บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ตัวอย่างวัชพืชที่ใช้ในงานวิจัย

วัชพืชที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีทั้งที่เป็นวัชพืชอายุสั้นปีเดียว (annual weed) และวัชพืชอายุหลายปี (perennial weed) ซึ่งในด้านการใช้ประโยชน์จากชีวมวลพืช เช่น การนำมาผลิตเยื่อเซลลูโลสละเอียด หรือการนำมาหมักเพื่อผลิตเอทานอลนั้น วัชพืชประเภทอายุหลายปีเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจกว่า เนื่องจากพืชอายุหลายปีสามารถขึ้นใหม่หลังจากการเก็บเกี่ยวในแต่ละปี จึงไม่ต้องปลูกทดแทนใหม่ทุกปีซึ่งประหยัดต้นทุนได้มาก (Samson, 1991; McLaughlin and Walsh, 1998)

5.2 การหาองค์ประกอบของชีวมวล เถ้า และการผลิตเยื่อเซลลูโลสละเอียดของวัชพืช

วัชพืชที่มีต้นใหญ่และสูง เช่น กก มีปริมาณเซลลูโลสสูง และมีปริมาณเถ้าต่ำ น่าที่จะเลือกเป็นพืชพลังงาน เนื่องจากปริมาณเซลลูโลสเป็นปัจจัยเบื้องต้นในการเลือกเพื่อนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล (Samson and Omielan, 1992) และปริมาณเถ้าที่ต่ำก็มีความสำคัญด้วยเช่นกัน เนื่องจากในการเผาไหม้ชีวมวลของพืชเพื่อให้ได้พลังงานนั้นจะเกิดอยู่ในเตาเผา ปริมาณเถ้าที่สูงทำให้ยากต่อการกำจัดและเป็นปัญหาในการอุดตันตะแกรงของเตาเผาด้วย โดยเถ้าจะมีการหลอมตัวเป็นก้อนแข็งเมื่อมีการเผาไหม้ที่อุณหภูมิสูงมากๆ (Paulrud and Nilsson, 2001) ในทางกลับกันวัชพืชที่มีลักษณะลำต้นอวบน้ำ เช่น ธูปฤาษี พบว่ามีปริมาณเซลลูโลสต่ำและมีปริมาณเถ้าค่อนข้างสูงด้วย นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงความคุ้มค่าในการผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียดแล้ว ยังพบว่า กก มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตในการผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียดสูงที่สุด ซึ่งลักษณะภายนอกของเยื่อเซลลูโลสละเอียดที่เตรียมได้จากวัชพืชทั้ง 8 ชนิด มีลักษณะเป็นเยื่อละเอียด ฟู มีน้ำหนักเบา และมีสีค่อนข้างขาว ใกล้เคียงกับแอลฟา-เซลลูโลส

5.3 ปริมาณความชื้นและปริมาณแอลฟา-เซลลูโลส เบต้า-เซลลูโลส และแกมม่า-เซลลูโลสในเยื่อเซลลูโลสละเอียดที่ผลิตได้

เยื่อเซลลูโลสละเอียดของวัชพืชทั้ง 8 ชนิด มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 2.85 ถึง 8.55 ซึ่งเยื่อเซลลูโลสละเอียดจากหญ้าขจรจบ มีปริมาณความชื้นต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 2.85 ดังนั้นเยื่อที่ได้จึงมีน้ำหนักเบา ดูดความชื้นจากภายนอกได้ต่ำ และจากการสรุปเกณฑ์ขั้นต่ำ

ของคุณภาพทางเคมีสำหรับวัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้เตรียมเซลลูโลสคุณภาพสูง ซึ่งประกอบด้วย มีแอลฟา-เซลลูโลส ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 29 มีลิกนิน ไม่เกินร้อยละ 22 เปอร์เซ็นต์ และมีเถ้า ไม่เกินร้อยละ 9 พบว่า ในการผลิตเยื่อเซลลูโลสละเอียดจากวัชพืชจำนวน 8 ชนิด มีคุณสมบัติจัดอยู่ในเกณฑ์ดังกล่าว คือ วัชพืชทั้งหมดมีปริมาณแอลฟา-เซลลูโลสสูงกว่าร้อยละ 29 มีปริมาณลิกนินต่ำกว่าร้อยละ 22 และส่วนใหญ่มีปริมาณเถ้าไม่เกินร้อยละ 9 ยกเว้น หญ้าเนเปียร์ และธูปฤาษี ซึ่งมีปริมาณเถ้าร้อยละ 10.20 และ 11.06 ตามลำดับ หากพิจารณาถึงขั้นตอนต่างๆ ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาเซลลูโลสนั้น พบว่าในการนำตัวอย่างพืชแห้งที่ผ่านการบดแล้วไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วปั่นหรือคนตัวอย่างให้เข้ากับสารละลายด่าง ซึ่งการกระจายตัวที่สมบูรณ์มีความจำเป็นอย่างมาก เพราะถ้าการกระจายตัวไม่สมบูรณ์อาจทำให้ปริมาณแอลฟา-เซลลูโลสสูงเกินความเป็นจริงได้ เนื่องจากส่วนอื่นที่ไม่ใช่แอลฟา-เซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนที่สามารถละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถละลายออกมาได้หมด จึงทำให้ส่วนที่ไม่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มีมากกว่าความเป็นจริงได้ นอกจากนี้ ยังต้องระวังการเกิดฟองให้มากที่สุด เพราะอาจเป็นการสูญเสียเซลลูโลสไปในระหว่างทำการผสมให้เข้ากัน จากการที่โครงสร้างทางกายภาพของตัวอย่างพืชเกิดการบวมตัวซึ่งเกิดจากการที่มีฟองอากาศเข้าไป ทำให้พันธะไฮโดรเจนที่เชื่อมระหว่างแต่ละโมเลกุลของเซลลูโลสแตกออก จึงเกิดการแทนที่โมเลกุลของเซลลูโลสด้วยสารละลายด่าง ทำให้โมเลกุลของเซลลูโลสสูญเสียไปในขั้นตอนนี้ได้ (Casey, 1980) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นขณะทำการไทเทรต pulp filtrate ด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ต้องหาค่าความเข้มข้นที่แน่นอนทุกครั้งก่อนทำการวิเคราะห์ ซึ่งมีแนวโน้มที่ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตจะลดลงเรื่อยๆ ตามเวลาที่ผ่านไป จึงเป็นอีกจุดหนึ่งที่อาจทำให้ปริมาณแอลฟา-เซลลูโลสที่วิเคราะห์ได้มีความน่าเชื่อถือน้อยลง โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นการไทเทรตแบบย้อนกลับ (back titration) คือ สารละลายตัวอย่างซึ่งประกอบด้วย เบต้าและแกมม่า-เซลลูโลสซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตจนสารละลายตัวอย่างหมดไปก่อน และสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหลือจะทำปฏิกิริยาต่อกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตจนหมด จากนั้นนำปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ถูกใช้ในการไทเทรตไปคำนวณหาปริมาณแอลฟา-เซลลูโลสต่อไป

ส่วนเมื่อพิจารณาในด้านการใช้ประโยชน์นั้น เซลลูโลสชนิด แอลฟา-เซลลูโลส เป็นที่นิยมในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อการผลิตเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสชนิดต่างๆ และในปัจจุบันประเทศไทยยังต้องนำเข้าเยื่อเซลลูโลสคุณภาพสูงซึ่งมีราคาแพงอยู่ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ ซึ่งผลิต

เยื่อเซลลูโลสละเอียดจากวัชพืชที่พบมากในประเทศไทยแล้วนำมาเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อให้เชื้อราผลิตเซลลูเลส จากนั้นนำเซลลูเลสซึ่งมีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดส ที่ดีที่สุดสำหรับนำไปใช้ในการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง เพื่อผลิตเอทานอลนั้น จึงเป็นแนวทางใหม่ที่น่าสนใจในการใช้ประโยชน์จากวัชพืช และการใช้ประโยชน์จากเยื่อเซลลูโลสละเอียด

5.4 การผลิตเซลลูเลส

จากการผลิตเซลลูเลส โดยการเลี้ยงเชื้อรา *T. reesei* Rut C-30 ในอาหารสูตร Production ที่มี α-cellulose 3%(w/v) เป็นแหล่งคาร์บอน เปรียบเทียบกับอาหารสูตร Production ที่มีวัชพืช 8 ชนิด เป็นแหล่งคาร์บอน และอาหารสูตร Production ที่มีเยื่อเซลลูโลสละเอียดจากวัชพืช 8 ชนิด เป็นแหล่งคาร์บอน แล้ววิเคราะห์ผลการทดลองด้วยการวัดค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลส ซึ่งประกอบด้วย เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดส พบว่าเอนไซม์ซึ่งผลิตได้จากการใช้อาหารสูตร Production ที่มีแขมเป็นแหล่งคาร์บอนนั้น มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส และเอนโดกลูคาเนสสูงที่สุด คือ 2.932 และ 43.024 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ตามลำดับ ส่วนเมื่อใช้ธูปฤาษีเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบต้า-กลูโคซิเดสสูงที่สุด คือ 0.379 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ดังนั้นแขม และธูปฤาษี จึงเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม

เอนไซม์ซึ่งผลิตได้จากการใช้อาหารสูตร Production ที่มีเยื่อเซลลูโลสละเอียดของเลาเป็นแหล่งคาร์บอนนั้น มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดสสูงที่สุด คือ 2.349 และ 0.267 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ตามลำดับ ส่วนเมื่อใช้เยื่อเซลลูโลสละเอียดของหญ้าเนเปียร์เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสสูงที่สุด คือ 34.906 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ดังนั้น เยื่อเซลลูโลสละเอียดของเลา และเยื่อเซลลูโลสละเอียดของหญ้าเนเปียร์จึงเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม ซึ่งในการพิจารณาค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสนั้น จะพิจารณาที่ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนสเป็นอันดับแรก เนื่องจากเอกโซกลูคาเนสทำหน้าที่ตัดพันธะ β-1,4–glucosidic ที่บริเวณปลายด้านที่ไม่มีความสามารถในการรีดิวซ์ (non-reducing end) ของเซลลูโลส ทำให้ได้เซลโลไบโอสเป็นส่วนใหญ่ อันดับต่อมาจะพิจารณาที่ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบต้า-กลูโคซิเดส เนื่องจากเบต้า-กลูโคซิเดส ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคส และอันดับสุดท้าย คือ พิจารณาที่ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส เพราะเอนโดกลูคาเนส ทำหน้าที่ตัดพันธะ β-1,4–glucosidic ภายใน

สายเซลลูโลสบริเวณอะมอร์ฟัสแบบสุ่ม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์หลายชนิด คือ โอลิโกแซคคาไรด์ เซลโลไบโอส และกลูโคสที่ปริมาณน้อยมาก นอกจากนี้ยังพบว่า มีวัชพืช 2 ชนิดซึ่งเมื่อผ่านการผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียดแล้ว ให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสสูงขึ้น คือ เลา โดยก่อนการผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียด ให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส 0.079 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน เอนโดกลูคาเนส 0.281 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน และเบต้า-กลูโคซิเดส 0.006 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน แต่เมื่อผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียดแล้วให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส 2.349 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน เอนโดกลูคาเนส 24.624 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน และเบต้า-กลูโคซิเดส 0.267 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ส่วนวัชพืชอีกชนิดหนึ่ง คือ หญ้าคา ซึ่งพบว่าก่อนการผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียด ให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส 0.515 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน เอนโดกลูคาเนส 7.382 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน และเบต้า-กลูโคซิเดส 0.064 ยูนิตต่อมิลลิกรัม แต่เมื่อผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียดแล้วให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส 1.826 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน เอนโดกลูคาเนส 28.185 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน และเบต้า-กลูโคซิเดส 0.152 ยูนิต ต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ดังนั้น การที่วัชพืชถูกผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียดแล้ว ทำให้มีประสิทธิภาพในการเป็นแหล่งเซลลูโลสสำหรับการผลิตเซลลูเลสที่ดีขึ้น อาจเป็นไปได้ว่า ลักษณะโครงสร้างของสายเซลลูโลสมีการเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะแบบอะมอร์ฟัส ทำให้ง่ายต่อการย่อยสลายโดยเชื้อรา เพราะเซลลูโลสส่วนที่เป็นคริสตัลไลน์ คือ บริเวณที่มีพันธะไฮโดรเจนอยู่อย่างหนาแน่น จึงยากต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Eriksson, 1990) ดังนั้น เลาและหญ้าคา จึงน่าสนใจที่จะนำมาผลิตเป็นเยื่อเซลลูโลสละเอียดสำหรับใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ในอาหารสูตร Production เพื่อให้เชื้อราใช้ในการผลิตเอนไซม์

5.5 การหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง

สำหรับการหมักแบบ SSF ในระดับฟลาสก์ ซึ่งใช้ยีสต์ *K. marxianus* NRRL Y-1109 ที่เจริญจนเข้าสู่ภาวะที่มีการเจริญเติบโตสูงสุด คือ 12 ชั่วโมง สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น เนื่องจากยีสต์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนถึงปลายระยะ log phase ใช้เวลา 12 ชั่วโมง เพราะว่ายีสต์ที่เจริญในภาวะเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง (bath culture) จะมีระดับของการสะสมคาร์โบไฮเดรตในเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการเจริญเติบโต เพราะในอาหารเลี้ยงเชื้อยังมีน้ำตาลและมีไนโตรเจนอยู่จำกัด ดังนั้นจึงเลือกใช้ยีสต์สายพันธุ์นี้ที่มีอายุในการบ่ม 12 ชั่วโมง เป็นหัวเชื้อในการหมักต่อไป นอกจากนี้การเลือกใช้ยีสต์ที่ความเข้มข้น 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในการหมัก เพราะว่าการใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น 1×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร เนื่องจากเซลล์

มีการเจริญเติบโตได้ดี มีการเพิ่มของจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วภายในวันที่ 1 ของการหมัก มีประสิทธิภาพของการใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลที่ดี เพราะเหลือกลูโคสในระบบต่ำมาก สำหรับการเลือกใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในการหมัก เพราะว่ายีสต์มีอัตราการเจริญในช่วงแรกสูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งการเจริญเติบโตได้เร็วในช่วงแรกมีความสำคัญเนื่องจากในช่วงแรกของการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องนั้น จะไม่มีกลูโคสเกิดขึ้นมาก แต่กลูโคสเป็นพลังงานที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตเอทานอล ดังนั้น เซลล์ที่แข็งแรงและเจริญเติบโตได้รวดเร็วในช่วงแรกของการหมักจะมีความได้เปรียบมากกว่า ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเลือกอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในกระบวนการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง ทั้งนี้การทำงานที่ดีของเซลลูเลสก็อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส เช่นกัน (สุภาภรณ์ โสภณพัฒนะโภคา, 2546) ในส่วนของการพิจารณาเอนไซม์สำหรับใช้การหมักนั้น ได้เลือกใช้เซลลูเลสที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 2 รูปแบบ ซึ่งให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสทั้ง 3 กลุ่มดี คือ เซลลูเลสที่มีเยื่อเซลลูโลสละเอียดจากหญ้าเนเปียร์ เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารสูตร Production และเซลลูเลสที่มีเยื่อเซลลูโลสละเอียดจากเลา เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารสูตรเดียวกัน ส่วนวัชพืชที่เลือกใช้เป็นแหล่งของเซลลูโลสสำหรับการหมักนั้น มีจำนวน 3 ชนิด คือ แขมธูปฤาษี และหญ้าเนเปียร์ เนื่องจากให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสทั้ง 3 กลุ่มดีเช่นเดียวกัน โดยพบว่าเมื่อใช้ธูปฤาษี เป็นแหล่งของเซลลูโลส และใช้เซลลูเลสที่มีเยื่อเซลลูโลสละเอียดจากเลา เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารสำหรับการผลิตเอนไซม์ จะให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด คือ 0.26 กรัมต่อลิตร และแม้ว่าจะใช้ธูปฤาษีเป็นแหล่งของเซลลูโลสแต่ใช้เซลลูเลสที่มีเยื่อเซลลูโลสละเอียดจากหญ้าเนเปียร์ เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารสำหรับการผลิตเอนไซม์ ก็ยังคงพบว่าให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดเช่นกัน คือ 0.20 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ ยังพบว่ามีปริมาณน้ำตาลที่เหลือในน้ำหมักและจำนวนกากที่เหลือหลังการหมักน้อยที่สุดด้วย คือ 0.071 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.55 กรัม ตามลำดับ ซึ่งหากแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลที่ได้ ปริมาณน้ำตาลที่เหลือในน้ำหมัก และจำนวนกากที่เหลือหลังการหมัก พบว่า ถ้ามีปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นสูงจะมีปริมาณน้ำตาลที่เหลือในน้ำหมักต่ำ และเมื่อคำนวณหาปริมาณกากที่เหลือหลังการหมักก็พบว่ามีปริมาณน้อยด้วยเช่นกัน

ปัจจุบัน การผลิตแอลกอฮอล์เชื้อเพลิงทางการค้า มักผลิตโดยใช้น้ำตาลซูโครสจากชานอ้อยและใช้แป้งจากข้าวโพดและธัญพืช นอกจากนี้ ยังใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ก้านใบยาสูบ (tobacco stalks) ซังข้าวโพด (corn stover) และ ฟางข้าว (wheat straw) รวมทั้ง พืชที่พบในป่าบางชนิดและไม้เนื้ออ่อน (Adrados, 2004) ซึ่งแทบจะยังไม่มีการรายงานถึงการใช้วัชพืช

ในประเทศไทยเพื่อการผลิตเอทานอล และจากผลการทดลองพบว่า ธูปฤาษี เป็นวัชพืชที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถให้ปริมาณเอทานอลสูง ซึ่งวัชพืชชนิดนี้ยังคงเป็นปัญหาในการควบคุมและกำจัด นอกจากนี้ยังควรต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่นในการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง เช่น ประสิทธิภาพของเอนไซม์ ยีสต์ที่ใช้เพื่อการหมักและสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก เช่น อากาศที่ได้รับซึ่งควรให้มีน้อยที่สุด เนื่องจากในสภาวะที่มีอากาศยีสต์จะเจริญได้ดีแต่ไม่สร้างแอลกอฮอล์ แต่ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ยีสต์จะเจริญได้ช้า และไพรูเวทที่ได้จากวิถีไกลโคไลซิสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และอุณหภูมิ เป็นต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย