (S), cell growth (X) and production formation (P) in fermentation at different times . These are the theoretical basis for scale-up and optimal control. This study investigated the relationships among substrate consumption (S) ,cell growth (X) and production formation (P) of lactic acid and ethanol production from glucose. It was explained by mathematics equation. The equation is:  $\frac{1}{Y_p}X + \frac{1}{Y_r}P + S = K$  that was shown in the fermentation plane.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต และสามารถสำเร็จดูตัวไปได้ด้วยดีนั้น คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.อรไท สุขเจริญ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และข้อเสนอแนะในการแก้ปัญหาต่างๆ ตลอดจนเอกสารต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการจัดทำโครงการฉบับนี้เป็นอย่างมาก และคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.นवलพรรณ ณ ระนอง และ ผศ.เนาวรัตน์ ปานแย้ม กรรมการสอบโครงการพิเศษ ที่ช่วยในให้คำแนะนำ และ การตรวจทานโครงการพิเศษฉบับนี้ นอกจากนี้ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ตาโรจน์ ศิริสันตนิยกุล และ ดร.วิรัตน์ วาณิชศรีรัตน จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับวิธีการสร้างแบบจำลอง

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากโครงการพิเศษฉบับนี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่าน คิงกล่าวข้างต้น คณะผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ไว้ ณ โอกาสนี้

คณะผู้จัดทำ

9 มีนาคม 2542

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
สัญลักษณ์	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1-2
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ	3
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.2 จดทะเบียนเอกสารของกระบวนการหมัก	4-7
2.3 แบบจำลอง	7-14
2.4 การผลิตกรดแลคติก	15
2.5 การผลิตเอทานอล	15-17
บทที่ 3 การดำเนินการทดลอง	
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	18
3.2 วิธีทดลอง	19-20
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	
4.1 ผลการผลิตกรดแลคติก	21
4.2 ผลการผลิตเอทานอล	22
4.3 ผลจากการสร้างแบบจำลอง	25-36
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	
5.1 สรุปผลการทดลอง	37-39
5.2 ข้อเสนอแนะ	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	40
ภาคผนวก ก	
1) สูตรอาหาร	41
2) การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์	41
3) การวิเคราะห์	42-43
ภาคผนวก ข	
1) กราฟมาตรฐานกลูโคส	44
2) กราฟมาตรฐานเอทานอล	44
3) กราฟแสดงการวิเคราะห์เอทานอล	45
ภาคผนวก ค	
ผลการทดลองของ Ishizaki และคณะ	46-47



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แผนผังการทดลองประกอบด้วย 9 หน่วยทดลอง	19
2	แสดงค่าเฉลี่ยของ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเซลล์ และปริมาณ เอทานอลที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณ เซลล์เริ่มต้นต่างๆ	22
3	แสดงค่าเฉลี่ยของ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเซลล์ และปริมาณ เอทานอล ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณ เซลล์เริ่มต้นต่างๆ	23
4	แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเซลล์ และ ปริมาณ เอทานอล ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 150 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณ เซลล์เริ่มต้นต่างๆ	24
5	แสดงผลการประมาณค่าพารามิเตอร์ $Y_G$ , $Y_P$ และ $K$ ที่ความเข้มข้น กลูโคสต่างๆ	25
6	แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการทดลองกับการ คำนวณ ที่กลูโคสเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร	26
7	แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการทดลองกับการ คำนวณ ที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร	26
8	แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการทดลองกับการ คำนวณ ที่กลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร	27
9	แสดงการเปรียบเทียบผลกรดแลกติกที่ได้จากการทดลอง กับ ผลที่ได้จาก การคำนวณ ที่กลูโคสเริ่มต้นทั้ง 3 ค่าโดยใช้ t-test	31
10	แสดงผลการประมาณค่าพารามิเตอร์ $Y_G$ , $Y_P$ และ $K$ ที่ความเข้มข้นกลูโคส และเซลล์ ดังตาราง	31
11	แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณเอทานอลที่ได้จาก การทดลองกับการ คำนวณ ที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และ เซลล์เริ่มต้นที่ $1.05 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่	หน้า
12 แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการทดลองกับกร คำนวณที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และเซลล์เริ่มต้นที่ $3.00 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร	33
13 แสดงการเปรียบเทียบผลของเอทานอลที่ได้จากการทดลอง กับ ผลที่ได้ จากการคำนวณ โดยใช้ t-test	36
14 แสดงผลการทดลองของ Ishizaki และคณะในการผลิตกรดแลคติกที่ กลูโคสเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ	46
15 แสดงผลการทดลองของ Ishizaki และคณะในการผลิตกรดแลคติก ที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ	46
16 แสดงผลการทดลองของ Ishizaki และคณะในการผลิตกรดแลคติก ที่กลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงการเปรียบเทียบการออกแบบการทดลองแบบต่างๆ	1
2	แสดงตัวอย่างแบบจำลองชนิดต่างๆที่นำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุม กระบวนการทางชีวภาพ	10
3	แสดงการส่งข้อมูลเข้าและการแสดงผล	10
4	ขั้นตอนการสร้างแบบจำลอง	12
5	ขั้นตอนการดำเนินงาน โดย Simplex Search Method	13
6	กราฟแสดงผลการจำลองแบบปัญหาของกระบวนการหมักกรดซัคทริก	14
7	การใช้น้ำตาลกลูโคส โดยเซลล์ของยีสต์	16
8	กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของ ปริมาณสาร อาหาร ปริมาณเซลล์ และกรดแลคติก ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร	28
9	กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร อาหาร ปริมาณเซลล์ และกรดแลคติก ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร	29
10	กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร อาหาร ปริมาณเซลล์ และกรดแลคติก ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร	30
11	กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร อาหาร ปริมาณเซลล์ และ เอทานอล ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และเซลล์เริ่มต้นที่ $1.05 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร	34
12	กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร อาหาร ปริมาณเซลล์ และ เอทานอล ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และเซลล์เริ่มต้นที่ $3.00 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร	35
13	แสดงกราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	44
14	แสดงกราฟมาตรฐานเอทานอล	44
15	แสดงตัวอย่างกราฟจากการวิเคราะห์เอทานอล	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัญลักษณ์

X	คือ ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)
P	คือ ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)
S	คือ ความเข้มข้นของสารอาหารในถังหมัก (กรัมต่อลิตร)
$\mu$	คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate ,hr <sup>-1</sup> )
$\mu_{max}$	คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (maximum specific growth - rate ,hr <sup>-1</sup> )
$\alpha$	คือ อัตราการตายจำเพาะของเซลล์ (specific death rate , hr <sup>-1</sup> )
$\beta$	คือ อัตราการสลายของผลิตภัณฑ์ (rate of product denaturation ,hr <sup>-1</sup> )
$Y_{x/s}$ ( $Y_G$ )	คือ ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร (biomass yield coefficient, g/l)
$Y_{p/s}$ ( $Y_p$ )	คือ ผลได้ของผลิตภัณฑ์จากสารอาหาร (product yield coefficient, g/l)
$q_p$	คือ อัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ (product formation rate, hr <sup>-1</sup> )
m	คือ สัมประสิทธิ์การใช้สารอาหารเพื่อการยังชีพ (maintenance coefficient for cell on substrate, g.g <sup>-1</sup> .hr <sup>-1</sup> )
$K_s$	คือ ค่าคงที่การอิ่มตัวของสารอาหาร ที่ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (saturation constant, hr <sup>-1</sup> )

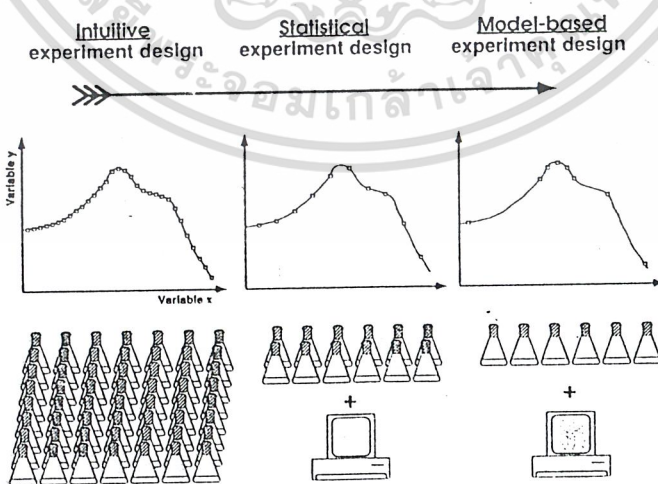
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันแบบจำลอง (Model) ได้ถูกนำมาใช้ในการแก้ปัญหาอย่างกว้างขวางร่วมไปถึงกระบวนการทางชีวภาพ (bioprocess) ซึ่งกำลังได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ และต้นทุนการผลิตต่ำ ซึ่งเดิมในการพัฒนากระบวนการทางชีวภาพ เช่น การพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อ จะทำโดย ใช้ความชำนาญ และ การลองผิดลองถูก ซึ่งจะต้องใช้จำนวนหน่วยทดลองเป็นจำนวนมาก ดังแสดงในรูปที่ 1 ในบางครั้งได้มีการปรับปรุงการทดลอง โดยการนำเอาวิธีการทางสถิติมาใช้ในการออกแบบ ซึ่งจะช่วยให้สามารถลดต้นทุน และ เวลาที่ใช้ลง เนื่องจากสามารถลดจำนวนหน่วยทดลองได้ รวมทั้งข้อมูลที่ได้เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากมีการใช้สถิติในการพิจารณาผลการทดลอง ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงการทดลองเพื่อให้สามารถลดจำนวนหน่วยทดลอง และ ประหยัดเวลาลงไปได้อีก โดยใช้วิธีที่เรียกว่า การออกแบบการทดลองโดยใช้แบบจำลอง (model-based experiment design) เป็นการอธิบายปรากฏการณ์ต่างๆ โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์ ซึ่งจะช่วยสนับสนุนการทดลอง ทำให้การใช้หน่วยทดลอง และ ต้นทุนลดลง และ ยังคงให้ผลการทดลองเหมือนกับการทดลองที่ไม่ใช้แบบจำลองอีกด้วย ซึ่งช่วยทำให้กระบวนการทางชีวภาพมีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว



เอกสารนี้เป็นรูปที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบการออกแบบการทดลองแบบต่างๆ (Jochen, B., 1994) เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำแบบจำลองมาใช้ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก จะใช้ทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลง ของเซลล์ การใช้สารอาหาร และการสร้างผลิตภัณฑ์ ที่เวลาต่างๆ ภายในถังหมัก ซึ่งจลนพลศาสตร์ของการหมัก (fermentation kinetics) เป็นหลักพื้นฐานที่นำมาใช้วิเคราะห์ในการขยายขนาด (scale up) และการควบคุมสภาวะที่เหมาะสม (optimal control) ของกระบวนการหมัก เพื่อช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการหมัก ปกติในการศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักนั้น จะทำการศึกษาแยกออกเป็น 3 ส่วน คือ ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการเจริญของจุลินทรีย์ ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการใช้สารตั้งต้น และศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสร้างผลิตภัณฑ์ ที่เวลาต่างๆ ซึ่งในกระบวนการหมักโดยทั่วไป พบว่า การเจริญของจุลินทรีย์ การใช้สารตั้งต้น และการสร้างผลิตภัณฑ์ มีส่วนที่สัมพันธ์กัน ดังนั้นในโรงงานพิเศษนี้จึงได้นำเอาความสัมพันธ์ดังกล่าวมาสร้างเป็นแบบจำลองแสดงออกมาในรูปของระนาบสามมิติ ซึ่งถูกเรียกว่า ระนาบของการหมัก (fermentation plane) ซึ่งจะสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ สารตั้งต้น และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ในระหว่างกระบวนการหมัก ผลที่ได้จากสมการระนาบหรือแบบจำลองที่ได้นี้ ถ้าให้ผลเหมือนหรือใกล้เคียงกับผลจากการทดลองแล้วจะทำให้แบบจำลองนี้มีประโยชน์ที่จะนำไปใช้งาน ทั้งการออกแบบ การวางแผนการทดลอง ตลอดจนนำไปใช้ในการทำนาย หรือคาดการณ์ในสิ่งต่างๆที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก

ในการสร้างระนาบของกระบวนการหมัก สำหรับโรงงานพิเศษนี้จะศึกษาจลนพลศาสตร์การหมักกรดแลคติก โดยใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* IO-1 ซึ่งเป็นงานวิจัยของ Ishizaki และคณะ(1992) และ การหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Sacharomyces calbergensis* ATCC 44732 เนื่องจากกระบวนการหมักทั้งสองเป็นการหมักแบบที่มีการสร้างผลิตภัณฑ์ที่สัมพันธ์กับการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งทำให้สามารถศึกษาจลนพลศาสตร์ได้ง่าย ระนาบของกระบวนการหมักที่ได้จากกระบวนการหมักทั้งสองนี้ เมื่อทำการหาขอบเขตการใช้งานแล้ว จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการหมักที่อยู่ในสภาวะเดียวกันนี้ และ อยู่ในขอบเขตที่กำหนดต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1. ศึกษาขอบเขตการใช้แบบจำลองสามมิติในกระบวนการหมักกรดแลคติก และกระบวนการหมักเอทานอล
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจลนพลศาสตร์ของการเจริญของจุลินทรีย์ จลนพลศาสตร์ของการใช้สารตั้งต้น และ จลนพลศาสตร์ของการสร้างผลิตภัณฑ์โดยใช้แบบจำลองสามมิติ สร้างเป็นระนาบของกระบวนการหมัก

## 1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของจุลินทรีย์ การใช้สารตั้งต้น และการสร้างผลิตภัณฑ์ในเวลาต่างๆ ในการผลิตกรดแลคติก โดยใช้ผลการทดลองจากงานวิจัยของ Ishizaki และคณะ(1992) มาสร้างเป็นระนาบของกระบวนการหมัก พร้อมทั้งหาขอบเขตของระนาบการหมัก
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของจุลินทรีย์ การใช้สารตั้งต้น และการสร้างผลิตภัณฑ์ในเวลาต่างๆ ในการผลิตเอทานอล โดยทำการทดลองการหมักแบบกะ (batch) แล้วนำผลที่ได้จากการทดลองของตัวแปรทั้งสามมาสร้างเป็นระนาบของการหมัก พร้อมทั้งหาขอบเขตของระนาบการหมัก

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำแบบจำลองที่ได้มาใช้ในการทำนาย หรือคาดการณ์การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของกระบวนการหมักกรดแลคติกและกระบวนการหมักเอทานอล ซึ่งมีสถานะและขอบเขตเช่นเดียวกับที่โครงการพิเศษฉบับนี้กำหนดไว้
2. สามารถนำแบบจำลองที่ได้ มาใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักให้ชัดเจนขึ้น
3. เป็นแนวทางในการศึกษาและพัฒนาแบบจำลองจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักต่างๆทางชีวภาพต่อไป
4. เป็นแนวทางในการนำแบบจำลองที่ได้นี้มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการหมักต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 2.1 จลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก (Scragg, A.H., 1991, กลยุทธ์ และนิสิต 2535)

การที่จะสร้างแบบจำลองของกระบวนการหมักได้นั้น จำเป็นต้องทราบสมการที่แสดงอัตราการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ดังนี้

1. สมการแสดงอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์
2. สมการแสดงอัตราการใช้สารอาหาร
3. สมการแสดงอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการหมักแบบกะ (Batch fermentation)

##### 2.1.1 สมการแสดงอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ (Specific growth rate)

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ สามารถอธิบายได้โดย การทำสมมูลของเซลล์ ซึ่งแสดงได้ดังสมการที่ (1)  
อัตราการสะสมของอาหาร = อัตราการเจริญเติบโต - อัตราการตาย

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \alpha X \quad \text{สมการที่ (1)}$$

เมื่อ  $X$  คือ ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)

$\mu$  คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate,  $\text{hr}^{-1}$ )

$\alpha$  คือ อัตราการตายจำเพาะของเซลล์ (specific death rate,  $\text{hr}^{-1}$ )

ในกรณีของการหมักแบบกะ เมื่อพิจารณาให้อัตราการตายจำเพาะของเซลล์มีค่าน้อยกว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมากๆแล้วจะสามารถจัดรูปให้อยู่ในรูป

$$\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \mu \quad \text{สมการที่ (2)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.2 สมการแสดงอัตราการใช้สารอาหาร (Substrate utilization rate)

การศึกษาอัตราการใช้สารอาหาร สามารถอธิบายได้โดยการทำสมดุลของสารอาหาร ซึ่งแสดงได้ดังสมการที่ (3)

อัตราการสะสมของสารอาหาร = - (อัตราการใช้สารอาหารเพื่อการเจริญ +  
อัตราการใช้สารอาหารเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์ +  
อัตราการใช้สารอาหารเพื่อการยังชีพ)

$$\frac{dS}{dt} = - \left( \frac{\mu X}{Y_{x/s}} + \frac{q_p X}{Y_{p/s}} + mX \right) \quad \text{สมการที่ (3)}$$

เมื่อ S คือ ความเข้มข้นของสารอาหารในถังหมัก (กรัมต่อลิตร)

$Y_{x/s}$  คือ ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร (biomass yield coefficient, g/l)

$Y_{p/s}$  คือ ผลได้ของผลิตภัณฑ์จากสารอาหาร (product yield coefficient, g/l)

$q_p$  คือ อัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ (product formation rate, hr<sup>-1</sup>)

m คือ สัมประสิทธิ์การใช้สารอาหารเพื่อการยังชีพ (maintenance coefficient for cell on substrate, g·g<sup>-1</sup>·hr<sup>-1</sup>)

ในกรณีเมื่อพิจารณาให้ค่าสัมประสิทธิ์การใช้สารอาหารเพื่อการยังชีพมีค่าน้อยมาก สามารถจัดให้อยู่ในรูป

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{x/s}} + \frac{q_p X}{Y_{p/s}} \quad \text{สมการที่ (4)}$$

### 2.1.3 สมการแสดงอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์ (Product formation rate)

การศึกษาอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์ซึ่งสามารถอธิบายโดย การทำสมดุลของผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในสมการที่ (5)

อัตราการสะสมของผลิตภัณฑ์ = (อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์ - อัตราการสลาย  
ของผลิตภัณฑ์)

$$\frac{dP}{dt} = q_p X - \beta P \quad \text{สมการที่ (5)}$$

เมื่อ P คือ ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)

$\beta$  คือ อัตราการสลายของผลิตภัณฑ์ (rate of product denaturation, hr<sup>-1</sup>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกรณีที่พิจารณาให้ผลิตภัณฑ์มีความเสถียร (product stable) สามารถจัดอยู่ในรูป

$$\frac{dP}{dt} = q_p X \quad \text{สมการที่ (6)}$$

#### 2.1.4 ผลได้ของเซลล์และผลิตภัณฑ์ (Biomass and product yield)

ผลได้ของเซลล์ ( $Y_{x/s}$ ) และ ผลิตภัณฑ์ ( $Y_{p/s}$ ) เป็นพารามิเตอร์ที่แสดงถึงประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์และผลิตภัณฑ์ตามลำดับ ซึ่งสามารถแสดงได้ดังสมการต่อไปนี้

$$\frac{dX}{dt} = -Y_{x/s} \frac{dS}{dt}$$

หรือ

$$Y_{x/s} = \frac{\Delta X}{\Delta S}$$

สมการที่ (7)

และ

$$\frac{dP}{dt} = -Y_{p/s} \frac{dS}{dt}$$

หรือ

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{\Delta S}$$

สมการที่ (8)

#### 2.1.5 ผลกระทบของความเข้มข้นของสารอาหารที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Effect of substrate concentration on specific growth rate)

ผลกระทบของความเข้มข้นของสารอาหารที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสามารถแสดงได้โดยสมการของ Monod ดังนี้

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

สมการที่ (9)

เมื่อ  $\mu_{\max}$  คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (maximum specific growth rate,  $\text{hr}^{-1}$ )

$K_s$  คือ ค่าคงที่การอิ่มตัวของสารอาหาร (saturation constant,  $\text{hr}^{-1}$ )

ที่ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด

$S$  คือ ความเข้มข้นของสารอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการจัดสมการของ Monod ให้อยู่ในรูปสมการเส้นตรงโดยกลับเศษเป็นส่วนเรียกว่า Lineweaver-Burk plot ดังนี้

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\max}} \quad \text{สมการ (10)}$$

จากสมการที่ (10) สามารถหาค่าพารามิเตอร์  $\mu_{\max}$  และ  $K_s$  ได้โดยเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง  $1/S$  และ  $1/\mu$  จะได้ความชันเท่ากับ  $K_s/\mu_{\max}$  และ จุดตัดแกน  $y$  ( $1/S=0$ ) คือ  $1/\mu_{\max}$

## 2.2 แบบจำลอง (Model)

“แบบจำลอง” (Model) มีด้วยกัน 3 ความหมาย คือ (สมภพ, 2536)

### 1) แบบจำลองที่หมายถึง ต้นแบบ (prototype)

อาจจะเป็นแบบจำลองของของจริงหรือของสถานการณ์ก็ได้ ถ้าเป็นแบบจำลองของของจริงก็จะสร้างให้เหมือนของจริงทุกอย่างทั้งภายนอกและภายใน แต่ย่อส่วนลงมา มีรายละเอียดมากพอที่จะศึกษาตัวแปรจากแบบจำลองแล้วอนุมานหาค่าของตัวแปรชนิดเดียวกันในของจริงได้ เช่น แบบจำลองของตึกสูง แบบจำลองของเครื่องบิน เป็นต้น ถ้าเป็นแบบจำลองของสถานการณ์ บางครั้งเราอาจจะลดตัวแปรที่ไม่สำคัญบางตัวลงได้ แต่ก็มีบ่อยครั้งที่รักษาตัวแปรทุกตัวให้เหมือนสถานการณ์จริง เพียงแต่ลดขนาดการเก็บรวบรวมข้อมูลสำหรับตัวแปรเหล่านี้ วิธีการจำลองแบบ (simulation) เช่นนี้ นิยมทำกันมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีที่สามารถใช้คอมพิวเตอร์ทำหน้าที่นี้

### 2) แบบจำลองที่หมายถึง ตัวแบบ (mould)

เป็นตัวแบบหรือเบ้าหลอมที่จะ “หลอม” หลากหลายอย่างที่แตกต่างกันให้สามารถอยู่ภายใต้กฎเกณฑ์อันเดียวกันเห็นได้ชัดว่า “แบบจำลองคณิตศาสตร์” มีความหมายในแง่นี้ เพราะของหลายอย่างที่แตกต่างกัน แต่มีโครงสร้างเหมือนกันอาจจะศึกษาภายใต้กฎเกณฑ์คณิตศาสตร์อันเดียวกัน เช่น การเคลื่อนที่ภายใต้แรงเสียดทานมีโครงสร้างเหมือนกันกับกระแสไฟฟ้าสลับทั้งสองอย่าง สามารถศึกษาได้จากสมการเชิงอนุพันธ์สามัญอันดับสองที่คล้ายคลึงกัน ตัวอย่างสำคัญอีกตัวอย่างหนึ่งก็คือ ตารางบูลีน (Boolean) หรือที่นักตรรกศาสตร์เรียกว่า “ตารางค่าความจริง” (truth-value tables) บางตารางมีโครงสร้างเหมือนกับการดำเนินการบวกเลข 1 บิต (bit) ในแง่ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การให้เลขผลลัพธ์ (result) และเลขทด (carry digit) ได้ถูกต้อง ตารางบิตก็เลยกลายเป็นตัวแบบที่จะสร้างวงจรรีเลย์ทรอนิกส์เพื่อหาผลบวกของเลข 1 บิต จำนวน 2 ตัว

3) แบบจำลองที่หมายถึง รูปแบบ (forms) หรือ แบบแผน (formats) ของการทำงาน

ในแง่ที่เราอาจจะลดรายละเอียดลงไปบ้าง เช่น ทรงกลมเป็นแบบจำลองของโลก การเคลื่อนที่บนทางโค้งรัศมี  $a$  ของรถยนต์ขนาดเล็กมีแบบจำลองที่มีรูปแบบเป็นการเคลื่อนที่ของ “อนุภาค” ที่วิ่งบนวงกลมรัศมี  $a$  โดยมีจุดศูนย์กลางของรถยนต์เป็น “อนุภาค” นั้น ตัวอย่างอีกตัวอย่างหนึ่งก็คือ แบบจำลองของการลดปริมาณการจราจรในนครใหญ่ๆ ก็คือ แบบแผนของงานสร้างรถลอยฟ้าขนส่งมวลชนสร้างสะพานลอย สร้างสถานีขนส่งสินค้าขานเมือง ฯลฯ

ความหมายที่ 3 นี้ต้องเป็นแบบจำลองคณิตศาสตร์ เพราะต้องมีตัวเลขแสดงทุกระยะ และ ต้องมีสมการกำกับตัวเลขที่เป็นตัวแปรด้วย

### 2.2.1 แบบจำลองสำหรับกระบวนการหมัก (Fermentation process model)

การสร้างสมการหรือแบบจำลองเพื่ออธิบายกลไกต่างๆ ที่เกิดขึ้นในกระบวนการทางชีวภาพ ไม่ว่าจะเป็นที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ หรือ เซลล์ในถังหมัก ในรูปแบบต่างๆ นั้น จะต้องทำความเข้าใจถึงพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง หรือ มีส่วนที่สัมพันธ์กันในลักษณะต่างๆ ก่อน จึงจะสามารถสร้างสมการหรือแบบจำลองนั้นได้ แบบจำลองที่ได้นี้เมื่อคำนวณแล้วได้ผลที่เหมือน หรือ ใกล้เคียงกับผลการทดลองแล้ว จะทำให้แบบจำลองนั้นมีประโยชน์ที่จะนำไปใช้งานทั้งการออกแบบ และ วางแผนการทดลอง ตลอดจนการใช้ทำนาย หรือ คาดการณ์ปรากฏการณ์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในถังหมัก

ตัวอย่างแบบจำลองที่นิยมใช้ในการควบคุมกระบวนการทางชีวภาพ ดังแสดงในรูปที่ 2 ได้แก่ (Wiechert, et.al., 1992)

#### 1) Deterministic models

เป็นแบบจำลองที่แสดงถึงการไหลสารอาหาร การเจริญของเซลล์ และการสร้างผลิตภัณฑ์ ซึ่งมักจะแสดงรูป สมการเชิงอนุพันธ์ และ พีชคณิต (differential and algebraic equations) โดยแบบจำลองชนิดนี้ใช้เทคนิคการสร้างเส้นโค้งที่เหมาะสม (curve fitting) เพื่อใช้ในการทำนายและควบคุมสถานะที่เหมาะสม สำหรับตัวอย่างการใช้แบบจำลองชนิดนี้ เช่น โปรแกรม ISIM (Interactive Simulation language)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2) Stochastic models

เป็นแบบจำลองสามารถนำไปใช้ได้หลายแนวทาง โดยประยุกต์จากทฤษฎี stochastic dynamical systems ซึ่งจะนำมาใช้กับ วิธีการควบคุมแบบย้อนกลับ (feedback control) การสังเกตโครงสร้าง (observer construction) การกรองกระแส (filtering)

## 3) Statistical models

เป็นแบบจำลองที่อาศัยวิธีการต่างๆทางสถิติ โดยนำมาใช้ในการประมาณค่าของการทำสมมูลเมทาบอลิซึม ซึ่งไม่สามารถตรวจวัดได้ทางปริมาณ หรือ การวิเคราะห์ส่วนที่เกินมา

## 4) Classification models

เป็นเครื่องมือที่นำมาใช้การแยกประเภทข้อมูล สำหรับการตรวจวัดในระยะเวลาที่มีการเปลี่ยนแปลง ในกรณีที่เครื่องตรวจวัด (sensor) ไม่สามารถสามารถตรวจวัดได้หรือเพื่อศึกษาสภาวะทางสรีระวิทยาของกระบวนการหมัก โดยการใช้ neural nets สามารถทำให้เห็นรูปแบบพิเศษของข้อมูล

## 5) Approximation models

เป็นแบบจำลองที่ใช้การประมาณค่าฟังก์ชันแต่ไม่เฉพาะต่อฟังก์ชัน เช่น โพลีโนเมียล (polynomials) ตัวลดถอยไร้พารามิเตอร์ (nonparametric regressors) ร่วมกับการใช้ neural nets

## 6) Logical models

แบบจำลองนี้บางส่วนจะถูกแสดงในรูป ตรรกศาสตร์แคลคูลัส (logical calculus) โดยใช้ตรรกศาสตร์ในการวิเคราะห์ระบบ (expert system) สามารถนำมาใช้วินิจฉัยและทำนายผล

## 7) Fuzzy models

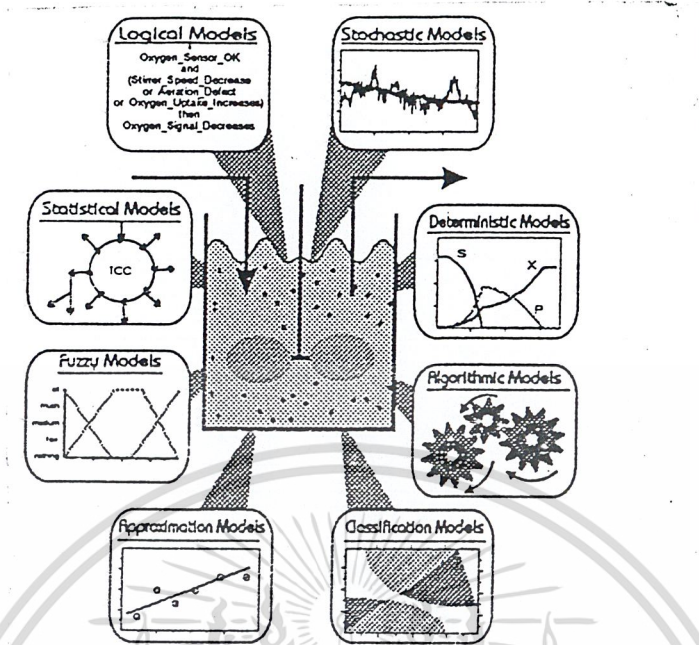
เป็นแบบจำลองที่ใช้ทฤษฎี fuzzy theory ซึ่งเกี่ยวข้องกับ fuzzy model , fuzzy logic, fuzzy control

## 8) Algorithmic and Heuristic models

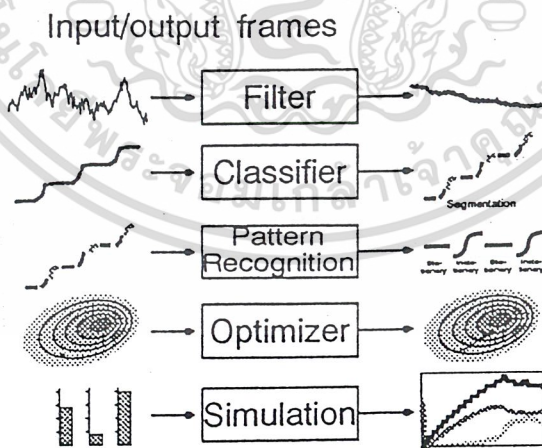
เป็นแบบจำลองกลไกของส่วนประกอบของระบบ ส่วนใหญ่

สามารถแสดงได้ง่ายโดย ชุดคำสั่ง (algorithm) ที่อธิบายโดยภาษาคอมพิวเตอร์บางภาษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

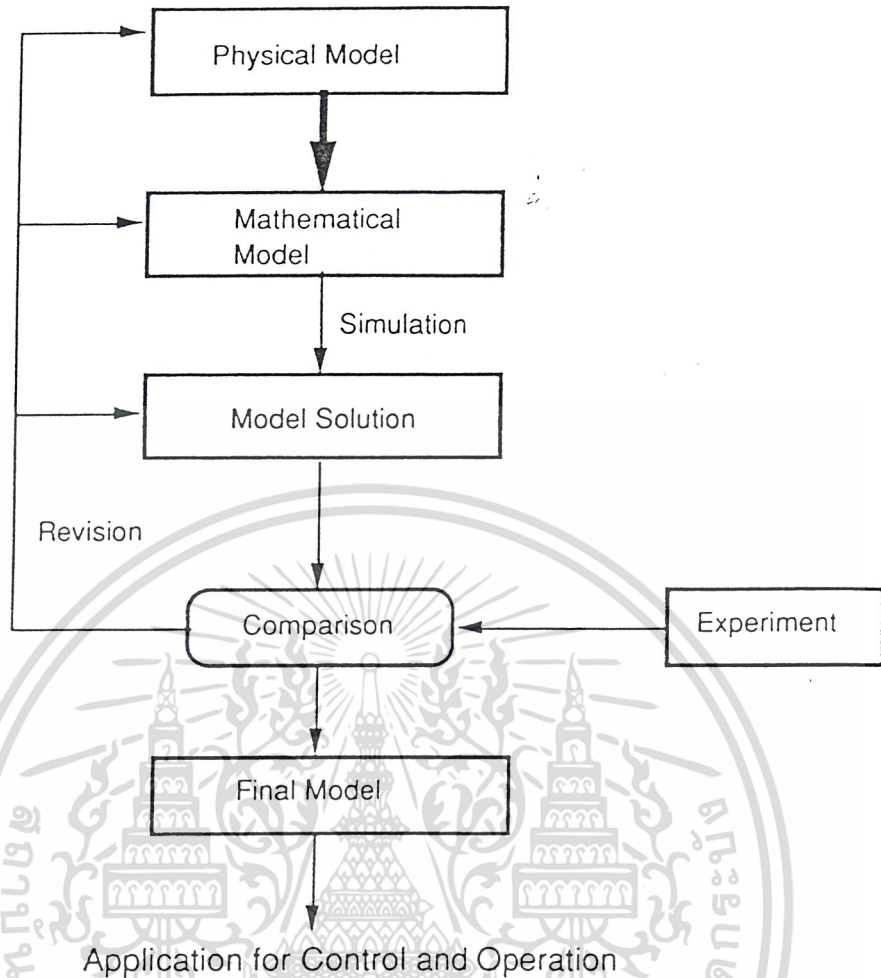


รูปที่ 2 แสดงตัวอย่างแบบจำลองชนิดต่างๆที่นำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมกระบวนการทางชีวภาพ (Wiechert, et.al., 1992)



รูปที่ 3 แสดงการส่งข้อมูลเข้าและการแสดงผล (Wiechert, et.al., 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 ขั้นตอนการสร้างแบบจำลอง (Scragg, 1991)

### 2.2.3 แบบจำลองสามมิติ (Three-dimensional model) (Zhang, et.al., 1994)

Zhang และคณะ ได้ทำการสร้างแบบจำลองการสามมิติสำหรับกระบวนการหมักขึ้น โดยศึกษาความสัมพันธ์ทางจลนพลศาสตร์ของ การเจริญของเซลล์ การใช้สารอาหาร และ การสร้างผลิตภัณฑ์ โดยเมื่อแทนค่าสมการที่ (2) และ สมการที่ (6) ลงในสมการที่ (4) จะได้

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \quad \text{สมการที่ (11)}$$

นั่นคือ

$$\frac{dS}{dt} + \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} = 0 \quad \text{สมการที่ (12)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่ออินทิเกรตสมการที่ (12) จะ ได้

$$(S - S_0) + \frac{1}{Y_{X/S}}(X - X_0) + \frac{1}{Y_{P/S}}(P - P_0) = 0 \quad \text{สมการที่ (13)}$$

จะได้

$$\frac{1}{Y_{X/S}}X + \frac{1}{Y_{P/S}}P + S = K \quad \text{สมการที่(14)}$$

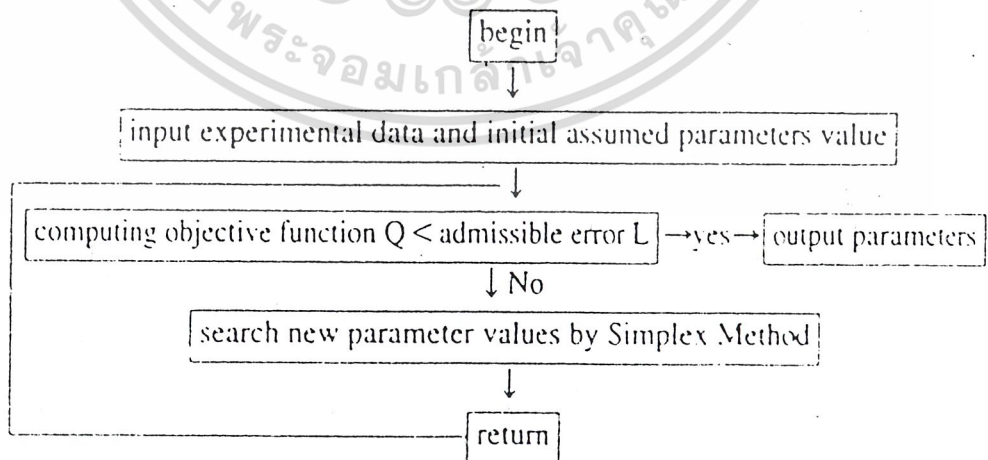
หรือ

$$\frac{1}{Y_G}X + \frac{1}{Y_P}P + S = K \quad \text{สมการที่ (15)}$$

เมื่อค่า K คือ ความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร) ซึ่ง ณ จุดนี้จะได้  $X_0$  และ  $P_0$  เท่ากับศูนย์

สมการที่ (15) แสดงถึง สมการในระนาบ 3 มิติ (X, P, S) เรียกว่า ระนาบของกระบวนการหมัก (fermentation plane) ซึ่ง ณ จุดๆ หนึ่งบนระนาบนี้ จะแสดงถึงความเข้มข้นของเซลล์ ผลิตภัณฑ์ และสารอาหาร ที่มีอยู่ในกระบวนการหมัก ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง

Zhang และคณะ ได้การประมาณค่าพารามิเตอร์ในสมการที่ (15) โดยใช้ nonlinear system technique ที่ชื่อว่า Simplex Search Method ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้วงนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
รูปที่ 5 ขั้นตอนการดำเนินงาน โดย Simplex Search Method (Zhang, 1997)  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากนั้น ทดสอบ goodness-of-fit โดยใช้ Fischer Test

จะข้อยกตัวอย่างระนาบของกระบวนการหมักกรดซิตริก สมการระนาบ คือ

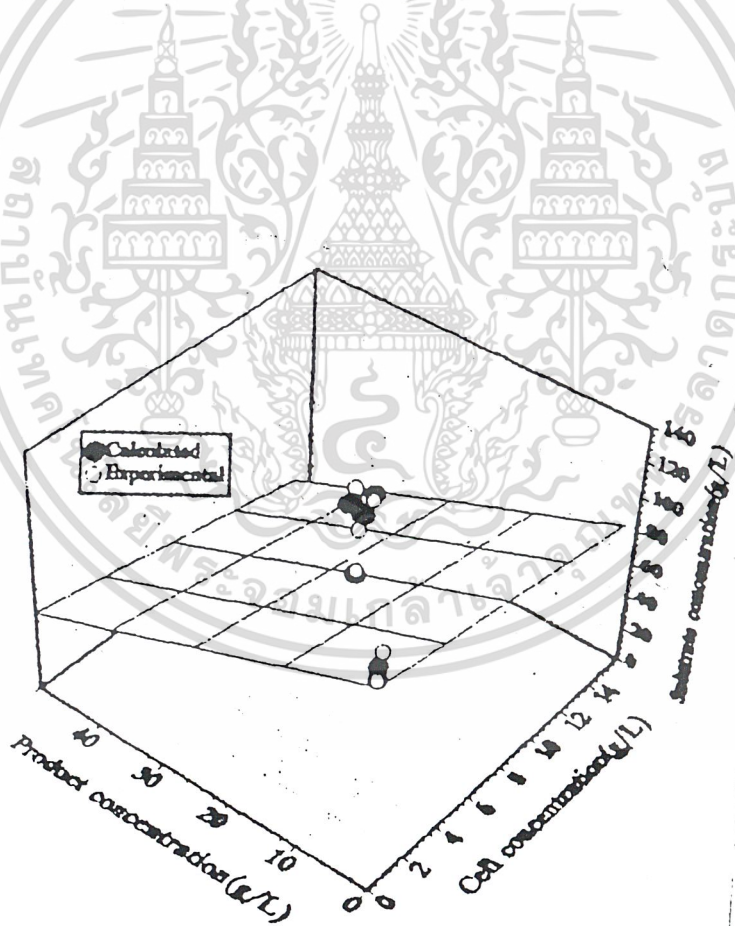
$$2.0251X + 1.4717P + (S - 120.7861) = 0 \quad \text{สมการที่ (16)}$$

$$\text{เมื่อ } Y_G = 0.4938 \text{ (g.g}^{-1}\text{)}$$

$$Y_P = 0.6795 \text{ (g.g}^{-1}\text{)}$$

$$K = 120.7861 \text{ (g.l}^{-1}\text{)}$$

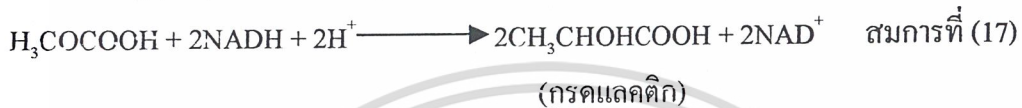
เมื่อทำการเปรียบเทียบผลจากการทดลองและผลจากการคำนวณ ความสัมพันธ์ของการเจริญของเซลล์ การสร้างกรดซิตริก และการใช้สารอาหาร โดยทดสอบ F-test ปรากฏว่า  $F_{x,p,s} < F_{0.05}$  นั่นคือ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (not significant) ผลที่ได้จากการจำลองแบบปัญหาจากสมการที่ (16) แสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 กราฟแสดงผลการจำลองแบบปัญหาของกระบวนการหมักกรดซิตริก  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นำไปเผยแพร่ประโยชน์ด้านการค้า  
(Zhang, et.al., 1997)  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

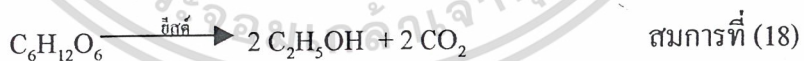
### 2.3 การผลิตกรดแลกติก

กรดแลกติก เป็นกรดที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ในอุตสาหกรรมพลาสติก แลคเกอร์ ยา เครื่องสำอาง อาหาร และเครื่องดื่ม ในการผลิตกรดแลกติกทางชีวภาพนั้นมักใช้เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactobacillaceae เช่น *Streptococcus* sp., *Lactobacillus* sp. เป็นต้น โดยเชื่อดังกล่าวสามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส 1 โมล เป็นกรดไพรูวิกในกระบวนการไกลโคลิซิส (glycolysis) ก่อนที่จะถูกเปลี่ยนต่อเป็นกรดแลกติกได้ 2 โมล ดังสมการ



### 2.4 การผลิตเอทานอล

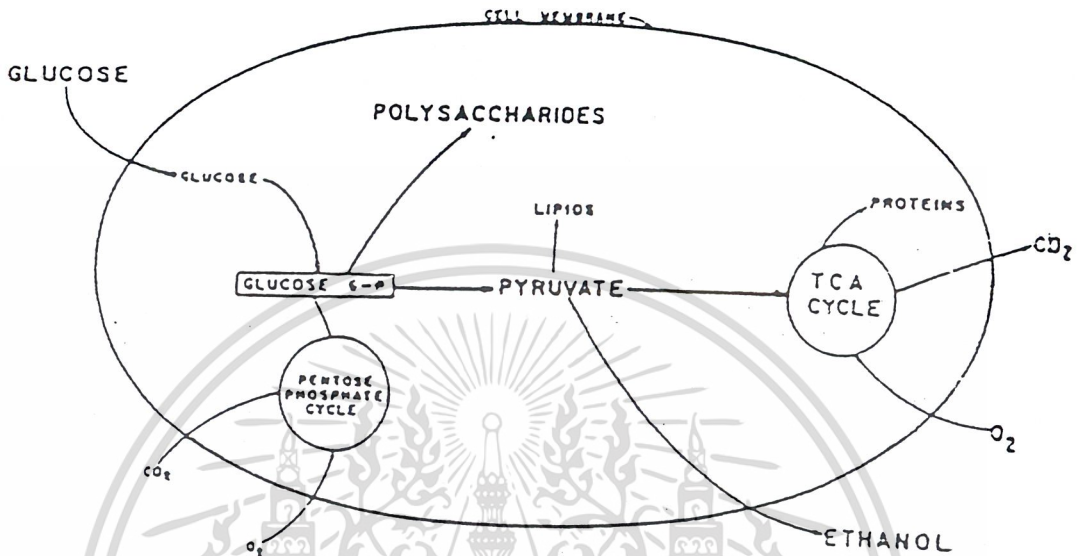
เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักเอทานอลส่วนใหญ่ คือ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *S. carlsbergensis* ความแตกต่างระหว่างยีสต์ 2 ตัวนี้ คือ *S. carlsbergensis* สามารถใช้น้ำตาลแรฟไฟโนสได้ ในขณะที่ *S. cerevisiae* ไม่สามารถใช้น้ำตาลนี้ได้ นอกจากนี้ ข้อแตกต่างระหว่างยีสต์ทั้งสองในด้านกระบวนการหมัก คือ *S. carlsbergensis* จะเกิดกระบวนการหมักแบบ bottom fermentation ซึ่งในระหว่างการหมักยีสต์จะแขวนลอยอยู่ในถังหมัก และใช้น้ำตาลกลูโคสในน้ำหมัก เมื่อน้ำตาลลดลงเกือบหมดแล้วยีสต์จะเริ่มเกาะกันเป็นกลุ่มและจมลงสู่ก้นถังหมัก การตกตะกอนนี้เรียกว่า flocculation ส่วนยีสต์ *S. cerevisiae* จะเกิดกระบวนการหมักแบบ top fermentation คือ ในระหว่างการหมักเชื้อยีสต์จะลอยขึ้นมาอยู่ที่ผิวหน้าของน้ำหมัก มีลักษณะเป็นชั้นยีสต์ที่หนา อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักอยู่ระหว่าง 18 – 22 องศาเซลเซียส ยีสต์เหล่านี้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดังสมการ



จากสมการแสดงปฏิกิริยาการหมักเอทานอลนั้น น้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล จะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล 2 โมเลกุล และเมื่อคิดในแง่น้ำหนักแล้ว น้ำตาลกลูโคส 1 กรัม จะให้เอทานอล 0.511 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณสูงสุดที่ผลิตได้ในทางทฤษฎี แต่ในการหมักทั่วไปพบว่าจะไม่ได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าค่าดังกล่าว เนื่องจากปฏิกิริยาข้างเคียง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์อื่นนอกเหนือจากเอทานอล เช่น กลีเซอรอล (glycerol) ซัคซิเนต (succinate) และ น้ำมันเชื้อเพลิง (fusel oil) เป็นต้น นอกจากนี้ ยีสต์ยังต้องการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลล์ใหม่ และสร้างพลังงานเพื่อการดำรงชีวิตของเซลล์อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของยีสต์ ได้แสดงไว้ในรูปที่ 7 ดังนี้



รูปที่ 7 การใช้น้ำตาลกลูโคสโดยเซลล์ของยีสต์ (คุษณี, 2538)

### ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์

#### 1) ความเข้มข้นของเอทานอล

โดยทั่วไปการเจริญ และการหมักเอทานอลของยีสต์จะถูกยับยั้งด้วยเอทานอล โดยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1-2 โดยน้ำหนัก ทำให้การเจริญของยีสต์ลดลง และการเจริญของยีสต์โดยทั่วไปจะหยุดเมื่อมีเอทานอลร้อยละ 4.7 - 7.8 โดยน้ำหนัก ดังนั้นเอทานอลจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งที่จำกัดการผลิต เอทานอลของยีสต์ (สาวตรี, 2536)

#### 2) ความเข้มข้นของน้ำตาล

กรณีที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกินขีดจำกัด คือ ประมาณร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเกิดการรบกวนของสารอาหารต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปได้ยาก และการหมักจะเป็นไปอย่างช้าและไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดกรดแลคติก กรดน้ำส้ม และสารอินทรีย์ต่าง ๆ ขึ้นได้ โดยปกติแล้วในกระบวนการหมักที่ต้องการให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปได้โดยปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรณีสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากนำไปใช้

และให้เอทานอลในปริมาณสูง จะใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อ ปริมาตร

3) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (Inoculum)

จากการทดลองการหมักเอทานอลของกมลและคณะ(2540) โดยหมักน้ำตาล ชูโครสต์ด้วยเชื้อ *S. carlsbergensis* ที่มีปริมาณเซลล์เริ่มต้นเป็น  $10^4$   $10^5$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อ มิลลิลิตร พบว่า การลดปริมาณเซลล์เริ่มต้นเป็น  $10^4$  จะพบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ มีปริมาณสูงสุดเป็นร้อยละ 10 ถึง 11

4) อุณหภูมิ

อุณหภูมิส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักจะอยู่ประมาณ 10 ถึง 30 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วงนี้จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์เพิ่มมากขึ้นเป็นสอง เท่า ถ้าอุณหภูมิสูงมากๆ จะทำให้เอนไซม์ในยีสต์เกิดสภาพอว่องไวต่อปฏิกิริยาลดลง และในช่วงระหว่าง 55 ถึง 56 องศาเซลเซียส จะทำให้ยีสต์ตายได้

5) pH

ยีสต์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีระหว่าง pH 3 ถึง 5 ซึ่งมีผลทำให้อัตราการ เจริญของยีสต์และอัตราการหมักเพิ่มขึ้น ความเป็นกรดจะป้องกันการเจริญของ แบคทีเรียและราบางชนิดได้ pH ที่ 6 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด ร้อยละ 11.4 (กมล และคณะ, 2540)

6) ออกซิเจน

ออกซิเจนจะถูกใช้ในการเจริญเติบโต และในกระบวนการหายใจเพื่อทำให้เกิด พลังงานในการดำรงชีวิต ซึ่งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของยีสต์ในที่ที่มีออกซิเจน จะไม่ให้เอทานอลออกมา แต่จะมีเพียงคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเกิดขึ้นเท่านั้น

7) การกวน

ในสถานะที่มีการกวนด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที โดยไม่มีการคัม อากาศ เป็นสถานะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอล ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 13.7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ดีกว่าสถานะที่มีทั้งการกวนและการให้อากาศ และสถานะ ที่ไม่มีทั้งการกวนและการให้อากาศ (กมลและคณะ, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

#### การดำเนินงานทดลอง

##### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี
- 2) เครื่องเขย่า
- 3) เครื่องชั่ง
- 4) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
- 5) เครื่องหมุนเหวี่ยง
- 6) เครื่องอบแห้ง
- 7) เครื่องนิ่งมาเชื่อมด้วยไอน้ำ
- 8) ตู้ปลอดเชื้อ
- 9) กระจกบอมน้ำกลั่น
- 10) กระจกอะลูมิเนียม
- 11) กล้องจุลทรรศน์
- 12) ขวดรูปชมพู่
- 13) ขวดลีซา
- 14) เข็มฉีดยา
- 15) คิวเวต
- 16) เคชีกเคเตอร์
- 17) บีกเกอร์
- 18) ปิเปตต์
- 19) ไมโครปิเปตต์
- 20) หลอดฝาเกลียวเก็บตัวอย่าง
- 21) หลอดทดลอง
- 22) เฮมาไซโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2 วิธีการทดลอง

#### 3.2.1. การผลิตกรดแลกติก

นำข้อมูลของผลการทดลองการผลิตกรดแลกติกของ Ishizaki และคณะ (1992) โดยใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* IO-1 มาตรฐานเป็นแบบจำลองสามมิติ

$$\text{โดยใช้สมการ } \frac{1}{Y_c}X + \frac{1}{Y_p}P + S = K$$

#### 3.2.2. การผลิตเอทานอล

ทำการหมักแบบกะ (batch) โดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces carlsbergensis* ATCC 44732 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

- 1) เตรียมสารแขวนลอย (suspension) ของเชื้อ *S. carlsbergensis* ATCC 44732 ที่เก็บอยู่ในอาหารเยิงแข็ง (YM slant) โดยใช้ น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที
- 2) วางแผนการทดลองโดยผันแปรความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและปริมาณเซลล์เริ่มต้นอย่างละ 3 ระดับ ดังนี้

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 3 ระดับ

ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (5)

ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (10)

ร้อยละ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (15)

ปริมาณเซลล์เริ่มต้น: 3 ระดับ

$1 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร (A)

$3 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร (B)

$1 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร (C)

จะได้หน่วยทดลองเท่ากับ  $3^2$  (three-level two factor) หรือเท่ากับ 9 หน่วยทดลองโดยทำหน่วยละ 2 ซ้ำ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แผนผังการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย 9 หน่วยทดลอง

ปริมาณเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ)		
	5	10	15
$1 \times 10^5$ (A)	5A	10A	15A
$3 \times 10^5$ (B)	5B	10B	15B
$1 \times 10^6$ (C)		10C	15C

เอกสารนี้เป็น 1X10<sup>6</sup> (C) ที่สงวนไว้สำหรับกร 5C ช่างานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3) ถ่ายสารแขวนลอยของเชื้อลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวกที่ (Abate et al., 1995) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ตามแผนผังการทดลองโดยแต่ละหน่วยทดลองทำการทดลอง 2 ซ้ำ
- 4) นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที
- 5) เก็บตัวอย่างแล้วนำมาวิเคราะห์ผล
- 6) การวิเคราะห์ผล
  - 6.1) วิเคราะห์ปริมาณเซลล์ โดยการหาน้ำหนักแห้ง (Dry weight method) (ตามภาคผนวก ก)
  - 6.2) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยการใช้กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid) (DNS) (ตามภาคผนวก ก)
  - 6.3) วิเคราะห์ปริมาณเอทานอล โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี (GC) (ตามภาคผนวก ก)
- 7) นำผลจากการวิเคราะห์มาสร้างเป็นแบบจำลองสามมิติ ที่มีสมการเป็น
 
$$\frac{1}{Y_o} X + \frac{1}{Y_p} P + S = K \quad \text{โดย}$$
  - 7.1) การประมาณค่าพารามิเตอร์ (estimation parameter)
    - นำผลจากการวิเคราะห์มาทำการประมาณค่าพารามิเตอร์  $Y_o$ ,  $Y_p$  และ  $K$
    - นำค่าพารามิเตอร์ที่ได้มาทดสอบความสัมพันธ์
  - 7.2) การจำลองแบบปัญหา (simulation)
    - นำค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการประมาณค่ามาแทนในสมการข้างต้นเพื่อทำการจำลองแบบปัญหา แล้วแสดงผลออกมาในรูปกราฟ
    - นำผลที่ได้จากการคำนวณมาทำการเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการทดลอง โดยใช้ t-test ที่ความเชื่อมั่น 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 การผลิตกรดแลกติก

จากข้อมูลผลทดลองของ Ishizaki คณะ(1992) ซึ่งผลิตกรดแลกติก จากเชื้อแบคทีเรีย *Lactococcus lactis* IO-1 ทำการหมักใน mini-jar-fermenter 1000 มิลลิลิตร โดยปริมาตรอาหารเหลวที่ใช้ 400 มิลลิลิตร มีระบบการกวน 500 รอบต่อนาที (rpm) ไม่มีการให้อากาศ ความคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และพีเอชที่ 6.0 โดยอาหารเหลวที่ใช้ประกอบด้วย

สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	5.0	กรัม
โพลีเปปโตน (polypeptone)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	กรัม

และทำการผันแปรความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 3 ระดับ คือ 10 50 และ 80 กรัมต่อลิตร โดยข้อมูลผลการทดลองแสดงใน (ภาคผนวก ค)

#### 4.2 การผลิตเอทานอล

จากการหมักเอทานอลที่เวลาต่างๆทั้งหมด 9 หน่วยการทดลอง โดยทำหน่วยละ 2 ชั่วโมง ทำการตรวจตรวจสอบ ปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ปริมาณสารอาหารที่ลดลง และ ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น แล้วหาค่าเฉลี่ยแต่ละหน่วยการทดลอง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2,3 และ 4

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยของ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเซลล์ และปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างๆ

Glucose 5% 1.05x10 <sup>5</sup> cells/ml				Glucose 5% 3.00x10 <sup>5</sup> cells/ml			Glucose 5% 1.05x10 <sup>6</sup> cells/ml		
Time (hr)	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)
0	0.03	51.70	0.00	0.05	51.09	0.00	0.05	49.58	0.00
6	1.46	36.53	3.36	1.67	37.38	2.98	1.74	26.08	7.51
8	2.68	29.34	6.60	3.01	30.31	5.74	3.04	16.55	14.33
12	4.80	15.89	14.66	5.14	16.73	12.84	5.08	5.87	26.66
16	5.98	6.32	23.07	6.09	6.73	20.88	5.96	1.96	32.98
20	6.26	1.80	29.72	6.19	1.74	28.44	6.08	1.02	32.74
24	6.09	1.15	32.48	6.14	0.91	33.11	6.11	0.96	30.64
28	5.93	0.88	29.24	6.25	1.05	34.47	6.30	1.38	33.63

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเซลล์ และปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างๆ

Time (hr)	Glucose 10% 1.05x10 <sup>5</sup> cells/ml			Glucose 10% 3.00x10 <sup>5</sup> cells/ml			Glucose 10% 1.05x10 <sup>6</sup> cells/ml		
	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)
0	0.06	88.70	0.00	0.08	88.80	0.00	0.08	88.30	0.00
6	0.80	77.67	7.51	1.43	41.79	14.99	1.83	34.93	6.29
8	1.71	65.51	17.63	2.76	23.75	23.16	3.33	16.44	14.92
12	4.22	37.45	36.26	5.48	6.31	41.05	5.97	3.20	38.24
16	6.62	14.80	50.55	7.09	2.22	57.39	7.27	2.11	57.61
20	7.73	3.40	62.83	8.59	2.11	67.90	7.22	2.25	62.04
24	7.36	1.85	59.80	7.35	1.73	68.25	6.76	1.85	56.54
28	7.30	1.36	62.68	8.57	1.88	57.15	7.36	1.84	65.50

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเซลล์ และ ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 150 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างๆ

Time (hr)	Glucose 15% 1.05x10 <sup>5</sup> cells/ml			Glucose 15% 3.00x10 <sup>5</sup> cells/ml			Glucose 15% 1.05x10 <sup>6</sup> cells/ml		
	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)	mean dry weight (g/l)	mean glucose (g/l)	mean ethanol (g/l)
0	0.07	128.93	0.00	0.08	125.81	0.00	0.11	127.63	0.00
6	0.68	69.13	2.12	0.86	62.86	7.92	2.41	77.92	15.95
8	1.46	45.46	6.65	1.78	38.11	17.40	4.25	55.69	30.98
12	3.86	17.13	23.30	4.07	11.59	41.87	7.02	20.94	60.92
16	6.56	5.45	48.02	7.30	3.16	67.30	8.04	4.67	81.30
20	8.35	2.29	74.02	8.85	2.03	84.84	7.96	2.08	86.12
24	8.51	2.11	85.57	8.11	2.00	84.31	7.80	2.13	85.71
28	7.45	1.97	86.89	7.68	1.96	87.68	7.76	1.99	87.38

### 4.3 การสร้างแบบจำลองสามมิติ (Modeling and simulation)

#### 4.3.1 การผลิตกรดแลกติก

##### 1) ผลการประมาณค่าพารามิเตอร์ (estimation parameter)

จากการประมาณค่าพารามิเตอร์ จะได้ค่าพารามิเตอร์แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงผลการประมาณค่าพารามิเตอร์  $Y_G$ ,  $Y_P$  และ  $K$  ที่ความเข้มข้นกลูโคส ดังตาราง

กลูโคสเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)	ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการประมาณค่า		
	$Y_G$	$Y_P$	$K$
	(กรัมต่อกรัม)	(กรัมต่อกรัม)	(กรัมต่อกรัม)
10	1.9824	0.9973	8.5812
50	0.4215	0.9282	42.20
80	0.1047	1.016	84.83

ค่าพารามิเตอร์ทั้ง 3 จากกลูโคสเริ่มต้น 3 ความเข้มข้น เมื่อทำการตรวจสอบความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์ ทั้ง 3 กับ สมการ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ทั้งหมด เป็นที่ยอมรับได้

##### 2) การจำลองแบบปัญหา (simulation)

หลังจากผ่านการประมาณค่าพารามิเตอร์ จะนำพารามิเตอร์ทั้ง 3 มาทำแทนในสมการ  $\frac{1}{Y_G}X + \frac{1}{Y_P}P + S = K$  เพื่อหาปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ได้ผลแสดงดังตารางที่ 6, 7 และ 8 และเมื่อนำผลมาแสดงในรูปกราฟจะได้ดังรูปที่ 8, 9 และ 10

ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการทดลองกับการ  
คำนวณที่กลูโคสเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร

ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) ที่กลูโคสเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร	
การทดลอง	การคำนวณ
.1300	.0505
.5300	.5968
1.1400	1.1474
3.6700	3.6904
7.9800	7.9650

ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการทดลองกับการ  
คำนวณ ที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร

ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) ที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร	
การทดลอง	การคำนวณ
.1500	.7781
.5400	2.5532
1.6200	3.2709
4.2600	5.8647
8.7200	9.0413
13.0500	13.2760
31.9400	31.2835
36.0900	35.2346

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

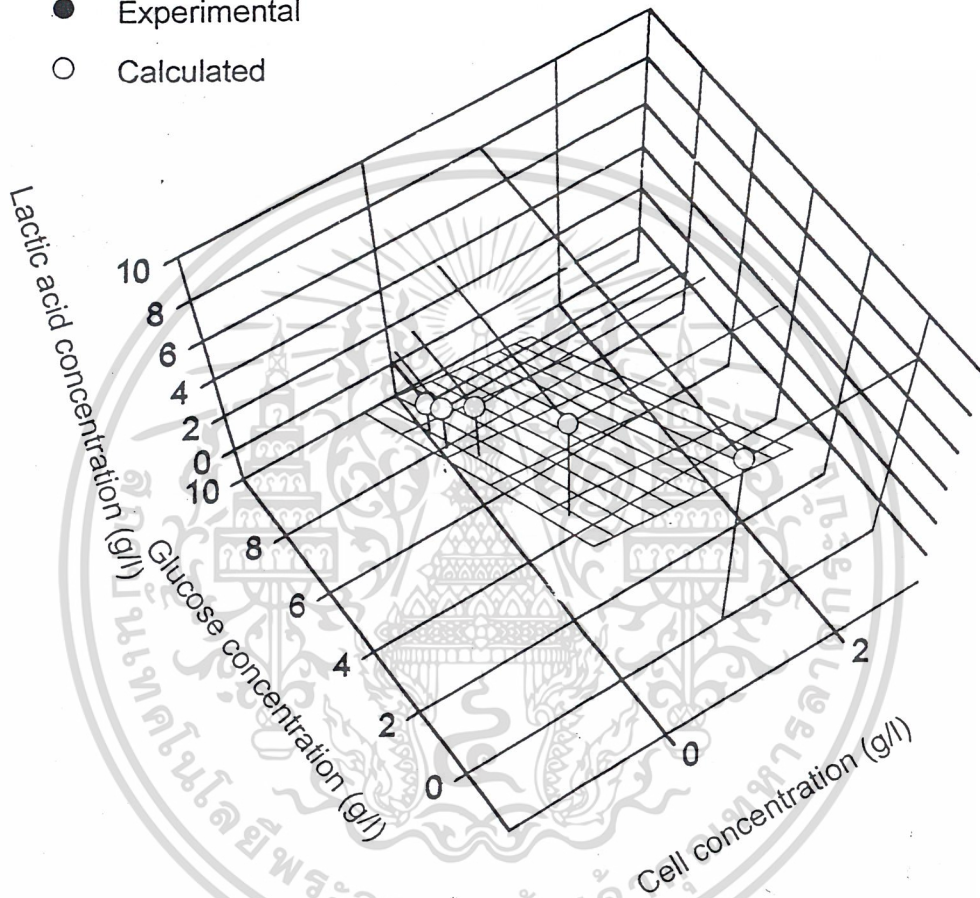
ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จากการทดลองกับการ  
คำนวณ ที่กลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร

ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) ที่กลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร	
การทดลอง	การคำนวณ
0.0000	1.0393
.6500	2.5990
.9800	1.7030
1.6900	1.3921
3.6900	3.1180
6.6100	4.9809
10.6300	8.8504
14.4200	12.9470
17.2800	15.3834
34.9200	35.3676
38.6000	40.8955
40.6600	43.0807
42.1600	44.5104
54.4300	54.9276
58.9900	58.6720
68.6400	67.1468
72.9800	70.7160

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Lactic acid ( initial glucose 10g/l)

- Experimental
- Calculated



$$0.5044X + 1.0027P + (S - 8.5812) = 0$$

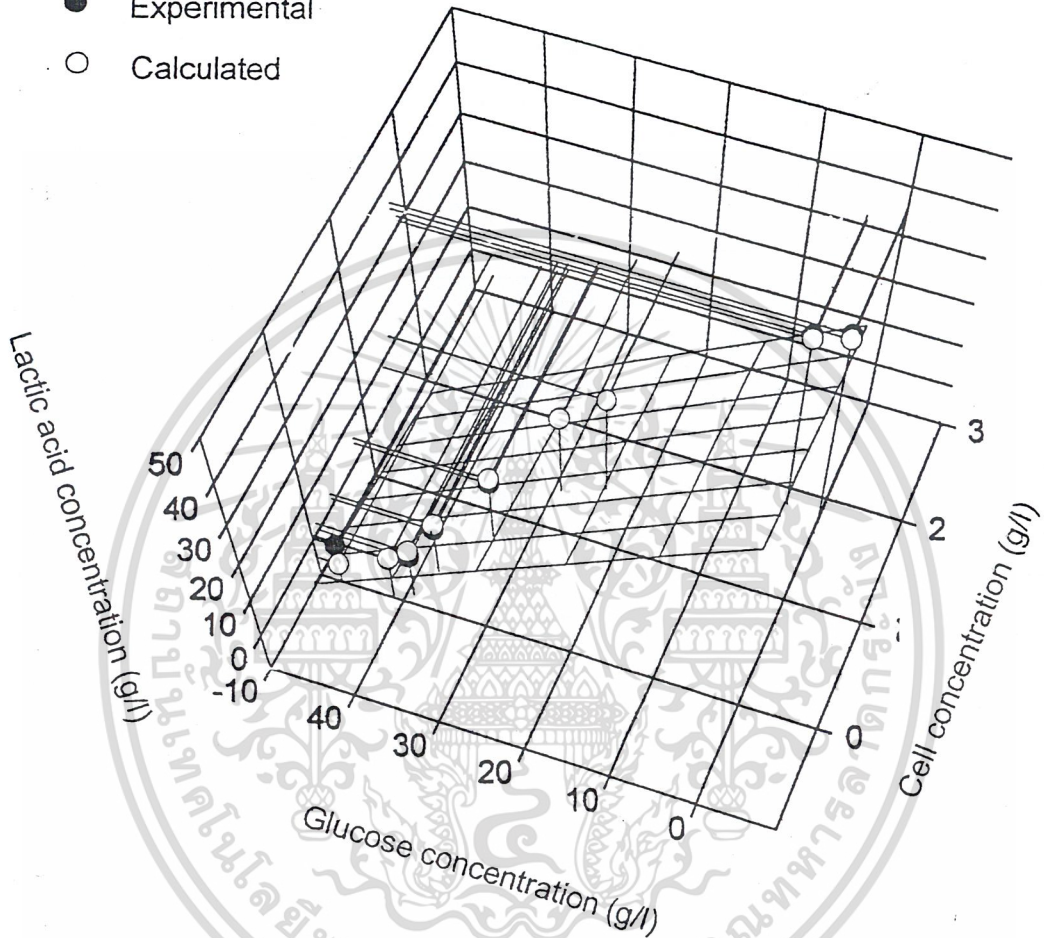
$$Y_G = 1/0.5044 = 1.9824 \text{ g/g}, Y_P = 1/1.0027 = 0.9973 \text{ g/g}, K = 8.5812 \text{ g/l}$$

รูปที่ 8 กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสารอาหาร ปริมาณเซลล์ และกรดแลคติก ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Lactic acid (initial glucose 50 g/l)

- Experimental
- Calculated



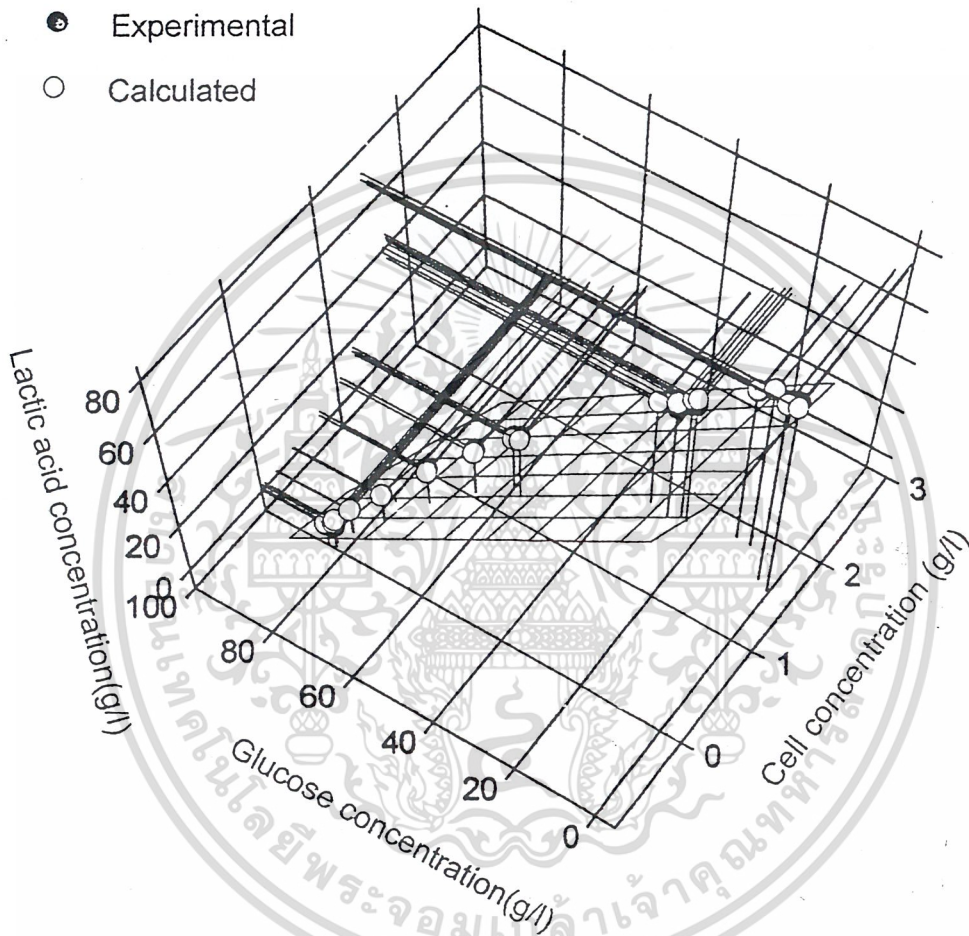
$$2.3725X + 1.077P + (S - 42.20) = 0$$

$$Y_G = 1/2.3725 = 0.4215 \text{ g/g}, Y_P = 1/1.077 = 0.9282 \text{ g/g}, K = 42.20 \text{ g/l}$$

รูปที่ 9 กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสารอาหาร ปริมาณเซลล์ และ กรดแลคติก ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Lactic acid (initial glucose 80 g/l)



$$9.551X + 0.984P + (S - 84.83) = 0$$

$$Y_G = 1/9.551 = 0.1047 \text{ g/g}, Y_P = 1/0.984 = 1.016 \text{ g/g}, K = 84.83 \text{ g/l}$$

รูปที่ 10 กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสารอาหาร ปริมาณเซลล์ และกรดแลคติก ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลกรดแลคติกที่ได้จากการทดลอง กับ ผลที่ได้จากการคำนวณที่กลูโคสเริ่มต้นทั้ง 3 ค่า โดยใช้ t-test ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบผลกรดแลคติกที่ได้จากการทดลอง กับ ผลที่ได้จากการคำนวณที่กลูโคสเริ่มต้นทั้ง 3 ค่าโดยใช้ t-test

ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)			
	10	50	80
t-test*	$t_p < t_{0.05}$	$t_p < t_{0.05}$	$t_p < t_{0.05}$

t-test\* ถ้า  $t_p < t_{0.05}$  แสดงว่าค่าทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

#### 4.3.2 การผลิตเอทานอล

##### 1) ผลการประมาณค่าพารามิเตอร์ (estimation parameter)

จากการประมาณค่าพารามิเตอร์ จะได้ค่าพารามิเตอร์แสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงผลการประมาณค่าพารามิเตอร์  $Y_G$ ,  $Y_P$  และ  $K$  ที่ความเข้มข้นกลูโคส และ เซลล์ ดังตาราง

กลูโคสเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)	เซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการประมาณค่า		
		$Y_G$ (กรัมต่อกรัม)	$Y_P$ (กรัมต่อกรัม)	$K$ (กรัมต่อกรัม)
50	$1.05 \times 10^5$ *	0.3485	1.019	46.93
	$3.00 \times 10^5$ *	0.2475	1.953	49.63
	$1.05 \times 10^6$	$1.1652 \times 10^8$	0.728	43.54
100	$1.05 \times 10^5$	$2.3537 \times 10^6$	0.707	88.90
	$3.00 \times 10^5$	$8.061 \times 10^6$	0.749	76.10
	$1.05 \times 10^6$	$9.902 \times 10^8$	0.713	71.70
150	$1.05 \times 10^5$	$5.168 \times 10^8$	0.653	96.53
	$3.00 \times 10^5$	$7.463 \times 10^6$	0.709	99.93
	$1.05 \times 10^6$	$5.16 \times 10^8$	0.653	96.53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าพารามิเตอร์ทั้ง 3 ที่ได้จากการประมาณค่า เมื่อทำการตรวจสอบความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์ ทั้ง 3 กับ สมการ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ที่สามารถยอมรับได้ คือที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และเซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  และ  $3.00 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

\* คือพารามิเตอร์ที่ยอมรับได้

(2) การจำลองแบบปัญหา (simulation)

หลังจากผ่านการประมาณค่าพารามิเตอร์ จะนำค่าพารามิเตอร์ที่ยอมรับ คือ ที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และเซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  และ  $3.00 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ไปทำการจำลองแบบปัญหา โดยพารามิเตอร์ทั้ง 3 มาทำแทนในสมการ  $\frac{1}{Y_g} X + \frac{1}{Y_p} P + S = K$  เพื่อหาปริมาณของผลิตภัณฑ์ได้ผลแสดงดังตารางที่ 11 และ 12

ตารางที่ 11 แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการทดลองกับการคำนวณที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และ เซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	
กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร	
เซลล์เริ่มต้นที่ $1.05 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร	
การทดลอง	การคำนวณ
3.3620	6.3298
6.6000	10.1087
14.6610	17.5932
23.0730	23.8872
29.7180	27.6944
32.4780	28.8649
29.2360	29.5940

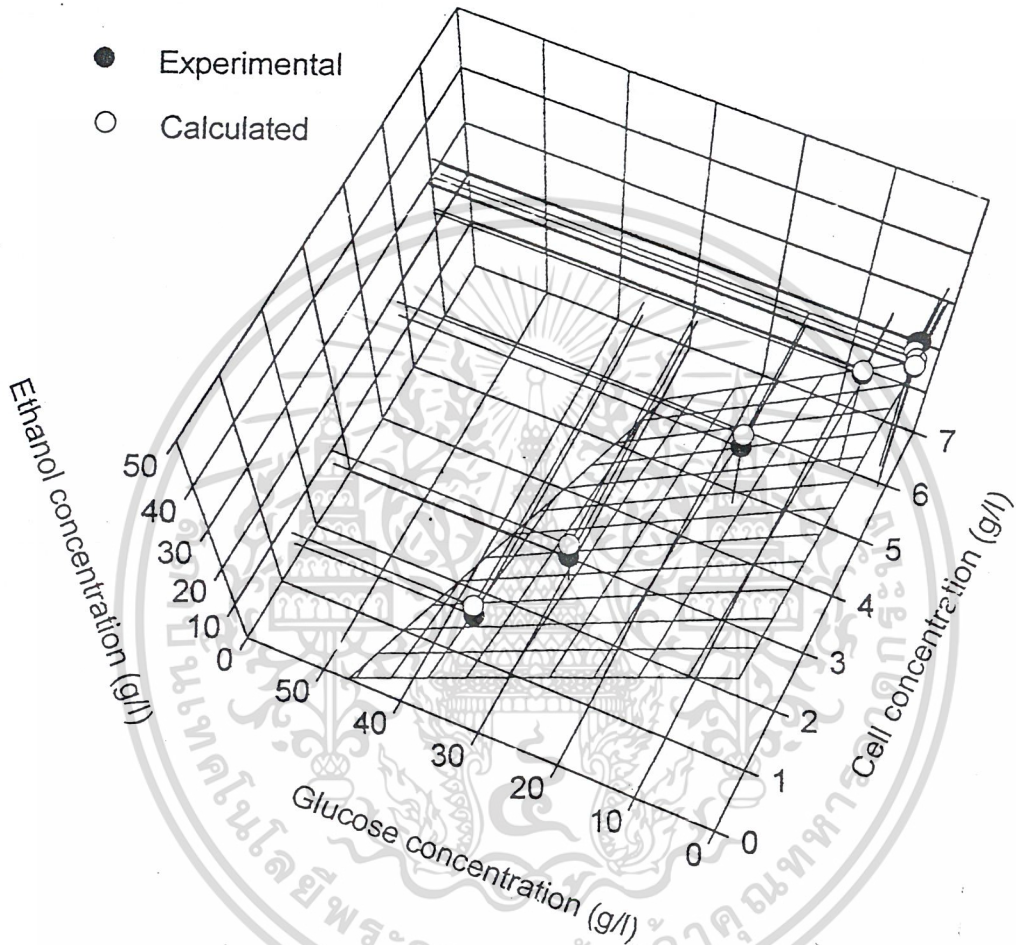
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการทดลองกับการ  
คำนวณที่กฎโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และเซลล์เริ่มต้นที่  $3.00 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	
กฎโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร	
เซลล์เริ่มต้นที่ $3.00 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร	
การทดลอง	การคำนวณ
2.9800	6.8710
5.7400	7.0445
12.8400	11.8934
20.8800	21.7560
28.4400	30.4829
33.1100	32.6124
34.4700	31.2199

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Etoh (initial glucose 50 g/l , initial cell  $1.05 \times 10^5$  cells/ml)



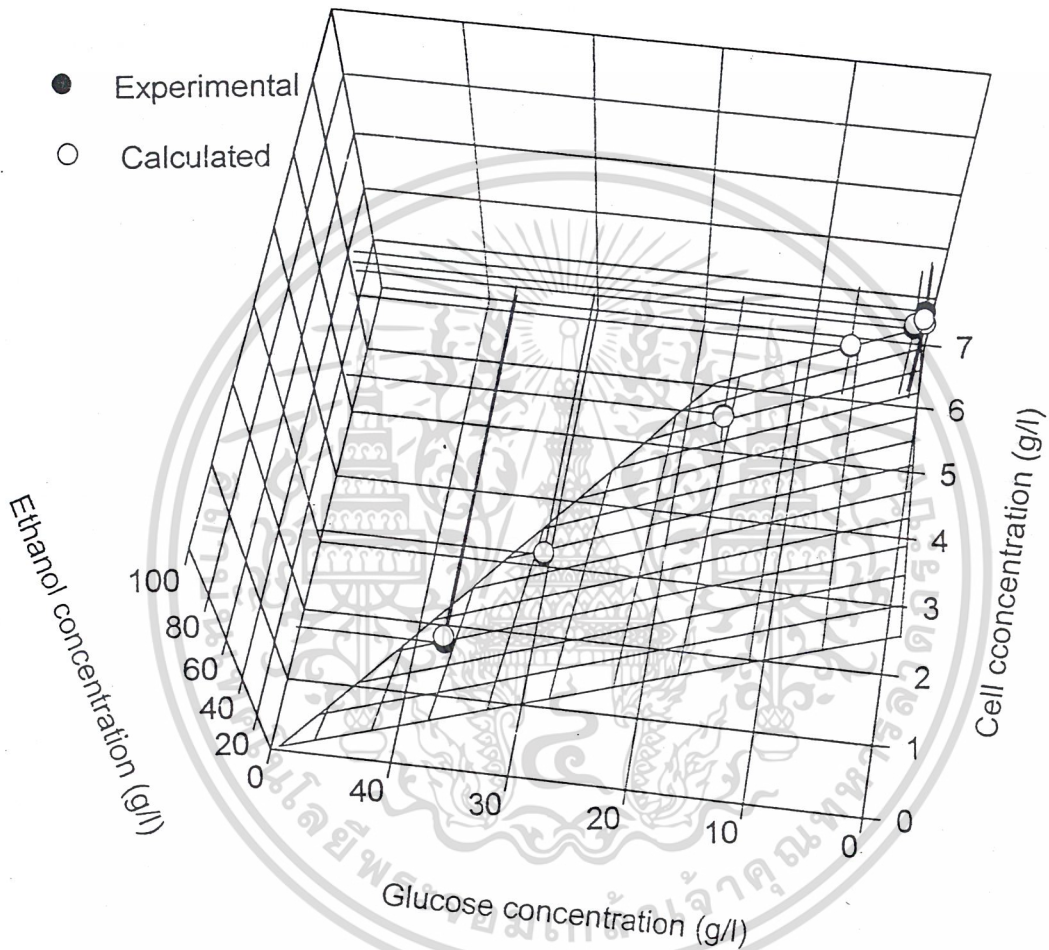
$$2.8694X + 0.9810P + (S - 46.93) = 0$$

$$Y_G = 1/2.8694 = 0.3485 \text{ g/g} , Y_P = 1/0.9810 = 1.019 \text{ g/g} , K = 46.93 \text{ g/l}$$

รูปที่ 11 กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสารอาหาร ปริมาณเซลล์ และ เอทานอล ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร และเซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Etoh (initial glucose 50 g/l , initial cell  $3.00 \times 10^5$  cells/ml)



$$4.040X + 0.512P + (S - 49.63) = 0$$

$$Y_G = 1/4.040 = 0.2475 \text{ g/g}, Y_P = 1/0.512 = 1.953 \text{ g/g}, K = 49.63 \text{ g/l}$$

รูปที่ 12 กราฟการจำลองแบบปัญหา (simulation) ความสัมพันธ์ของปริมาณสารอาหาร

ปริมาณเซลล์ และ เอทานอล ที่เวลาต่างๆ โดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร

และเซลล์เริ่มต้นที่  $3.00 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของเอทานอล ที่ได้จากการทดลอง กับ ผลที่ได้จากการคำนวณ โดยใช้ t-test ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 แสดงการเปรียบเทียบผลของเอทานอลที่ได้จากการทดลอง กับ ผลที่ได้จากการคำนวณ โดยใช้ t-test

	ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร	
	ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	
	$1.05 \times 10^5$	$3.00 \times 10^5$
t-test*	$t_p < t_{0.05}$	$t_p < t_{0.05}$

t-test\* ถ้า  $t_p < t_{0.05}$  แสดงว่าค่าทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

##### 5.1.1 การผลิตกรดแลกติก

$$\text{จากสมการ } \frac{1}{Y_G} X + \frac{1}{Y_P} P + (S - K) = 0$$

สามารถนำมาใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ของสารอาหารที่ใช้ไป การเจริญของเซลล์ และผลผลิตที่เกิดขึ้น ในการผลิตกรดแลกติก ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น ที่ 10 ,50 และ 80 กรัมต่อลิตรได้

โดยที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นในการผลิตกรดแลกติก

ที่ 10 กรัมต่อลิตร สมการหลังจากการประมาณค่าพารามิเตอร์เป็นดังนี้

$$2.3725 X + 1.077 P + (S - 42.20) = 0$$

ที่ 50 กรัมต่อลิตร สมการหลังจากการประมาณค่าพารามิเตอร์เป็นดังนี้

$$0.5044 X + 1.0027 P + (S - 8.5812) = 0$$

ที่ 80 กรัมต่อลิตร สมการหลังจากการประมาณค่าพารามิเตอร์เป็นดังนี้

$$9.551 X + 0.984 P + (S - 84.83) = 0$$

ดังนั้นค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการสร้างสมการระนาบของการผลิตกรดแลกติกในช่วง 10 ถึง 80 กรัมต่อลิตรควรมีค่า

$Y_G$  อยู่ในช่วง 0.1047 ถึง 1.9824 กรัมต่อกรัม

$Y_P$  อยู่ในช่วง 0.9282 ถึง 1.016 กรัมต่อกรัม

$K$  มีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นวัตถุดิบเริ่มต้น

### 5.1.2 การผลิตเอทานอล

$$\text{จากสมการ } \frac{1}{Y_g} X + \frac{1}{Y_p} P + (S - K) = 0$$

สามารถนำมาใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ของสารอาหารที่ใช้ไป การเจริญของ เซลล์ และผลผลิตที่เกิดขึ้น ในการผลิตเอทานอล ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 50 กรัมต่อลิตร และ เซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  และ  $3.00 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

โดยที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นในการผลิตเอทานอล ที่ 50 กรัมต่อลิตร เซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร สมการหลังจากการประมาณค่าพารามิเตอร์ เป็นดังนี้

$$2.8694X + 0.9810P + (S - 46.93) = 0$$

เซลล์เริ่มต้นที่  $3.00 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร สมการหลังจากการประมาณค่าพารามิเตอร์ เป็นดังนี้

$$4.040X + 0.512P + (S - 49.63) = 0$$

ดังนั้นค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอลที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 50 กรัมต่อลิตร เซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  ถึง  $3.00 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรควรมีค่า

$Y_g$  อยู่ในช่วง 0.1047 ถึง 1.9824 กรัมต่อกรัม

$Y_p$  อยู่ในช่วง 0.9282 ถึง 1.016 กรัมต่อกรัม

$K$  อยู่ในช่วง 46.93 ถึง 49.63 กรัมต่อลิตร

สำหรับในการผลิตเอทานอลแบบจำลองไม่สามารถใช้ในการอธิบายจลนพลศาสตร์ การหมักที่

ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 50 กรัมต่อลิตร เซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 100 กรัมต่อลิตร เซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$   $3.00 \times 10^5$  และ  $1.05 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 150 กรัมต่อลิตร เซลล์เริ่มต้นที่  $1.05 \times 10^5$   $3.00 \times 10^5$  และ  $1.05 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เนื่องจากมีรายงานว่าปริมาณเอทานอลที่ความเข้มข้นสูง คือ ประมาณร้อยละ 4.7 - 7.8 ซึ่งตรงกับผลการทดลองนี้ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 100 และ 150 กรัมต่อลิตร จะทำให้ การเจริญของเซลล์ และการผลิตเอทานอลลดลง จึงทำให้ผลไม่เป็นไปตามที่ควรจะเป็น ซึ่งอาจ

จะส่งผลให้สมการนี้ไม่สามารถใช้ในการทำนายผลการหมักเอทานอลที่กลูโคสความเข้มข้นดังกล่าวได้ (วิธีแก้ไขจะกล่าวในข้อเสนอนี้)

ค่าพารามิเตอร์ที่ได้ค่อนข้างจะมีการจำเพาะในแต่ละสภาวะของการหมัก ดังนั้นการหมักที่สภาวะต่างกัน ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนต่างกัน และ/หรือ ความเข้มข้นของเซลล์ที่ต่างกัน จะทำให้ค่าพารามิเตอร์ที่ได้มีค่าแตกต่างกันด้วย

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) ควรทำการทดลองโดยใช้ถังหมักเพื่อควบคุมสภาวะต่างๆ ในขณะการหมักให้คงที่ เพื่อให้ผลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์มีความถูกต้องสูง
- 2) ควรทำการทดลองซ้ำหลายครั้ง เพื่อให้ได้แบบจำลองที่มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น และ เมื่อได้แบบจำลองแล้วควรทดสอบแบบจำลองนั้น โดยทำการทดลองดูว่าแบบจำลองนั้นสามารถนำมาทำนาย หรือ อธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้หรือใหม่ ถ้าไม่ได้ก็ต้องการปรับปรุงแบบจำลองให้เหมาะสมต่อไป
- 3) การผลิตเอทานอล ที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 100 และ 150 กรัมต่อลิตร จะได้เอทานอลในปริมาณที่สูง ซึ่งทำให้การเจริญของเซลล์ และการผลิตเอทานอลลดลงไม่เป็นไปตามที่ควรจะเป็น ทำให้สมการนี้ไม่สามารถใช้ในการทำนายผลของการผลิตเอทานอลที่กลูโคสความเข้มข้นดังกล่าว แก้ไขโดย การปรับปรุงกระบวนการผลิต และ สายพันธุ์ยีสต์ให้ทนต่อเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงๆ ได้ และ/หรือ ปรับปรุงแบบจำลอง โดยเพิ่มพารามิเตอร์อื่นที่เกี่ยวข้องลงใน สมการ เพื่อให้สมการสามารถใช้ในการอธิบายได้กว้างขึ้น เป็นต้น
- 4) สามารถนำผลจากการจำลองแบบปัญหาประยุกต์ใช้ในการขยายขนาด และ ใช้ในการหมักแบบต่อเนื่อง ได้โดยควบคุมปริมาณสารอาหารและเซลล์ให้คงที่ เพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ

## เอกสารอ้างอิง

กมล ตันศิริรักษ์ และสุปรอมปรีดี สุพรหมอินทร์. “การศึกษาการอยู่ร่วมกันของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces carlsbergensis* ATCC 44732 และ *Schizosaccharomyces pombe* ATCC2476 ที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล” โครงการงานพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง .2541.

กลยุท ขจิตพัฒนา และ นิสิต คัตวิเชฐ. “การศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของระบบหมักยีสต์ขนมปัง” โครงการงานพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะ วิศวกรรมเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง .2535.

คุณณี ธาระบริพัฒน์. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 2 หน้า 8.10,9.1-9.13. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ,กรุงเทพฯ.2538.

สาวิตรี ลิ้มทอง. “ยีสต์และชีวเคมีของการหมักเอธิลแอลกอฮอล์” เทคนิคการหมักแบบ Fed-batch และการประยุกต์ใช้ สำหรับการผลิตแอลกอฮอล์ทางอุตสาหกรรม หน้า 8-9 .2536.

Abate, C., Callieri, D., Rodriguez, E. and Garro, O., “ Ethanol production by mixed culture of flocculent strains of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces* SP.” Appl.Microbial.Biotechnol. 45 (1995): 580-583.

Ishizaki, A., Ohta, T., and Kobayashi, G., “Computer simulation for L-lactate batch process employing *Lactococcus lactis* IO-1” Journal of Biotechnology.24 (1992): 85-107.

Jochen, B., Process Computations in Biotechnology ,pp. 194-195, Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, 1994.

Scragg, A.H., Bioreactor in biotechnology: A practical approach, pp.45-62, Ellis Horwood Limited, London, 1991.

Wiechert, W., Honer, T., Hausmann, C.Mollney, M. and Kinder-Theiben, M., “ Hybrid modeling of bioprocesses within a network transformation framework: A softwareengineering” Modeling and Control of Biotechnical Processes 1992 : 441-444.

Zhang, X., Gu, D., Liu, X.and Guan, Y., “A three dimensional model for a fermentation process: Fermentation plane” Enzyme and Microbial Technology.21 (1997):

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับอาจารย์และบุคลากรในหน่วยงานนี้ ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## 1. การเตรียมสูตรอาหาร

## 1.1. สูตรอาหาร Yeast Malt Extract Agar (YM agar)

ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อ *S. carlsbergensis* ATCC 44732

กลูโคส	10	กรัมต่อลิตร
เปปโตน (peptone)	5	กรัมต่อลิตร
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	3	กรัมต่อลิตร
สารสกัดจากมอลต์ (malt extract)	3	กรัมต่อลิตร
วุ้น (agar)	20	กรัมต่อลิตร

pH 6.2± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

## 1.2. สูตรอาหารเหลวสำหรับการหมักเอทานอล

ดัดแปลงจากสูตรของ Abate และคณะ (1996)

เปปโตน (peptone)	5	กรัมต่อลิตร
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	10	กรัมต่อลิตร
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	1	กรัมต่อลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	1	กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมซัลเฟต ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ )	2	กรัมต่อลิตร

## 2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

## 2.1. การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรวาเลอริก (DNS solution)

ละลายกรดไดไนโตรวาเลอริก 1 กรัม ลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 2 นอร์มัล ในปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วทำการเติมโซเดียมโปตัสเซียมทาเทรต (sodium potassium tartate ) 30 กรัม และกวนจนละลายหมด แล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง

### 3. การวิเคราะห์

#### 3.1. การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ โดยหาน้ำหนักแห้ง

- (1) นำตัวอย่างที่ทราบปริมาตร มาเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที ประมาณ 15 นาที
- (2) ดูส่วนของเหลวด้านบน มหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และ ปริมาณเอทานอลโดยเก็บไว้ในหลอดฝาเกลียว
- (3) นำส่วนที่เป็นตะกอนมาทำการล้างสารอาหารที่ค้างอยู่ออก ด้วยน้ำเกลือ 5 มิลลิลิตร (0.9%NaCl) และ ทำการหมุนเหวี่ยงอีกเป็นเวลา 15 นาที
- (4) เทสารละลายออก แล้วนำเซลล์เทลงใน กระชงอลูมิเนียมที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักแล้ว
- (5) นำเข้าเครื่องอบแห้งที่ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- (6) นำกระชงอะลูมิเนียมใส่ในเคชิกเคเตอร์ จนกระทั่งเย็นลง
- (7) ชั่งน้ำหนักกระชงที่บรรจุเซลล์อยู่
- (8) คำนวณปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนี้

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักกระชงและเซลล์ที่อบแห้ง (กรัม)} - \text{น้ำหนักกระชงแห้ง (กรัม)} \times 10^3}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

#### 3.2. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยการใช้กรดไดโนโตรซาลิไซลิก

- (1) เติมสารละลายไดโนโตรซาลิไซลิก 1 มล.
- (2) ต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที ในระหว่างต้มนั้นใช้ลูกแก้ววางบนปากหลอดเพื่อลดการระเหยของน้ำ
- (3) ทำให้เย็นโดยเร็ว แล้วเติมน้ำกลั่น 10 มล. ผสมให้เข้ากัน
- (4) นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร
- (5) นำค่า OD (optical density) ที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

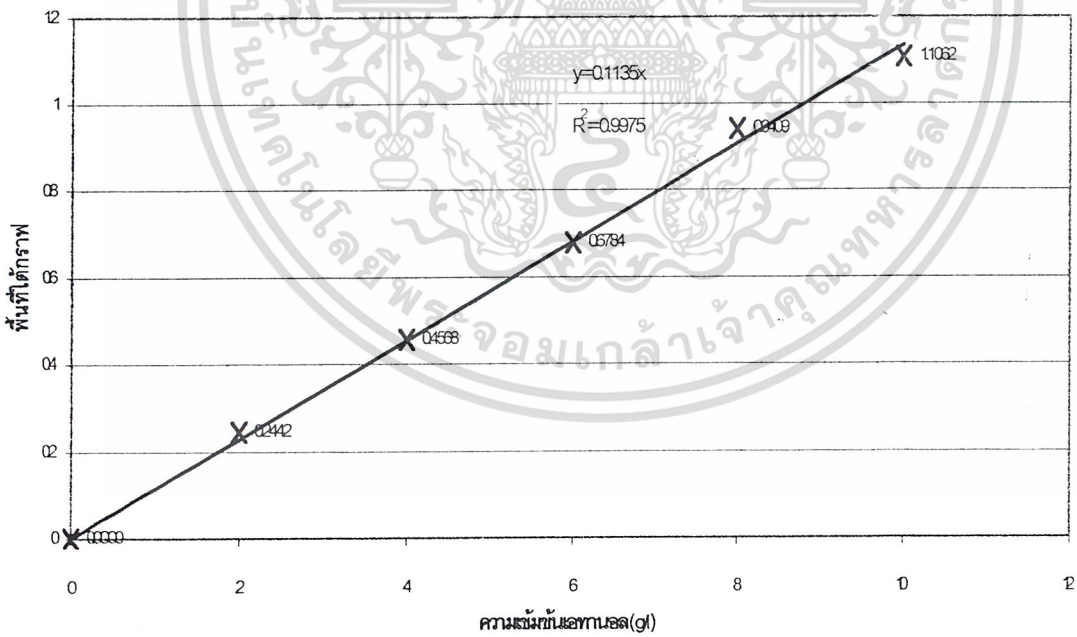
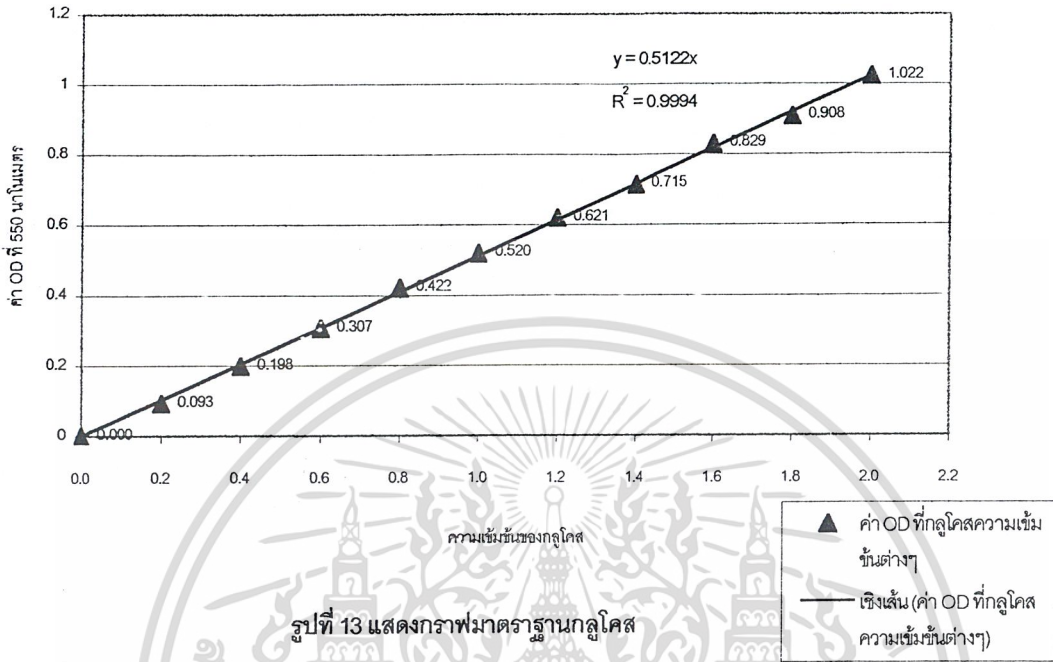
การสร้างกราฟมาตรฐาน ทำโดยใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน เข้มข้น 0.1 ถึง 1.0 กรัมต่อ มล. และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวแทน (blank) เขียนกราฟมาตรฐานระหว่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสกับค่า OD

### 3.3. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี

ใช้เข็มฉีดตัวอย่างขนาด 10 ไมโครลิตร ดูดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการแยกเซลล์ออกแล้วปริมาตร 1 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี คำนวณหาปริมาณ เอทานอลในสารละลายตัวอย่าง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่าง พื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของเอทานอลต่อบิวทานอล กับ ความเข้มข้นของกราฟเอทานอลมาตรฐาน

- สำหรับคอลัมน์ที่ใช้เป็นคอลัมน์ชนิด DB-WAX มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.53 มม. ยาว 30 ม.
- อุณหภูมิ column oven ที่ใช้เป็น 60 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิที่ตำแหน่งหัวฉีด (injector) และที่เครื่องตรวจวัด ใช้ที่ 100 องศาเซลเซียส
- แก๊สไนโตรเจน เป็นตัวพา ที่อัตราการไหลเท่ากับ 56 มล.ต่อนาที
- วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารด้วยเครื่องตรวจวัดชนิด FID (Flame Ionization Detector)
- ใช้บิวทานอลร้อยละ 5 เป็น internal standard
- retention time ของเอทานอลจะออกมาที่ช่วงเวลาประมาณ 3.376 ส่วน retention timeของ บิวทานอลจะออกมาที่เวลาที่ 10.409

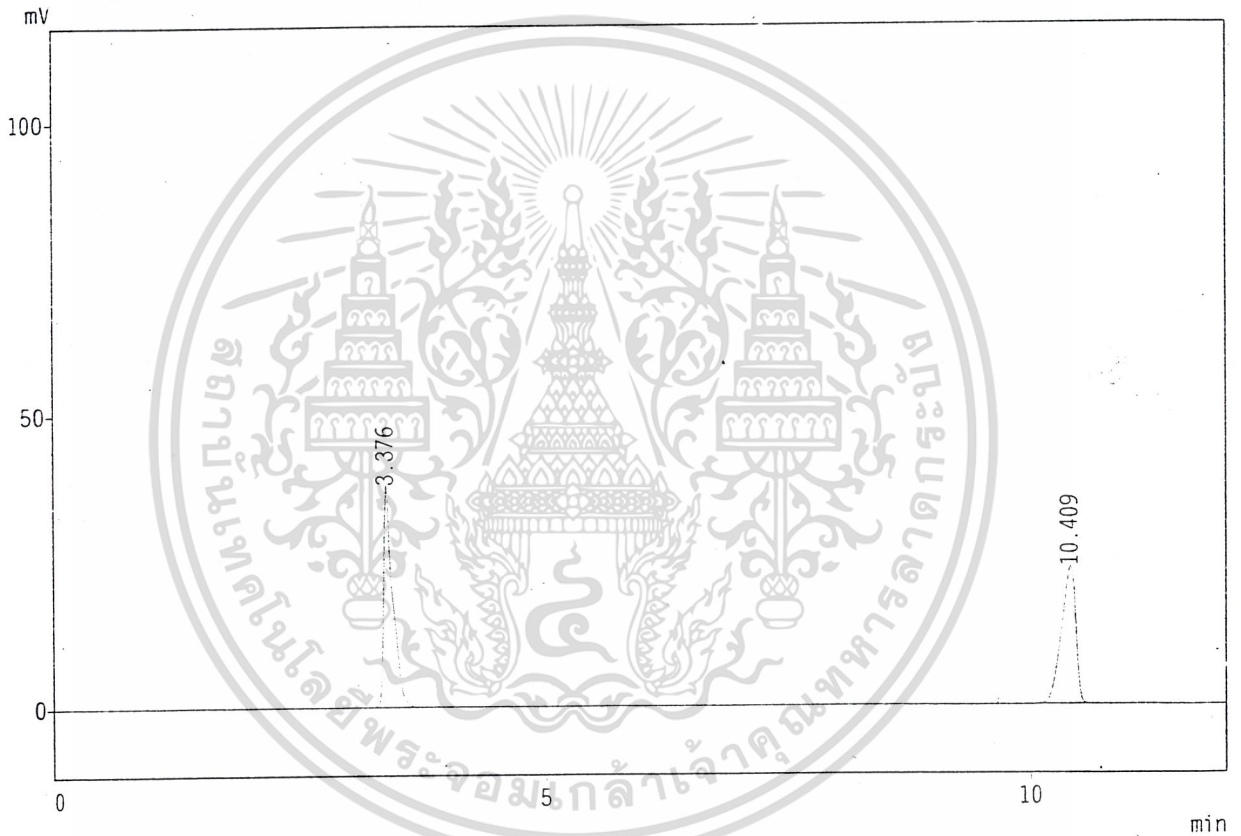
ภาคผนวก ข



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=2 DATA=TEST.D21 98/10/29 10:21:18  
 Sample : 15A2/9  
 ID :  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor: 1  
 Type : Unknown  
 Detector : FID  
 Operator : model eth

\*\*\* Chromatogram \*\*\* Filename:TEST.C21



\*\*\* Peak Report \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	3.376	239323	37866				
2	10.409	234434	23344				
		473756	61210				

รูปที่ 15 แสดงตัวอย่างกราฟจากผลการวิเคราะห์เอทานอล โดยใช้บิวทานอลร้อยละ 5 เป็น

Internal standard โดยเครื่อง GC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

ตารางที่ 14 แสดงผลการทดลองของ Ishizaki และคณะในการผลิตกรดแลกติก ที่กลูโคสเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ

เซลล์ (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)
.0210	8.5200	.1300
.0650	7.9500	.5300
.2790	7.2900	1.1400
.6360	4.5600	3.6700
1.1790	0.0000	7.9800

ตารางที่ 15 แสดงผลการทดลองของ Ishizaki และคณะในการผลิตกรดแลกติก ที่กลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ

เซลล์ (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)
.0070	47.5000	0.0000
.0230	41.3100	.1500
.0810	39.2600	.5400
.3410	37.8700	1.6200
.7860	34.0200	4.2600
1.3710	29.2100	8.7200
1.5050	24.3300	13.0500
1.8550	4.1000	31.9400
1.7890	0.0000	36.0900

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 แสดงผลการทดลองของ Ishizaki และคณะในการผลิตกรดแลกติก ที่กลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ

เซลล์ (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)
.0060	83.7500	0.0000
.0180	82.1000	.6500
.0580	82.6000	.9800
.2000	81.5500	1.6900
.4200	77.7500	3.6900
.7620	72.6500	6.6100
1.0490	66.1000	10.6300
1.2550	60.1000	14.4200
1.2290	57.9500	17.2800
1.7450	33.3500	34.9200
1.7040	28.3000	38.6000
1.7510	25.7000	40.6600
1.7450	24.3500	42.1600
1.8440	13.1500	54.4300
1.8350	9.5500	58.9900
1.5960	3.4900	68.6400
1.5370	.5400	72.9800

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้