การผลิตไฟฟ้าจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ โดยกระบวนการผลิตไวน์และน้ำส้มสายชูจากกล้วยไข่สุกอบแห้งพร้อมกัน

Two-chamber Microbial Fuel Cell by Simultaneous Banana Wine and Vinegar Production

นิภัชราพร สภาพพร*
Nipatcharaporn Sapapporn
อภิสรา อุดปิน**
Apisara Udpin

บทคัดย่อ

การผลิตไฟฟ้าจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ซึ่งสามารถเป็นพลังงานทางเลือกใหม่ในอนาคตจากกระบวนการย่อยสลายสารอาหารของจุลินทรีย์ในจากกระบวนการผลิตไวน์และการผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยไข่สุกอบแห้งพร้อมกัน ซึ่งศึกษารูปแบบการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่โดยใช้กระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (fed-batch fermentation) ในระหว่างการหมักจะมีการเติมอาหารใหม่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ทุกวันเป็นเวลา 9 วัน จากนั้นทำการหมักต่อจนครบ 7 วันและศึกษาปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักทั้งสองถังพร้อมกันจากผลของน้ำตาลซูโครสและกลูโคสที่เติมลงในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู พบว่าการหมักไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้งและการผลิตน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) สามารถให้ผลผลิตแอลกอฮอล์, น้ำส้มสายชู, ความต่างศักย์และกระแสไฟฟ้าได้เท่ากับ 9.1 (%v/v) 1.02 (%v/v) 1.1 V และ 700 μA ตามลำดับ ดังนั้นการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่สามารถเป็นรูปแบบการผลิตไฟฟ้าจากการใช้วัสดุทางชีวภาพต้นทุนต่ำให้เกิดประโยชน์ได้ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักได้แก่ เอทานอล กรดอะซีติก และไฟฟ้ายังมีมูลค่าทางเศรษฐกิจอีกด้วยอย่างไรก็ตามเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ยังคงต้องการการปรับปรุงและพัฒนาสะพานเกลือเพื่อให้ทั้งสองกระบวนการได้มีการส่งผ่านโปรตอนระหว่างกันได้มากที่สุดหรือลดแรงต้านทานในระบบลงเพื่อให้ได้ค่าไฟฟ้ามากขึ้น

คำสำคัญ : เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ / ไวน์กล้วยไข่ / น้ำส้มสายชู

*อาจารย์ประจำโปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร
**นักศึกษาประจำโปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

ABSTRACT

Electricity was produced from Two-chamber microbial fuel cell. The application of Two-chamber microbial fuel cell technology, which can be an future alternative energy from the metabolism of microorganisms in simultaneous of wine and vinegar production from dried ripe bananas. During the fermentation process, 1 liter of new food was refilled everyday for 9 days. Then the refilling process was stopped and the fermentation was continued for 16 days and investigated fermentation reactions that occur in both processes by adding sucrose and glucose effect in vinegar process. A study of the Two - chamber microbial fuel cell revealed that microbial fuel cell power generation process which added glucose of 5 %(w / v) concentration provided the alcohol, vinegar, voltage and electrical current equal to 9.1 (%v./v), 1.02 (% v/v), 1.1 V and 700 μA respectively. Therefore, Two-chamber microbial fuel cell by simultaneous banana wine and vinegar production could produce electricity by the use of biomass and low cost materials. The by-products from the fermentation process including ethanol, acetic acid and electricity has economic value as well, however, Two - chamber microbial fuel cell still needs to improve and develop the salt bridge.

Keywords : Microbial Fuel Cell : MFC / Banana Wine / Vinegar

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันมีความต้องการใช้พลังงานเพิ่มมากขึ้นเป็นจำนวนมากและพลังงานมีบทบาทสำคัญในโลกสมัยใหม่สิ่งอำนวยความสะดวกทั้งหลายที่มนุษย์ประดิษฐ์ขึ้นมาล้วนต้องการพลังงานในรูปแบบต่างๆ ซึ่งพลังงานที่ใช้ส่วนใหญ่ได้มาจากเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น ถ่านหิน แก๊สธรรมชาติ และน้ำมัน (ขณิษฐา หมู่โสภิญ, 2554) ทำให้พลังงานมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง จากสถานการณ์ดังกล่าวจึงมีความต้องการพลังงานใหม่มาทดแทนพลังงานจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ (Microbial Fuel Cell : MFC) เป็นพลังงานอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ จุลินทรีย์สามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้ที่สภาวะใกล้เคียงกับอุณหภูมิร่างกายของมนุษย์และเซลล์จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้มีหลายชนิด หลักการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์เป็นการเปลี่ยนแปลงพลังงานเคมีในสารอินทรีย์ให้กลายเป็นพลังงานไฟฟ้า โดยมีจุลินทรีย์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา กระบวนการสร้างพลังงานของจุลินทรีย์จะเริ่มจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในโมเลกุลของสารอาหารหรือกระบวนการเมตาบอลิซึม (ศุกรนิมิต สุจิรา, 2555) กระบวนการเมตาบอลิซึมอาหารของเซลล์จุลินทรีย์มีการปลดปล่อยอิเล็กตรอน (e^-) และโปรตอน (H^+) ออกมา อิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่จากภายในเซลล์จุลินทรีย์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ไปยังขั้วแอโนด (ทวิทย์ จันทร์สด, 2551) โดยขั้นตอนสุดท้ายอิเล็กตรอนที่ถูกปล่อยออกมาจะถูกส่งต่อให้กับตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายต่อไป เช่น ออกซิเจนรับอิเล็กตรอนแล้วรวมกับโปรตอนกลายเป็นน้ำ (ศุกรนิมิต สุจิรา, 2555) เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบ่งตามลักษณะโครงสร้างได้เป็น 2 ประเภท คือ เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ (Two-chamber microbial fuel cell) และเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดียว (Single-chamber microbial fuel cell) (ขณิษฐา หมู่โสภิญ, 2554)

จากงานวิจัยการผลิตกรดอะซีติกและไฟฟ้าร่วมกัน โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์เพื่อผลิตน้ำส้มสายชู (Takanori Tanino. et al., 2013) ทำการศึกษาการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยว โดยการหมักกรดอะซีติกที่ขั้วแอโนดในสภาวะไร้อากาศ ทำการเติมอาหารหมักประกอบด้วย

1% (w/v) peptone, 1% (w/v) meat extract และ 0.5% (v/v) ethanol เชื่อมต่อกับขั้วแคโทดในสภาวะเติมอากาศซึ่งกั้นทั้งสองขั้วด้วยเยื่อแลกเปลี่ยนโปรตอนโดยให้เฉพาะโปรตอนผ่านได้เท่านั้น สามารถผลิตไฟได้สูงสุดเท่ากับ 0.521 V จากงานวิจัยดังกล่าวทำให้เกิดแนวคิดที่จะสร้างรูปแบบการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่โดยรวมกระบวนการผลิตไวน์และผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยไข่สุกอบแห้ง ซึ่งกระบวนการผลิตไวน์จะดำเนินการภายใต้สภาวะไร้อากาศเหนี่ยวนำให้เป็นขั้วแอโนดและการผลิตน้ำส้มสายชูดำเนินการภายใต้สภาวะที่เติมอากาศเหนี่ยวนำให้เป็นขั้วแคโทด เชื่อมทั้ง 2 กระบวนการด้วยสะพานเกลือและใช้รูปแบบการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โดยการเติมอาหารใหม่ลงในกระบวนการเพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้ค่าไฟฟ้าอย่างต่อเนื่องเช่นกัน

กล้วยไข่ (Pisang Mas) เป็นผลไม้ตระกูลกล้วย สามารถปลูกได้ทุกภาคของไทยโดยเฉพาะจังหวัดกำแพงเพชร กล้วยไข่เป็นผลไม้ประจำจังหวัด ซึ่งทางจังหวัดได้ให้ความสำคัญกับพืชเศรษฐกิจชนิดนี้อย่างมาก เห็นได้จากการจัดงานประเพณีสารทไทยกล้วยไข่เมืองกำแพงขึ้นทุกปี นอกจากนี้กล้วยไข่ยังเป็นพืชสำคัญที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศได้มากมาย เนื่องจากมีรสชาติดี อร่อย หอม กล้วยไข่ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่มาก (กินกล้วยไข่ ขับไล่มะเร็ง, 2552) กล้วยไข่สามารถนำมาแปรรูปให้เป็นกล้วยไข่อบแห้งและนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ไวน์กล้วยไข่ที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ได้สูง (วิชญาดา มะลิวัลย์ และคนอื่นๆ, 2556; นิภัชราพร สภาพพร และน้ำฝน ประพัฒน์โพธิ์, 2557) และสามารถนำไวน์กล้วยไข่มาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นเพื่อผลิตน้ำส้มสายชู ซึ่งเป็นการแปรรูปผลิตภัณฑ์อีกชนิดหนึ่ง งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการผลิตไฟฟ้าจากเซลล์จุลินทรีย์โดยออกแบบเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ (Two-chamber microbial fuel cell) ห้องแอโนดทำงานในสภาวะที่ไร้อากาศหรือสภาวะที่ใช้ในการหมักไวน์ ซึ่งการหมักไวน์จะเกิดกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลเมื่อจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อสร้างเป็นพลังงานจะได้อิเล็กตรอนไปยังขั้วอิเล็กโทด การย่อยสารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (กันยรัตน์ โหละสุต, 2554) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โปรตรอน (H^+) อิเล็กตรอน (e^-) และเอทานอล ซึ่งในกระบวนการออกซิเดชันของเชื้อจุลินทรีย์จะสามารถผลิตประจุไฟฟ้าได้ โดยอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วไฟฟ้าแอโนดไปยังห้องแคโทดและเชื่อม 2 ระบบนี้ด้วยสะพานเกลือ (salt bridge) ที่ยอมให้โปรตอนเคลื่อนที่ผ่านไปยังห้องแคโทดที่ทำงานในสภาวะที่เติมอากาศมีปฏิกิริยาการหมักน้ำส้มสายชูด้วยแบคทีเรีย W4 (สุภาพร ตันยศ, 2556) น้ำส้มสายชูสามารถทำหน้าที่เป็นสารแคโทรไลท์ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ในห้องแอโนดเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ซึ่งเป็นการเพิ่มโปรตอน (H^+) ให้กับสารละลาย ส่วนห้องแคโทดจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นการให้โปรตอนกับสารละลาย อิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่จากขั้วแอโนดไปตามวงจรไฟฟ้าด้านนอกไปขั้วแคโทดเพื่อรวมตัวกับโปรตอนและตัวรับอิเล็กตรอน เช่น ออกซิเจน ได้ผลิตภัณฑ์คือน้ำและกระแสไฟฟ้า (ขณิษฐา หมู่โสภิญ, 2554) งานวิจัยนี้ทำการเก็บข้อมูลไฟฟ้าที่เกิดขึ้นภายในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่เพื่อประเมินศักยภาพและวิเคราะห์ระบบผลิตไฟฟ้ารูปแบบใหม่

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อนำเสนอรูปแบบการผลิตไฟฟ้าจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ โดยรวมกระบวนการผลิตไวน์และน้ำส้มสายชูจากกล้วยไข่สุกอบแห้งพร้อมกัน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมถังหมัก

เตรียมถังขนาด 6 ลิตร จำนวน 2 ถัง โดยถังที่ 1 ใช้ในการหมักไวน์ เจาะรูฝาถังหมักจำนวน 3 รู สายยางแรกสำหรับปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกแช่ลงในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 สายยางที่สองสำหรับดูดเก็บตัวอย่างและเติมอาหาร (สายต้องยาวถึงก้นถัง) สายที่สามเป็นสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นสังกะสีเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นขั้วลบ ส่วนถังที่ 2 ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู เจาะรูฝาถังหมักจำนวน 3 รู เพื่อใส่สายยางและสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นทองแดง สายแรกคือสายสำหรับเติมอากาศจะช่วยให้มีการผลิตกรดได้เร็วขึ้น สายสองสำหรับดูดเก็บตัวอย่างและเติมอาหาร (สายต้องยาวถึงก้นถัง) สายที่สามเป็นสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นทองแดงเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นขั้วบวก ทำการอัดกาวบริเวณรูใส่สายยางและสายไฟให้สนิท เพื่อป้องกันอากาศและเชื้อภายนอกถังเข้าสู่ภายในถัง ล้างถังหมักและสายยาง 2 สาย ด้วยโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร เพื่อลดการปนเปื้อนและทำให้ถังหมักอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ เชื่อมต่อทั้งสองถังด้วยสะพานเกลือ โดยการต้มเกลือจนอิ่มตัวแล้วเติมวุ้นลงไป รอจนวุ้นแข็งตัวจึงนำไปเชื่อมกับทั้งสองถัง โดยการเจาะรูที่ฝาถังให้พอดีกับขนาดของสะพานไฟปิดรูด้วยการอัดกาวให้สนิท เพื่อรักษาสมดุลของประจุไฟฟ้าทำให้ไฟฟ้าครบวงจร

2. การหมักไวน์ (ถังที่ 1)

2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (YM Agar)

ชั่ง Glucose, Peptone, Yeast Extract, Malt Extract และ Agar เท่ากับ 10, 5, 3, 3 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.2 การเลี้ยงยีสต์บริสุทธิ์

เตรียมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เทยีสต์ผงลงไปปริมาณ 0.5 กรัม เขย่าให้ยีสต์ฟื้นตัว ตั้งทิ้งไว้ 2-3 ชั่วโมง ทำการเขี่ยเชื้อยีสต์ ด้วยเทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์ (Cross streak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บโคโลนีเดี่ยวๆ ของยีสต์ ด้วยเทคนิคการเพิ่มปริมาณเชื้อ (Simple Streak) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar

2.3 การผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้ง

2.3.1 การเตรียมน้ำกล้วยไข่อบแห้ง

เตรียมน้ำกล้วยไข่สุกอบแห้งความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (%w/v) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำน้ำกล้วยไข่มาปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการหมักไวน์ โดยการปรับปริมาตรของแข็งที่ละลายด้วยน้ำตาลทรายขาวเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ โดยใช้ Hand refractometer เติมโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร เพื่อฆ่าเชื้อในน้ำกล้วยไข่สุกอบแห้ง ปิดระบบอากาศทั้ง 2 สาย ทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง

2.3.2 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับหมักไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้ง

ปิเปตน้ำกล้วยไข่จากถังหมักใส่ลงในขวดรูปชมพู่ปลอดเชื้อปริมาตรร้อยละ 5 โดยปริมาตร (%v/v) ถ่ายเชื้อยีสต์สดที่ได้ทำการเพิ่มจำนวนไว้ (ขั้นตอนที่ 2.2) ปริมาณ 1 ห่วงเขี่ยเชื้อ ลงในขวดรูปชมพู่ ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3.3 การหมักไวน์กล้วยไข่แบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation)

นำหัวเชื้อที่ได้จากขั้นตอนที่ 2.3.2 เทลงในถังหมัก ปิดระบบอากาศโดยสายที่เปิดคือสายที่ต่อลงในขวดเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 ทำการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการเติมอาหารใหม่ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (ขั้นตอนที่ 2.3.1 เติมโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อ

ลิตร ลงในอาหารทุกครั้งแล้วทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง) ลงในถังที่ 1 ทุกวัน จนครบปริมาตรสุดท้าย 5 ลิตร ทำการเก็บตัวอย่างทุกวันจนสิ้นสุดกระบวนการก่อนทำการเทอาหารใหม่ลงในถังหมักทุกวัน จากนั้นจึงหยุดการเติมอาหารใหม่แล้วทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน นำตัวอย่างที่ได้มานับเซลล์ที่มีชีวิตด้วยเทคนิค Spread plate ลงบน YM agar และวัดปริมาณแอลกอฮอล์โดย Gas chromatography (GC) นำตัวอย่างที่เหลือไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method

3. การศึกษาความแตกต่างของน้ำตาลซูโครสและกลูโคสในการผลิตน้ำส้มสายชูที่มีผลต่อการผลิตไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่

3.1 การศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสที่มีผลต่อการหมักน้ำส้มสายชู

3.1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (NA agar)

ชั่ง Beef Extract, Peptone และ Agar เท่ากับ 3, 5 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

3.1.2 การเลี้ยงแบคทีเรีย (W4) ให้บริสุทธิ์

นำแบคทีเรียรหัส W4 ที่คัดแยกได้จากงานวิจัยของ สุภาพร ตันยศ (2556) เขี่ยเชื้อด้วยเทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์ (Cross streak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บโคโลนีเดี่ยวๆ ของเชื้อด้วยเทคนิคการเพิ่มปริมาณเชื้อ (Simple Streak) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA agar

3.1.3 การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่

3.1.3.1 การเตรียมน้ำไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้ง

นำน้ำไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้งมาทำการปรับปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดด้วยน้ำตาลทรายขาวเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อปนเปื้อนโดยการเติมโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร ปิดระบบอากาศทั้ง 2 สาย ทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง

3.1.3.2 การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่แบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation)

ปิเปตน้ำไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้งจากถังหมัก (ขั้นตอน 3.1.3.1) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ปลอดเชื้อร้อยละ 5 โดยปริมาตร (%v/v) ถ่ายแบคทีเรียที่ได้ทำการเพิ่มจำนวนไว้ (ขั้นตอนที่ 3.1.2) ปริมาณ 1 ห่วงเขี่ยเชื้อ ลงในขวดรูปชมพู่ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำหัวเชื้อเทลงในถังหมัก เปิดระบบเติมอากาศหรือเติมออกซิเจน ทำการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการเติมอาหารใหม่ตามขั้นตอนที่ 3.1.3.1 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (เติมโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารใหม่ทุกครั้ง ทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง) เติมลงในถังหมักทุกวันจนครบ 9 วัน จึงหยุดการเติมอาหารใหม่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุกวันจนสิ้นสุดกระบวนการ นำตัวอย่างที่ได้มานับเซลล์ที่มีชีวิตด้วยเทคนิค Spread plate ลงใน NA agar วัดปริมาณแอลกอฮอล์ โดยวิธี Gas chromatography (GC) และวิเคราะห์กรดทั้งหมดด้วยการไตรเตรท นำตัวอย่างที่เหลือไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method

3.2 การศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคสที่มีผลต่อการหมักน้ำส้มสายชู

นำน้ำไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้งปริมาตร 500 มิลลิลิตร มาทำการฆ่าเชื้อโดยการเติมโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร ปิดระบบอากาศทั้ง 2 สาย ทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง เติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (%w/v) เตรียมหัวเชื้อโดยปิเปตน้ำไวน์จากถังหมักใส่ลงในขวดรูปชมพู่ปลอดเชื้อ

ร้อยละ 5 โดยปริมาตร (%v/v) ถ่ายแบคทีเรีย (W4) ที่ได้ทำการเพิ่มจำนวนไว้ (ขั้นตอนที่ 3.1.2) ปริมาณ 1 ห่วง เขี่ยเชื้อ ลงในขวดรูปชมพู่ ตั้งทิ้งในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำหัวเชื้อที่ได้เทลงในถังหมัก เปิดระบบเติมอากาศ ทำการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการเติมอาหารใหม่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 3.1.3.1 แต่เติมโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง และเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) ลงในอาหารใหม่ทุกครั้ง เทน้ำไวน์ที่ได้ลงในถังหมักทุกวันจนครบ 5 ลิตร ทำการเก็บตัวอย่างทุกวันจนสิ้นสุดกระบวนการ เมื่อครบ 9 วัน จึงหยุดการเติมอาหารใหม่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน นำตัวอย่างที่ได้มานับจำนวนสิ่งมีชีวิตด้วยเทคนิค Spread plate ลงบน NA agar วัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วย Vinometer และวิเคราะห์กรดทั้งหมดด้วยการไตรเตรท นำตัวอย่างที่เหลือไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method

4. ศึกษาค่าไฟฟ้าที่ได้จากเซลล์ไฟฟ้าจุลินทรีย์แบบห้องคู่

ทำการวัดค่าไฟฟ้าโดยวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า voltage (V) และค่ากระแสไฟฟ้า (electric current, μA) โดยใช้มัลติมิเตอร์ (Multimeter) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนสิ้นสุดกระบวนการ วัดผลทุกวันเป็นเวลา 16 วัน

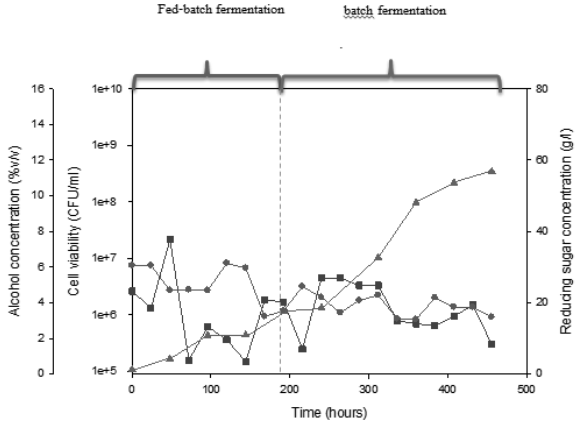
5. การผลิตไฟฟ้าจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยว

5.1 การเตรียมถังหมัก

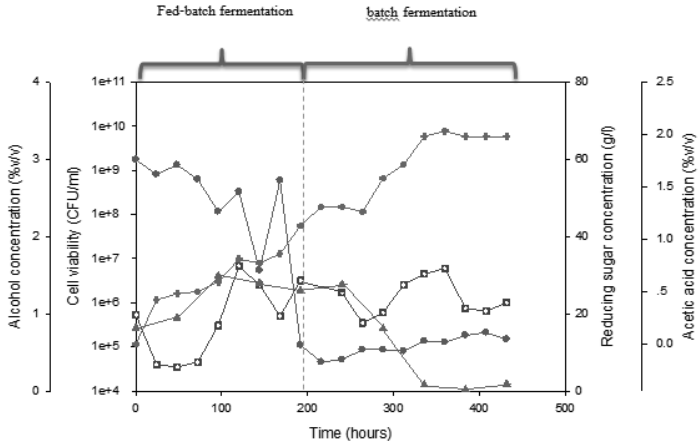
เตรียมถังขนาด 6 ลิตร จำนวน 2 ถัง โดยถังที่ 1 ใช้ในการหมักไวน์ เจาะรูฝาถังหมักจำนวน 4 รู เพื่อใส่สายยางและสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นสังกะสีและแผ่นทองแดง อัดกาวบริเวณรูใส่สายยางและสายไฟให้สนิท เพื่อป้องกันอากาศและเชื้อภายนอกเข้าสู่ภายในถังหมัก สายแรกคือสายสำหรับปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกแช่ลงในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 สายที่สองสำหรับดูดเก็บตัวอย่างและเติมอาหาร (สายต้องยาวถึงก้นถัง) สายที่สามเป็นสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นสังกะสีสายที่สี่เป็นสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นทองแดงเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นขั้วลบและขั้วบวก ล้างถังหมักและสายยาง 2 สาย ด้วยโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร เพื่อลดการปนเปื้อนและทำให้ถังอยู่ในสภาพที่ปลอดเชื้อ จากนั้นดำเนินการหมักไวน์เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 2 ส่วนถังที่ 2 ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู เจาะรูฝาถังหมักจำนวน 4 รู เพื่อใส่สายยางและสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นสังกะสีและแผ่นทองแดง อัดกาวบริเวณรูใส่สายยางและสายไฟให้สนิท เพื่อป้องกันอากาศและเชื้อภายนอกถังเข้าสู่ภายในถัง สายยางแรกคือสายสำหรับเติมอากาศ สายยางที่สองสำหรับดูดเก็บตัวอย่างและเติมอาหาร (สายต้องยาวถึงก้นถัง) รูที่สามเป็นสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นสังกะสี รูที่สี่เป็นสายไฟที่บัดกรีติดกับแผ่นทองแดงเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นขั้วลบและขั้วบวก ล้างถังหมักและสายยาง 2 สาย ด้วยโพรตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร เพื่อลดการปนเปื้อนและทำให้ถังอยู่ในสภาพที่ปลอดเชื้อจึงดำเนินการผลิตน้ำส้มสายชูจากการเติมน้ำตาลกลูโคสเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 3.2

ผลการวิจัย

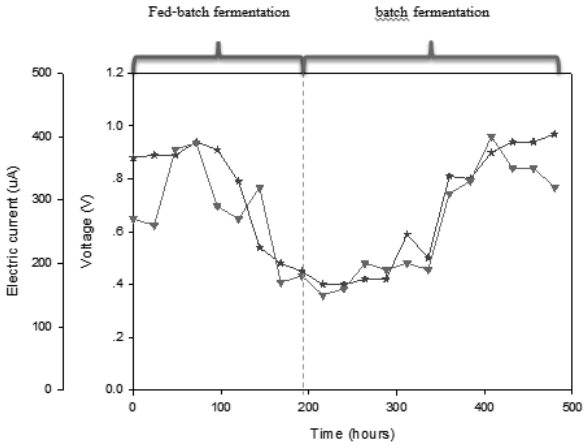
การผลิตไฟฟ้าโดยใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ที่ทำการเชื่อมต่อกันระหว่าง 2 กระบวนการ คือ การผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้ง และการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่ โดยทำการเติมน้ำตาลซูโครส แสดงผลดังภาพที่ 1


Fed-batch fermentation
batch fermentation
Alcohol concentration (%v/v)
Cell viability (CFU/ml)
Reducing sugar concentration (g/l)
Time (hours)

(ก)


Fed-batch fermentation
batch fermentation
Alcohol concentration (%v/v)
Cell viability (CFU/ml)
Reducing sugar concentration (g/l)
Acetic acid concentration (%v/v)
Time (hours)

(ข)


Fed-batch fermentation
batch fermentation
Electric current (uA)
Voltage (V)
Time (hours)

(ค)

ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ (ก) แทนถังหมักไวน์ (ข) แทนถังหมักน้ำส้มสายชู ที่ทำการเติมซูโครส (ค) แทนไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในขณะทำการหมักสองถังพร้อมกัน
สัญลักษณ์แทน

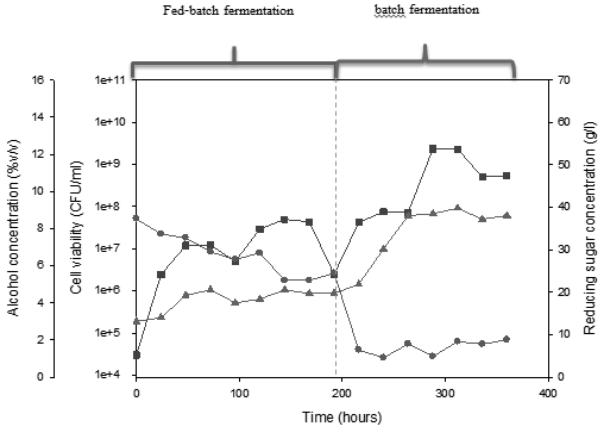
ปริมาณยีสต์ที่มีชีวิต (CFU/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิต (CFU/ml)
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ปริมาณเอทานอล (%v/v) ปริมาณกรด (%v/v)
ปริมาณกระแสไฟฟ้า (μA) ปริมาณค่าความต่างศักย์ (V)

จากการศึกษาเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ที่มีการเชื่อมต่อกันระหว่าง 2 กระบวนการ คือ การผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้ง และการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้ง โดยทำการเติมน้ำตาลซูโครส พบว่ากระบวนการผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้ง ยีสต์มีการปรับตัวต่อน้ำกล้วยไข่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยีสต์จึงเริ่มมีการใช้น้ำตาลซูโครสในการเจริญเพื่อเพิ่มปริมาณของเซลล์ในชั่วโมงที่ 48 สูงสุดเท่ากับ 2.16×10^{7} CFU/ml แต่อย่างไรก็ตามเซลล์ไม่สามารถรักษาระดับความมีชีวิตของเซลล์อยู่ได้ สังเกตจากปริมาณของยีสต์มีการเพิ่มขึ้นและลดลงอย่างไม่คงที่ เนื่องจากมีการเติมอาหารทุกๆ 24 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 192 หลังจากหยุดเติมอาหารปริมาณของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากปริมาณสารอาหารในถังหมักมีอยู่อย่างเพียงพอต่อการมีชีวิตของเซลล์ การใช้น้ำตาลของยีสต์เกิดขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลงเมื่อหยุดเติมอาหารใหม่ ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์คงเหลือในกระบวนการโดยประมาณ 15.96 g/l ยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพื่อสร้างเซลล์และผลิตแอลกอฮอล์ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ซึ่งให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับ 11.37 %(v/v)

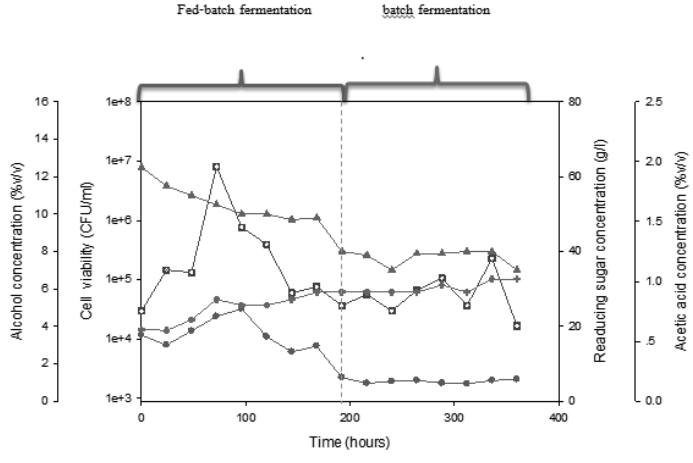
ส่วนกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมน้ำตาลซูโครสแบคทีเรีย (w4) มีการปรับตัวต่อน้ำไวน์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นแบคทีเรียจะเริ่มมีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์และแอลกอฮอล์ในชั่วโมงที่ 24 สังเกตจากปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ปริมาณของน้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 192 สอดคล้องกับการใช้แอลกอฮอล์อย่างต่อเนื่อง เพื่อผลิตน้ำส้มสายชูตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ทำให้สามารถผลิตน้ำส้มสายชูสูงสุดเท่ากับ 2 % (v/v) เนื่องจากแบคทีเรียไม่สามารถรักษาปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตได้ทำให้ปริมาณเซลล์ลดลงแต่สามารถให้ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียเข้าสู่กระบวนการหมักเพื่อสร้างกรดแทนการสร้างเซลล์

การผลิตไฟฟ้าของเซลล์จุลินทรีย์เริ่มผลิตกระแสไฟฟ้าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ในระหว่างการเติมอาหารชั่วโมงที่ 0-196 ปริมาณศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นและลดลงหลังจากหยุดเติมอาหาร ปริมาณความต่างศักย์และกระแสไฟฟ้าลดลงเรื่อยๆ ซึ่งผลิตไฟฟ้าได้สูงสุดเท่ากับ 0.97 V ในชั่วโมงที่ 480 และ 400 μA ในชั่วโมงที่ 408 ตามลำดับ ดังนั้นจากการทดลองการผลิตไฟฟ้าโดยใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ที่มีการเชื่อมต่อกันระหว่าง 2 กระบวนการ คือ การผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้งและการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่ที่ทำการเติมน้ำตาลซูโครส สามารถผลิตศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าได้ แต่ให้ปริมาณของศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าในปริมาณที่น้อยและไม่คงที่ เนื่องจากการเจริญของยีสต์อย่างไม่ต่อเนื่องและแบคทีเรียใช้แอลกอฮอล์เพื่อผลิตกรดในปริมาณต่ำในถังหมักน้ำส้มสายชูทำให้การย่อยสลายสารอาหารของเซลล์เกิดขึ้นอย่างช้าๆ อีกทั้งความสามารถของสะพานเกลือยังเป็นปัจจัยจำกัดความสามารถในการผลิตไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ เนื่องจากทำหน้าที่เสมือนเป็นตัวต้านทานในระบบ ซึ่งถ้าการผลิตกระแสไฟฟ้าจากเซลล์เชื้อพลิงจุลินทรีย์ได้รับการพัฒนาสะพานเกลือจะช่วยให้ระบบการผลิตสามารถผลิตไฟฟ้าได้มากกว่าค่าปัจจุบัน นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคโนโลยียุคใหม่ เช่น การใช้ Eletrolyte membrane หรือเยื่อแลกเปลี่ยนโปรตอน หรือใช้โพลิเมอร์แข็ง เช่น แนฟฟิออน (Nafion) เป็นเยื่อเลือกผ่านประจุจะให้โปรตอนเท่านั้นที่ผ่านได้ โปรตอนจะเคลื่อนที่ผ่านไปยังขั้วแคโทดผ่านเยื่อแลกเปลี่ยนโปรตอน ส่วนอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านวงจรภายนอกเซลล์ไปยังขั้วแคโทดทำให้ไฟฟ้าครบวงจร (Takanori Tanino. et al., 2013)

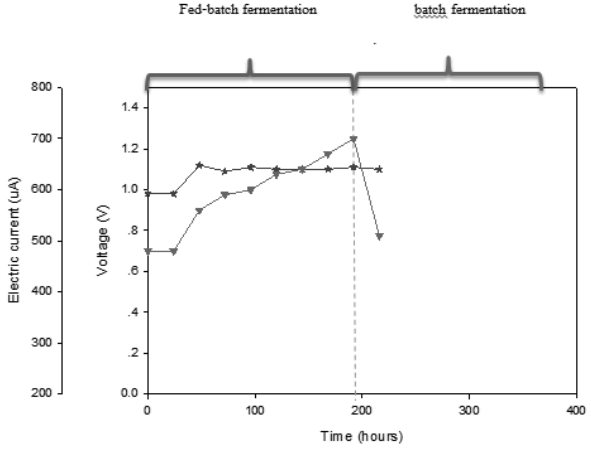
จากผลการทดลองที่ได้จึงเกิดแนวคิดในการเติมน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวลงไปในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู เพื่อต้องการให้แบคทีเรียในถังหมักน้ำส้มสายชูมีการย่อยสลายน้ำตาลได้อย่างคงที่และต่อเนื่อง และทดสอบความสามารถในการผลิตไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ แสดงผลดังภาพที่ 2



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ (ก) แทนถังหมักไวน์ (ข) แทนถังหมักน้ำส้มสายชู ที่ทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) (ค) แทนไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในขณะทำการหมักสองถังพร้อมกัน สัญลักษณ์แทน ปริมาณยีสต์ที่มีชีวิต (CFU/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิต (CFU/ml) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ปริมาณเอทานอล (%v/v) ปริมาณกรด (%v/v) ปริมาณกระแสไฟฟ้า (μA) ปริมาณค่าความต่างศักย์ (V)

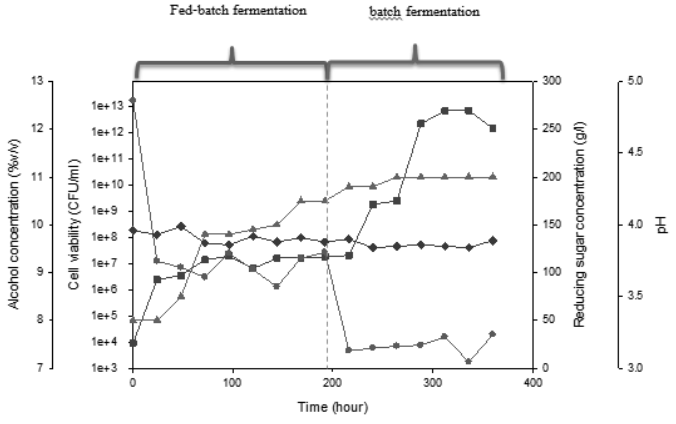
จากการศึกษาการผลิตไฟฟ้าโดยการเชื่อมต่อกันระหว่าง 2 กระบวนการ คือ การผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้ง และการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่ โดยทำการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) พบว่าในถังหมักไวน์ยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ทันทีไม่มีการปรับตัวต่อน้ำกล้วยไข่ ยีสต์เพิ่มปริมาณเซลล์ได้อย่างรวดเร็วและต่อเนื่องสูงสุดเท่ากับ 4.97×10^{7} CFU/ml จนหยุดการเติมอาหารใหม่ในชั่วโมงที่ 192 ปริมาณของเซลล์ลดลงและสามารถเพิ่มปริมาณของเซลล์ได้อีกจนถึงชั่วโมงที่ 316 สูงสุดเท่ากับ 2.33×10^{9} CFU/ml จากนั้นปริมาณของเซลล์ลดลง อย่างไรก็ตามยีสต์ยังสามารถเพิ่มปริมาณเซลล์ขึ้นมาได้หลังจากมีการหยุดเติมอาหาร ยีสต์ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 สังเกตจากปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง และปริมาณแอลกอฮอล์ถูกสร้างขึ้นจากการใช้น้ำตาลให้ปริมาณของแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับ 9.1 % (v/v) ซึ่งน้อยกว่าการหมักครั้งแรก เนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพื่อสร้างเซลล์ในปริมาณมาก ทำให้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายของยีสต์ถูกใช้ในการสร้างแอลกอฮอล์ลดลง

ส่วนกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) แบคทีเรียมีการปรับตัวต่อน้ำไวน์ในชั่วโมงที่ 0-48 จากนั้นจะเพิ่มปริมาณของเซลล์อย่างรวดเร็ว เซลล์มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในขณะทำการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) ในขณะเดียวกันปริมาณกรดที่ได้กลับต่ำทำให้ทราบว่าปริมาณกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องถ้าปริมาณเซลล์คงที่และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตปริมาณน้อยจะทำให้ได้ปริมาณกรดมากขึ้น จากผลปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า แบคทีเรียในระบบใช้น้ำตาลกลูโคสแอลกอฮอล์เพื่อผลิตน้ำส้มสายชู และใช้สารอาหารที่มีอยู่ในน้ำไวน์กล้วยไข่เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ แบคทีเรียสามารถผลิตน้ำส้มสายชูตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ให้กรดสูงสุดเท่ากับ 1.02 % (v/v) ซึ่งน้อยกว่าการเติมน้ำตาลซูโครสลงในกระบวนการหมัก

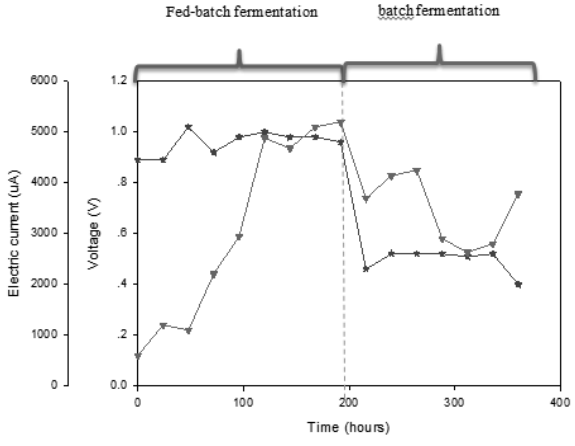
การผลิตไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ เริ่มผลิตในชั่วโมงที่ 48 ปริมาณศักย์ไฟฟ้าจะคงที่ เท่ากับ 1.1 V ปริมาณของกระแสไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นสูงสุดและต่อเนื่องที่ 700 μA ปริมาณของความต่างศักย์และ

กระแสไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นตามการลดลงอย่างต่อเนื่องของปริมาณแอลกอฮอล์ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู หลังจากชั่วโมงที่ 216 พบว่าไม่สามารถผลิตไฟฟ้าได้ เนื่องจากเกิดความเสียหายของสะพานเกลือ เนื่องจากรอยเชื่อมต่อของเกลือภายในสะพานไฟขาดจึงไม่สามารถปรับสมดุลโปรตอนของทั้ง 2 กระบวนการได้ ดังนั้นการผลิตไฟฟ้าโดยใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ที่มีการเชื่อมต่อกันระหว่าง 2 กระบวนการ คือ การผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้งและการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่ โดยทำการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) พบว่าการเพิ่มปริมาณของยีสต์ในถังหมักไวน์มีผลต่อการผลิตกระแสไฟฟ้าและการลดลงของเอทานอลในถังหมักกรดมีผลต่อการผลิตไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงแบบห้องคู่ที่มีการเชื่อมทั้งสองถังด้วยสะพานเกลือ

การผลิตไฟฟ้าโดยใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวถูกดำเนินการเพื่อยืนยันกระบวนการหมักไวน์และกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (%w/v) ว่าสามารถผลิตไฟฟ้าโดยจุลินทรีย์ได้จริง แสดงผลดังภาพที่ 3 และ 4



(ก)

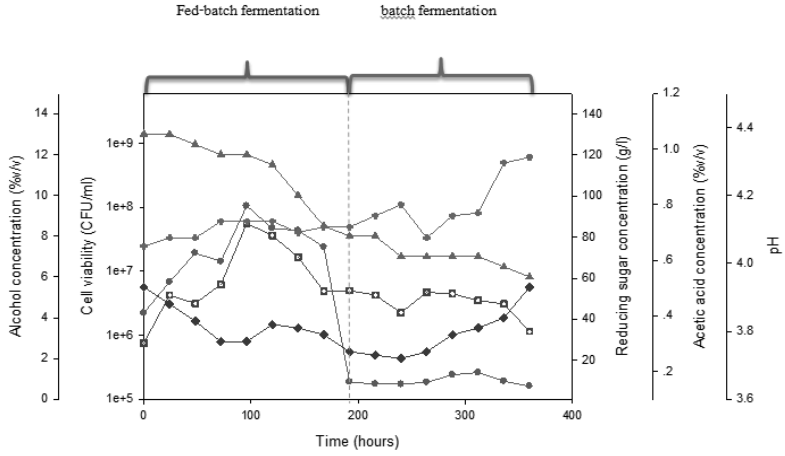


(ข)

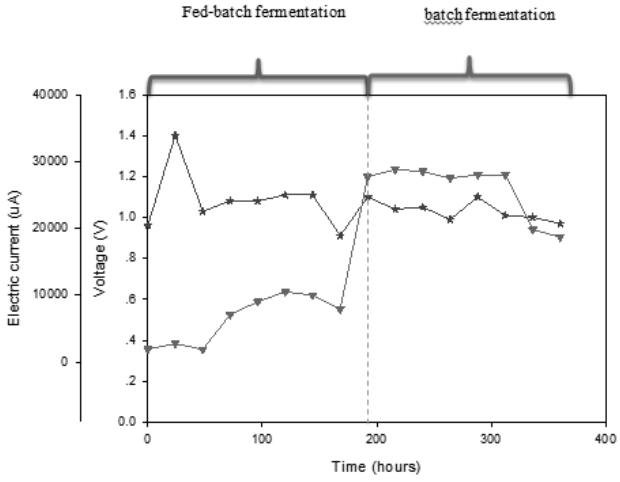
ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวของการหมักไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้ง (ก) แทนในถังหมักไวน์ (ข) แทนไฟฟ้าที่เกิดขึ้น สัญลักษณ์แทน —■— ปริมาณยีสต์ (CFU/ml) —●— ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) —▲— ปริมาณเอทานอล (%v/v) —◆— ค่า pH —▼— ปริมาณกระแสไฟฟ้า (μA) —★— ปริมาณค่าความต่างศักย์ (V)

จากการศึกษาเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวของกระบวนการหมักไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้ง พบว่า ยีสต์มีการปรับตัวต่อน้ำกล้วยไข่ได้อย่างรวดเร็วโดยมีการเพิ่มปริมาณของเซลล์อย่างต่อเนื่อง ในการเพิ่มปริมาณของเซลล์ ยีสต์มีการใช้น้ำตาลซูโครสและสารอาหารจากกล้วยไข่ สังเกตจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ยีสต์ใช้น้ำตาลในการเพิ่มปริมาณของเซลล์และผลิตแอลกอฮอล์ให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 11% (v/v) ค่าพีเอชในกระบวนการหมักไวน์คงที่ ค่าความต่างศักย์คงที่แต่กระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มปริมาณเซลล์ให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 1V และ 2500 μA ตามลำดับ หลังจากหยุดเติมอาหารใหม่ ในชั่วโมงที่ 192 ปริมาณศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้ามีปริมาณที่ลดลงอย่างต่อเนื่องเป็นผลมาจากการย่อยสลายสารอาหารของจุลินทรีย์ลดลง แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) ที่สามารถส่งเสริมกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์อย่างต่อเนื่อง เมื่อทำการหมักเป็นเวลานานจะเกิดการผุกร่อนของขั้วอิเล็กโทด สังกะสี ทองแดง ทำให้มีพื้นที่ในการรับอิเล็กตรอนน้อยลง ดังนั้นการผลิตไฟฟ้าแบบห้องเดี่ยวจากกระบวนการหมักไวน์ค่าความต่างศักย์และกระแสไฟฟ้าเป็นไปตามการผลิตแอลกอฮอล์โดยยีสต์

การผลิตไฟฟ้าโดยใช้เซลล์เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวของกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้ง ทำการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) แสดงผลดังภาพที่ 4



(ก)



(ข)

ภาพที่ 4 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวของการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่สุกอบแห้ง (ก) แทนในถังหมักน้ำส้มสายชู ที่ทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) (ข) แทนไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในขณะทำการหมัก สัญลักษณ์แทน —□— ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิต (CFU/ml)—●— ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) —▲— ปริมาณเอทานอล (%v/v) —●— ปริมาณกรด (%v/v) —◆— ค่า pH —▼— ปริมาณกระแสไฟฟ้า (μA) —★— ปริมาณค่าความต่างศักย์ (V)

จากการศึกษาผลของการผลิตไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยว โดยกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) พบว่าแบคทีเรียสามารถใช้สารอาหารในน้ำไวน์กล้วยไข่ได้ทันทีตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 แบคทีเรียเพิ่มปริมาณของเซลล์สูงสุดในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 1.90×10^{7} CFU/ml ปริมาณของแบคทีเรียจึงลดลง หลังจากหยุดเติมอาหารในชั่วโมงที่ 192 ในระหว่างที่เชื้อมีการเพิ่มปริมาณของเซลล์จะเกิดการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสและใช้แอลกอฮอล์ แสดงดังปริมาณของน้ำตาลที่ลดลงอย่างรวดเร็วและปริมาณของแอลกอฮอล์ลดลงอย่างต่อเนื่องส่งเสริมให้แบคทีเรียผลิตน้ำส้มสายชูเท่ากับ 0.97 % (v/v) ค่าพีเอชในกระบวนการมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แบคทีเรียสามารถผลิตไฟฟ้าได้ ปริมาณค่าความต่างศักย์คงที่ ส่วนกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นตามการลดลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และแอลกอฮอล์ การผลิตศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าหลังจากหยุดเติมอาหาร พบว่าเชื้อยังมีความสามารถในการผลิตไฟฟ้าได้สูงสุด เท่ากับ 1V และ 28,000 μA

จากผลการทดลองเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวผ่านกระบวนการการหมักไวน์กล้วยไข่จากกล้วยไข่สุกอบแห้งพบว่าในช่วงการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) จะมีปริมาณของเซลล์และแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับค่ากระแสไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) ในช่วงการหมักแบบกะ (batch fermentation) ให้ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและค่ากระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและคงที่ จึงถือว่าเป็นกระบวนการที่เหมาะสมต่อการพิจารณาปรับปรุงการสร้างเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ แม้ในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจะมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคสที่ถูกเติมลงไปในกระบวนการ ซึ่งส่งเสริมการผลิตเซลล์

และการใช้แอลกอฮอล์ ดังนั้นจึงสามารถปรับปรุงระบบให้เหมาะสม เพื่อที่จะทำให้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ผลิตไฟฟ้าได้มากขึ้น

เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ โดยกระบวนการหมักไวน์กับกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูด้วยน้ำตาลซูโครสสามารถผลิตไฟฟ้าสูงสุดเท่ากับ 0.97 V และ 400 μA กระบวนการหมักไวน์กับกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) ผลิตไฟฟ้าสูงสุดเท่ากับ 1.1 v และ 700 μA การหมักน้ำส้มสายชูด้วยน้ำตาลซูโครสสามารถผลิตไฟฟ้าได้น้อยกว่าการกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) เนื่องจากน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ทำให้การหมักน้ำส้มสายชูภายในถังเกิดอัตราเมแทบอลิซึมต่ำกว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว แบคทีเรียสามารถย่อยสลายกลูโคสได้ดีกว่าซูโครสและสามารถปลดปล่อยอิเล็กตรอนและโปรตอนได้มากกว่า ทำให้ได้ไฟฟ้าในปริมาณมากกว่า ส่วนการผลิตไฟฟ้าจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยว พบว่ากระบวนการหมักไวน์สามารถผลิตไฟฟ้าได้สูงสุด 1V และ 2500 μA ส่วนเซลล์เชื้อเพลิงแบบห้องเดี่ยวที่มีกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูซึ่งทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (w/v) สามารถผลิตไฟฟ้าได้สูงสุด 1.1V และ 28,000 μA การหมักน้ำส้มสายชูสามารถผลิตไฟฟ้าได้มากกว่ากระบวนการหมักไวน์ เนื่องจากกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูมีการเติมอากาศ ซึ่งออกซิเจนสามารถเป็นตัวรับอิเล็กตรอนและสารละลายภายในถังหมักมีความเป็นกรดจึงสามารถผลิตไฟฟ้าได้ดี (กันยรัตน์ โหละสุต, 2554)

จากการศึกษาการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่และห้องเดี่ยว พบว่าเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวสามารถผลิตไฟฟ้าได้มากกว่าเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ เนื่องจากห้องเดี่ยวไม่มีการต่อของสะพานเกลือเพื่อเชื่อมระบบ ซึ่งปัญหาสำคัญที่พบคือ สะพานเกลือที่ผู้วิจัยได้สร้างมานั้นภายในมีฟองอากาศเล็กๆ จำนวนมากซึ่งฟองอากาศที่เกิดขึ้นนี้ทำให้เกิดแรงต้านทานขึ้นในระบบเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ ทำให้ได้ปริมาณไฟฟ้าต่ำกว่าเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยว ทำให้ต้องมีการปรับปรุงสะพานเกลือโดยใช้เยื่อเลือกผ่านโปรตอนในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่จะช่วยลดแรงต้านทานในระบบและสามารถผลิตไฟฟ้าได้มากขึ้น

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการสร้างรูปแบบการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ โดยใช้กระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) กระบวนการผลิตไวน์จากกล้วยไข่สุกอบแห้งและการผลิตน้ำส้มสายชูที่ทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 % (v/v) สามารถผลิตไฟฟ้าได้สูงสุด 1.1 V และ 700 μA ซึ่งให้ปริมาณไฟฟ้ามากกว่างานวิจัยการผลิตกรดอะซีติกและไฟฟ้าร่วมกันโดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์เพื่อผลิตน้ำส้มสายชูโดยกระบวนการหมักซ้ำแบบกะ สามารถผลิตไฟฟ้าได้สูงสุดเท่ากับ 0.521 V และ 19.1 μA หลังจากการหมักครั้งที่ 3 (Takanori Tanino, et al., 2013) และงานวิจัยการผลิตไฟฟ้าจากการหมักขยะอินทรีย์โดยกระบวนการเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพแบบห้องเดี่ยวออกแบบชุดเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพขนาดเล็กในระดับห้องปฏิบัติการ จากส่วนผสมจากน้ำตาลซูโครส:น้ำมะพร้าวอ่อน:น้ำ ปริมาตรรวม 500 ml ให้ค่าความต่างศักย์ของเซลล์ไฟฟ้าสูงสุดเท่ากับ 0.4382 V มีกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้น 61.2 μA และออกแบบชุดเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพภาคสนามโดยการหมักน้ำหมักชีวภาพที่เตรียมจากสับปะรด ให้ค่าความต่างศักย์ของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.5 V และให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดเท่ากับ 120.3 μA แต่ใกล้เคียงกับงานวิจัยพลังงานทดแทนจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพของกันยรัตน์ โหละสุต (2554) ทำการศึกษาการผลิตไฟฟ้าเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องเดี่ยวจากน้ำเสียและระดับของตะกอนดินที่ส่งผลต่อการผลิตไฟฟ้าโดยเพิ่มความต่างศักย์ไฟฟ้าจากการต่อเซลล์แบบอนุกรมสามารถให้ความต่างศักย์สูงสุดเท่ากับ 1.1 V ในระดับตะกอนดิน 5 cm จากงานวิจัยดังที่กล่าวมาแสดงให้เห็นถึง

ศักยภาพของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตไฟฟ้าได้มากเนื่องจากมีการประยุกต์ใช้กระบวนการหมักเข้าร่วมในกระบวนการโดยเติมอาหารใหม่ทุกวัน จึงส่งเสริมการผลิตกระแสไฟฟ้าได้มากกว่าเนื่องจากจุลินทรีย์มีอัตราเมแทบอลิซึมสูง อย่างไรก็ตามการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ควรมีการปรับปรุงสะพานเกลือให้มีศักยภาพในการปรับสมดุลโปรตอน (H^+) อิเล็กตรอน (e^-) และลดแรงต้านทานจะช่วยให้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ผลิตไฟฟ้าได้มากขึ้น และเป็นทางเลือกในการผลิตไฟฟ้ารูปแบบใหม่ที่น่าสนใจเปรียบได้กับโรงงานไฟฟ้าจากพลังงานธรรมชาติโดยมีผลพลอยได้จากการผลิตเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ ได้แก่ เอทานอลเท่ากับ 9.1 (%v/v) และกรดอะซิติกเท่ากับ 1.02 (%v/v) และชีวมวลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่มีส่วนในการสนับสนุนให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กินกล้วยไข่ขับไร่มะเร็ง. (2552). [Online]. Available : http://www.arunsawat.com/board/index.php?topic=8981.0;wap2. [2558, สิงหาคม 20].

กันยรัตน์ โหละสุต. (2554). **พลังงานทดแทนจากเซลล์เชื้อเพลิงจุลิลชีพ.** วิทยานิพนธ์วิศวกรรมเคมี มหวิทยาลัยขอนแก่น.

ขนิษฐา หมู่โสภิญ. (2554, มกราคม-มีนาคม). เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ : แนวทางใหม่เพื่อการผลิตพลังงาน. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 13**(1), 20-27.

ศุกรนิมิต สุจิรา. (2555). เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์กับการบำบัดน้ำเสีย. **วารสารสถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 16**(2), 20-23.

ทวิทย์ จันทร์สด. (2551). **การเพิ่มกำลังไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพแบบต่อเนื่อง.** วิทยานิพนธ์วิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิชญาดา มะลิวัลย์, นิภัชราพร สภาพพร และวรสิทธิ์ โทจำปา. (2556). **ไวน์กล้วยไข่ ในรายงานการประชุมวิชาการระดับชาติวิทยาศาสตร์วิจันครั้งที่ 5.** วันที่ 4-5 มีนาคม พ.ศ. 2556 (หน้า 170-176). มหาวิทยาลัยพะเยา.

นิภัชราพร สภาพพร และน้ำฝน ประพัฒน์โพธิ์. (2556). **การผลิตไวน์กล้วยไข่โดยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ ในรายงานการประชุมวิชาการนเรศวรวิจัยครั้งที่ 10 : เครือข่ายวิจัย สร้างความรู้สู่อาเซียน.** สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ผกาวดี แก้วกันเนตร และอรวรรณ ผาจันทร์. (2553, มกราคม-มีนาคม). เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ : พลังงานแห่งอนาคต. **วารสารศูนย์บริการวิชาการ, 18**(1), 22-26.

สุภาพร ตันยศ. (2556). การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์กล้วยไข่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

Takanori T., Nara Y, Tsujiguchi T, and Ohshima T. (2013). Coproduction of acetic acid and electricity by application of microbial fuel cell technology to vinegar fermentation. **Janpan Biotechnology, 116**(2), 219-223.