บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากการคัดแยกยีสต์ที่มีความสามรถในการทนแรงดันออสโมติกในตัวอย่างผลไม้ทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ได้แก่ สับปะรด มะละกอ และกล้วยหอม จากตลาดนัดเขาไร่ยา อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี พบว่า สามารถคัดแยกยีสต์ได้จำนวนทั้งหมด 28 ไอโซเลท โดยนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารแข็ง YM Agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์ส่วนใหญ่มีลักษณะโคโลนีรูปร่างกลมสีขาว มันวาว ด้าน ขรุขระ ขอบเรียบและขอบหยัก และมีลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นรูปไข่-รี ยาว กลม และรีปลายด้านหนึ่งแหลม จากนั้นนำมาศึกษาการเจริญในอาหารเหลว YM broth พบว่า ยีสต์แต่ละไอโซเลทมีการเจริญแตกต่างกัน เช่น เจริญทั่วหลอดอาหาร เจริญบนผิวหน้าอาหาร เป็นฝ้าที่ผิวหน้าอาหาร และจับกลุ่มตกตะกอนได้ดี โดยงานวิจัยของ สุดารัตน์ แซ่โจว (2555) รายงานว่าการตกตะกอนของเชื้อยีสต์จะง่ายต่อการแยกออกจากกระบวนการผลิตเอทานอล นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยของ Esser และ Kues (1983) ให้คำนิยามว่าเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อเซลล์เดี่ยวๆ หลายเซลล์รวมกลุ่มกันทำให้เกิดกลุ่มของเซลล์ซึ่งตามด้วยการตกตะกอนหรือการลอยตัวได้ โดยการลอยตัวเกิดจากฟองแก๊สที่สร้างจากการหมัก

จากการศึกษาการสร้างแอสโคสปอร์บนอาหารแข็ง YM Agar ซึ่งทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน พบว่า เชื้อยีสต์ทุกไอโซเลทสามารถสร้างแอสโคสปอร์ได้ ภายใน 2-3 วัน และเมื่อตรวจสอบแอสโคสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า แอสโคสปอร์มีรูปร่างกลมถึงรี และพบจำนวนสปอร์ 1 - 2 สปอร์ โดยทั่วไปการสร้างแอสโคสปอร์มักจะเกิดในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ทั้งนี้การสร้างแอสโคสปอร์มักจะเกิดในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ดังนั้นอาหารที่ใช้เพื่อให้ยีสต์สร้างสปอร์มักมีคาร์โบไฮเดรตในปริมาณน้อย ทั้งนี้ยีสต์บางชนิดสามารถตรวจพบสปอร์เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิเหมาะสมภายใน 48 ชั่วโมง (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549; Nagatsuka และคณะ, 2002)

เมื่อนำยีสต์ทั้งหมด 28 ไอโซเลท มาทำการศึกษาการสร้างเส้นใยแท้และเส้นใยเทียมบนอาหารแข็ง PDA Agar โดยวิธี Dalmau plate technique พบว่า มีการสร้างเส้นใยในยีสต์ทุกไอโซเลท โดยไอโซเลทที่สร้างเส้นใยแท้ ได้แก่ Pa-04, Pa-05, Pa-06, Pa-07 และ Ba-04 ในขณะที่ไอโซเลทที่สร้างเส้นใยเทียม ได้แก่ Pi-01, Pi-02, Pi-03, Pi-04, Pi-05, Pi-06, Pi-07, Pi-08, Pi-09, Pi-10, Pi-11, Pa-01, Pa-02, Pa-03, Pa-08, Pa-09, Pa-10, Ba-01, Ba-02, Ba-03, Ba-05, Ba-06 และ Ba-07 ซึ่งกระบวนการสร้างเส้นใยแท้และเส้นใยเทียมในยีสต์จะแตกต่างกัน นอกจากนั้นยีสต์ที่สร้างเส้นใยเหล่านี้เมื่อกลับไปอยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญมากกว่าจะกลับเป็นเซลล์เดี่ยว จึงแสดงว่าการเจริญของเส้นใยนี้เป็นการปรับตัวของยีสต์เมื่อขาดแคลนอาหาร (Gimeno et al., 1992) ผลการทดลองการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์พบว่า สามารถคัดเลือกยีสต์ได้จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ Pi-09, Pi-11, Pa-01, Pa-04, Ba-01 และ Ba-07 ซึ่งเป็นไอโซเลทที่สามารถหมักและผลิตแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้รุนแรงและสามารถสร้างแก๊สได้เต็มหลอดดักแก๊ส จากนั้นนำเชื้อยีสต์ทั้ง 6 ไอโซเลท มาศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ทั้งนี้ความเข้มข้นของน้ำตาลสูงในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตเอทานอลนั้น ส่งผลให้การหมัก

เป็นไปอย่างช้าๆ และสามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณที่ต่ำ ดังนั้นการใช้สายพันธุ์ยีสต์ที่ทนต่อแรงดันออสโมติกจะทำให้การหมักมีประสิทธิภาพสูง อีกทั้งยังเป็นการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ทนต่อแรงดันออสโมติก (กุสุมาวดี, 2559) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงทดสอบการหมักเอทานอลในอาหาร Carbon fermentation test broth ที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 24, 48, และ 72 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า ยีสต์ทุกไอโซเลทสามารถผลิตเอทานอลได้ โดยยีสต์ทนแรงดันออสโมติกที่แยกได้จากกล้วยหอม คือ ไอโซเลท Ba-01 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดโดยสามารถผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 53.72 กรัม/ลิตร ที่ 24 ชั่วโมงหลังจากการบ่มเชื้อ รองลงมาคือ ไอโซเลท Pa-04 ที่แยกได้จากมะละกอ สามารถผลิตเอทานอลในชั่วโมงที่ 24 ของการหมักได้สูงถึง 51.35 กรัม/ลิตร ในขณะที่ไอโซเลท Pi-09 ซึ่งแยกได้จากสับปะรดมีปริมาณการผลิตเอทานอลได้สูงสุดที่ 48 ชั่วโมงภายหลังจากการหมัก โดยสามารถผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 49.77 กรัม/ลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sasirin และคณะ (2011) ซึ่งได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลของยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5596 ซึ่งเป็นสายพันธ์ 6ที่ใช้ควบคุมการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมเชื้อเพลิง พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5596 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดที่สุดเท่ากับ 8.14 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สายพันธุ์ยีสต์ทนแรงดันออสโมติกที่มีรายงาน เช่น *Debaryomyces hansenii, Pichia farinose, Zygosaccharomyces rouxii, Z. bailii, Z. mellis, Torulaspora delbrueckii, T. delbrueckii, Schizosaccharomyces pombe, Wickerhamomyces anomalus* และ *Candida* sp. เป็นต้น (Bubnova et al., 2014; Pfannebecker et al., 2016)

จากการวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นได้ว่า ยีสต์ทนแรงดันออสโมติกที่คัดเลือกได้จากผลไม้ในเขตจังหวัดจันทบุรีมีศักยภาพในการผลิตเอทานอลและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม

ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตเอทานอลได้ อย่างไรก็ตามพบว่ายีสต์ที่คัดเลือกได้นั้นสามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณที่ไม่สูงมาก ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาในด้านปัจจัยและสภาวะแวดล้อมที่มีผลต่ออิทธิพลการหมักเพื่อผลิตเอทานอล ตลอดจนศึกษาแนวทางการปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์เพื่อเพิ่มผลผลิตของเอทานอลให้เพิ่มขึ้นต่อไป

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี