

12 พ.ย. 2545



สำนักงานกองทุนสิ่งแวดล้อมเพื่อความยั่งยืน (ฝ่าย 5)
รับเมื่อวันที่ _____ เลขที่ _____
หมายเหตุ _____

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการพัฒนาคุณภาพแอลกอฮอล์
ของโครงการสวนพระองค์ สวนจิตรลดา

โดย นายธีรภัทร ศรีนรคุตร และคณะ < ผนวก 2 >.

ตุลาคม 2545

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการพัฒนาคุณภาพแอลกอฮอล์ของโครงการ
ส่วนพระองค์ สวณจิตรลดา

คณะผู้วิจัย		สังกัด
1. ดร.ธีรภัทร	ศรินรศุตร	ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ วท.
2. นายวิศิษฐ์พร	เผื่อนพิภพ	โครงการส่วนพระองค์ สวณจิตรลดา
3. นายประสิทธิ์	มาลัยเลิศ	ฝ่ายวิศวกรรม วท.
4. นางจุฬาร	สุวรรณันท์เจริญ	ฝ่ายเทคโนโลยีวัสดุ วท.
5. นางสาวเปรมสุดา	สมาน	ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ วท.
6. นางสาวอรเพ็ญ	หนูสุวรรณ	ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ วท.
7. นายไชยยันต์	เวียงแก้ว	ฝ่ายวิศวกรรม วท.
8. นางไพพรรณ	บุตกะ	ศูนย์จุลินทรีย์ วท.
9. นางจารุวรรณ	สิทธิพล	ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ วท.
10. นางสาวชนิษฐา	นิวาสะบุตร	ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ วท.
11. นายชุมพร	ถาวร	ฝ่ายบริการอุตสาหกรรมและที่ปรึกษา วท.
12. นายพรศ	วิจารณ์รัฐพันธ์	ฝ่ายเทคโนโลยีวัสดุ วท.
13. นางสาวประกายเพชร	พัฒน์ขจร	โครงการส่วนพระองค์ สวณจิตรลดา

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ชุดโครงการพัฒนาผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิตทั่วไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยโครงการพัฒนาคุณภาพแอลกอฮอล์ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ได้ให้เงินสนับสนุนการวิจัย, ดร.จรูญ คำวนณา (ผู้อำนวยการฝ่ายอุตสาหกรรม สกว.) และคณะ, ดร.วรุณี ถิรมงคล (ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ กรมวิทยาศาสตร์บริการ และผู้อำนวยการโครงการพัฒนาคุณภาพและผลิตภัณฑ์จากแอลกอฮอล์) และคณะ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ ทำให้โครงการประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี.

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการส่วนพระองค์ และคณะเจ้าหน้าที่ที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการดำเนินงานในโครงการนี้.

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) ที่อนุญาตให้คณะผู้วิจัยดำเนินโครงการนี้ และให้ใช้สถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัย.

ท้ายที่สุดคณะผู้วิจัยขอขอบคุณท่านที่ไม่มีชื่อร่วมในโครงการแต่ได้ให้ความช่วยเหลือและความร่วมมือเป็นอย่างดี ได้แก่ คุณสุรพงษ์ น้อยไพโรจน์ (อดีตที่ปรึกษาบริษัท สุราทิพย์ จำกัด ซึ่งได้ว่างกลับไปแล้ว), คุณอนันต์ พิมพินิจ, คุณบุญเดือน มงคลแดง, คุณจักรกฤษณ์ บุญแก้ว, คุณวรรณลักษณ์ อ่อนพลัด และอีกหลายท่านที่ได้กล่าวนามไว้ ณ ที่นี้.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ซ
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	2
1. บทนำ	4
1.1 ความเป็นมาของโครงการ	4
1.2 วัตถุประสงค์	6
1.3 ขอบเขตการศึกษา	6
1.4 พื้นที่การศึกษา	7
2. การศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ (fusel oils และ volatiles) ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล	8
2.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ จุลินทรีย์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	8
2.2 วิธีการทดลอง	10
2.3 ผลการทดลองและวิจารณ์	14
2.4 สรุปผลการทดลอง	87
2.5 ข้อเสนอแนะ	87
3. การกำจัด FUSEL OILS ในแอลกอฮอล์ 95% ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา โดยใช้วิธีทางเคมี	88
3.1 วิธีการทดลอง	88
3.2 ผลการทดลอง	93
3.3 สรุปผลการทดลอง	99
4. การศึกษาการกำจัดสารเจือปนต่างๆ ในน้ำหมักสาโดยวิธีการกลั่น	100
4.1 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	100
4.2 ผลการทดลองและวิจารณ์	113
4.3 สรุปผลการทดลอง ปัญหา อุปสรรค	114
บรรณานุกรม	115

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก 1 DEHYDRATION OF ETHANOL BY MOLECULAR SIEVE BEDS	116
ภาคผนวก 2 ผลิตภัณฑ์ดูดซับน้ำมันและสารเคมี	118
ภาคผนวก 3 รายการและราคาอุปกรณ์ และเครื่องมือวัดสำหรับการปรับปรุงหอกลิ้น	119
ภาคผนวก 4 ข้อมูลการกลั่นแอลกอฮอล์	120
ภาคผนวก 5 รายการคำนวณการออกแบบหอกลิ้น	126

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. คุณสมบัติทางกายภาพของ fusel oil	5
ตารางที่ 2. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 15% โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง	16
ตารางที่ 3. ปริมาณสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 15% Brix	17
ตารางที่ 4. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 20% โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง	24
ตารางที่ 5. ปริมาณสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix	25
ตารางที่ 6. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 25% โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง	33
ตารางที่ 7. ปริมาณสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 25% Brix	34
ตารางที่ 8. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 20% Brix ที่ (NH ₄) ₂ SO ₄ ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5092 ที่อุณหภูมิห้อง	45
ตารางที่ 9. ปริมาณสารเจือปนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5092 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ที่มี (NH ₄) ₂ SO ₄ ความเข้มข้นต่างๆ กัน	47

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 10.	ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 20% Brix ที่ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ความเข้มข้น ต่างๆ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้อง	48
ตารางที่ 11.	ปริมาณสารเจือปนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ที่มี $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ความเข้มข้นต่างๆ กัน	49
ตารางที่ 12.	ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 20% Brix มี pH เริ่มต้น ต่างๆ กันโดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5092 ที่อุณหภูมิห้อง	68
ตารางที่ 13.	ปริมาณสารเจือปนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5092 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix มี pH เริ่มต้น ต่างๆ กัน	69
ตารางที่ 14.	ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 20% Brix มี pH เริ่มต้น ต่างๆ กันโดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้อง	70
ตารางที่ 15.	ปริมาณสารเจือปนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix มี pH เริ่มต้นต่างๆ กัน	71
ตารางที่ 16.	ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีหวาน 20% Brix โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน	73
ตารางที่ 17.	ปริมาณสารเจือปนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ทำการหมัก ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน	74
ตารางที่ 18.	ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลโดย <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 (SC90) ณ โรงงานแอลกอฮอล์ส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา	75
ตารางที่ 19.	ปริมาณสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลโดย <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 (SC90) ณ โรงงานแอลกอฮอล์ส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา	76
ตารางที่ 20.	แสดงปริมาณ fusel oils ในแอลกอฮอล์ที่ลดลงหลังผ่านคาร์บอนชนิดเกร็ด	93

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 21. ปริมาณ fusel oils ที่มีอยู่และปริมาณที่ลดลงในแอลกอฮอล์ที่ผ่านคาร์บอนชนิดเกร็ด	94
ตารางที่ 22. แสดงปริมาณ fusel oils ในแอลกอฮอล์ที่ลดลงหลังผ่านคาร์บอนชนิดผง	95
ตารางที่ 23. แสดงปริมาณของ fusel oils ในแอลกอฮอล์ที่ลดลงหลังผ่านคาร์บอน 5%	95
ตารางที่ 24. แสดงผลการใช้แผ่นดูดซับ ในการกำจัด fusel oils จากแอลกอฮอล์ 95% v/v ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา	96
ตารางที่ 25. ปริมาณ fusel oils ที่มีอยู่และปริมาณที่ลดลงในแอลกอฮอล์ที่ผ่านซิลิกา เจล	97
ตารางที่ 26. ปริมาณ fusel oils ที่มีอยู่และปริมาณที่ลดลงในแอลกอฮอล์ที่ผ่าน zeolite	98
ตารางที่ 27. ตารางเปรียบเทียบปริมาณ fusel oils ในแอลกอฮอล์ 99.5% (v/v) ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ที่ลดลงเมื่อใช้วิธีการทางเคมีที่แตกต่างกัน	98
ตารางที่ 28. การทดลองผลิตแอลกอฮอล์ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา	104
ตารางที่ 29. ผลวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และสารปนเปื้อน (fusel oil) จากการกลั่นครั้งที่ 1	104
ตารางที่ 30. ผลวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และสารปนเปื้อน (fusel oil) จากการกลั่นครั้งที่ 2	104
ตารางที่ 31. ผลวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และสารปนเปื้อน (fusel oil) จากการกลั่นครั้งที่ 3	104
ตารางที่ 32. ผลวิเคราะห์น้ำกาสที่ออกจากกันหอกลั่นจากการกลั่นแอลกอฮอล์ครั้งที่ 1	105
ตารางที่ 33. แสดงจุดเดือดของ fusel oil	111

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5013	18
รูปที่ 2. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5013	18
รูปที่ 3. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5092	19
รูปที่ 4. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5092	19
รูปที่ 5. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5596	20
รูปที่ 6. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5596	20
รูปที่ 7. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5606	21
รูปที่ 8. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5606	21
รูปที่ 9. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์	26
รูปที่ 10. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์	26

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 11. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5013	27
รูปที่ 12. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5013	27
รูปที่ 13. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5092	28
รูปที่ 14. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5092	28
รูปที่ 15. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5596	29
รูปที่ 16. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5596	29
รูปที่ 17. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5606	30
รูปที่ 18. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5606	30
รูปที่ 19. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์	31
รูปที่ 20. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวม ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์	31
รูปที่ 21. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5013	36

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 22. ปริมาณสารเจือปนต่างๆที่เกิดขึ้นในการแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5013	36
รูปที่ 23. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5092	37
รูปที่ 24. ปริมาณสารเจือปนต่างๆที่เกิดขึ้นในการแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5092	37
รูปที่ 25. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5596	38
รูปที่ 26. ปริมาณสารเจือปนต่างๆที่เกิดขึ้นในการแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5596 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง	38
รูปที่ 27. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5606	39
รูปที่ 28. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง	39
รูปที่ 29. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์	40
รูปที่ 30. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวม ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก แอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์	40
รูปที่ 31. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix (NH ₄) ₂ SO ₄ 0% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	41

สารบัญรูป (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 32.	ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	41
รูปที่ 33.	การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	42
รูปที่ 34.	ปริมาณสารเจือปนต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	42
รูปที่ 35.	การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.05% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	43
รูปที่ 36.	ปริมาณสารเจือปนต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.05% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	43
รูปที่ 37.	การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	44
รูปที่ 38.	ปริมาณสารเจือปนต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	44
รูปที่ 39.	การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ % $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	50
รูปที่ 40.	การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ % $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	50
รูปที่ 41.	การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	51

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 42. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	51
รูปที่ 43. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	52
รูปที่ 44. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	52
รูปที่ 45. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.05% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	53
รูปที่ 46. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.05% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	53
รูปที่ 47. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	54
รูปที่ 48. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	54
รูปที่ 49. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix % $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	55
รูปที่ 50. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวมที่เกิดขึ้น ระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix % $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	55
รูปที่ 51. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 4.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	58

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 52. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 4.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	58
รูปที่ 53. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 5.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	59
รูปที่ 54. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 5.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	59
รูปที่ 55. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 6.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	60
รูปที่ 56. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 6.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	60
รูปที่ 57. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 7.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	61
รูปที่ 58. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 7.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	61
รูปที่ 59. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ pH ต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5092	62
รูปที่ 60. กราฟเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวม ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ pH โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> TISTR 5092	62
รูปที่ 61. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 4.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	63

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 62. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 4.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	63
รูปที่ 63. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 5.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	64
รูปที่ 64. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 5.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	64
รูปที่ 65. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 6.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	65
รูปที่ 66. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 6.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	65
รูปที่ 67. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 7.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	66
รูปที่ 68. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 7.5 โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	66
รูปที่ 69. กราฟเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นระหว่าง การหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ pH ต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	67
รูปที่ 70. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวม ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ pH ต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	67
รูปที่ 71. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิห้อง	77

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 72. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิห้อง	77
รูปที่ 73. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20%Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 25°ซ.	78
รูปที่ 74. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 25°ซ.	78
รูปที่ 75. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20%Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 30°ซ.	79
รูปที่ 76. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 30°ซ.	79
รูปที่ 77. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20%Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 35°ซ.	80
รูปที่ 78. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 35°ซ.	80
รูปที่ 79. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20%Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 40°ซ.	81
รูปที่ 80. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606 หมักที่อุณหภูมิ 40°ซ.	81
รูปที่ 81. กราฟเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	82

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 82. กราฟเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวมทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก แอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5606	82
รูปที่ 83. การหมักแอลกอฮอล์ในพลาสติกขนาด 5 ลิตร ในห้องปฏิบัติการ	83
รูปที่ 84. กล้องจุลทรรศน์ (Olympus Cx40) ที่ใช้ในการนับจำนวนเซลล์	83
รูปที่ 85. เครื่องเซนตริฟิวจ์ (Sorvall RC-58X, Dupont) ใช้ในการแยกเซลล์	84
รูปที่ 86. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectromic 3000, Miltonroy)	84
รูปที่ 87. ชุดกลั่นแอลกอฮอล์	85
รูปที่ 88. ขวดสำหรับบรรจุตัวอย่างหมักเพื่ออบตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ด้วย GC	85
รูปที่ 89. ตู้อบ (incubator) สำหรับอบตัวอย่าง Model 600 ของ Memmert	86
รูปที่ 90. เครื่อง gas chromatography (5890 series II, Hewlett Packard)	86
รูปที่ 91. การใช้คาร์บอนชนิดเกร็ด	89
รูปที่ 92. การใช้คาร์บอนชนิดผง	90
รูปที่ 93. การกรองผงคาร์บอนโดยใช้กระดาษกรอง	90
รูปที่ 94. การกรองโดยใช้แผ่นดูดซับ	91
รูปที่ 95. ตัวอย่างแผ่นดูดซับชนิด PC และ PP	90
รูปที่ 96. การใช้สาร silica gel	92
รูปที่ 97. หอกกลั่นแอลกอฮอล์โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ก่อนดำเนินการปรับปรุง	102
รูปที่ 98. ชนิดของชั้นแบบรังผึ้งในหอกกลั่นที่ 1	103
รูปที่ 99. ชนิดของชั้นแบบถ้วย (bubble cap) ในหอกกลั่นที่ 2	103
รูปที่ 100. การปรับปรุงหอกกลั่นด้วยการติดตั้งอุปกรณ์เครื่องมือวัดการทำระบบท่อใหม่	107
รูปที่ 101. การเชื่อมประกอบท่อสเตนเลสในส่วนที่ปรับปรุงใหม่ของหอกกลั่นโครงการ ส่วนพระองค์	108
รูปที่ 102. การติดตั้งส่วนประกอบต่างๆ ของหอกกลั่นที่ดำเนินการปรับปรุงแล้ว โดยเจ้าหน้าที่ วท.	108

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 103. การติดตั้งวาล์วนิรภัย (safety valve) ด้านบนสุดของหอกลิ้น	109
รูปที่ 104. การออกแบบระบบกำจัด fusel oil โดยคุณสุรพงษ์ น้อยไพโรจน์	110
รูปที่ 105. การปรับปรุงระบบท่อและระบบ fusel oils	112

IMPROVEMENT OF ALCOHOL PRODUCT IN ROYAL JITRALADA PROJECT

Teerapatr Srinorakutara, Wisitporn Puenpipob, Chulaporn Kuwaranunchareon,
Jaruwan Sittipon, Khanitta Niwasabut, Premasuda Saman,
Chaiyan Wiengkaew, Prasit Malailert, Orapen Nhusuwan, Paipan Butka,
Chumporn Thavorn, Parot Wijanrattakhan and
Praguypet Pattanakhajon

ABSTRACT

The effective factors of ethanol production process from molasses had been investigated by comparing 10 microorganism strains (consisting of 8 strains of *Saccharomyces cerevisiae* and 2 strains of *Zymomonas* sp.), molasses concentration, supplemented nutrient, pH and temperature ranges. To control fermented broth at a high ethanol concentration and small amount of fusel oils, these factors were therefore optimized. Experimental result showed that the best ethanol producing strain was *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 (SC 90) and optimum conditions for fermentation were 20% Brix of molasses concentration, 0.03% (v/v) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 30°C, and pH 4.5 with a maximum yield at 8% v/v of ethanol concentration and 1474 ppm of fusel oils at 36th hour of fermentation.

Using chemical method to separate fusel oils from 95% v/v of ethanol, 4 types of absorbent consisting of carbon powder, absorbent paper, silica gel and zeolite were used for comparison. It was found that the best absorbent in this study was silica gel. It could absorb impurities and reduce the amounts of methanol, 1-propanol, iso-butanol and iso-amyl alcohol up to 61.9%, 89.6%, 90.5% and 94.1% respectively.

To get rid of impurities from fermented broth in distillation step, the distillation tower of Jitralada Royal Project was improved by installing some equipment, piping and reflux systems. Connecting of new piping and refuse system with test-run were not completed due to lack of time to stop column operation for modification. These tasks will be completed later on. To reduce alcohol of Jitralada Royal Project, 3,000 litres of 95% v/v alcohol was transferred to TISTR for dehydration to 99.5% v/v and returned to Jitralada Royal Project without any charge. Besides, the researcher group presented a blue print of distillation tower to Her Royal Highness Princess Maha Jakri Sirindhorn since 16 May, 2001.

โครงการพัฒนาคุณภาพแอลกอฮอล์ ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา

ธีรภัทร ศรีนรบุตร¹, วิศิษฐ์พร เผื่อนพิภพ², จุฬพพร กุวานันท์เจริญ³, จารุวรรณ ลิทธิพล⁴,
พนัญญา นิวาสะบุตร⁵, เปรมสุดา สมาน⁶, ไชยยันต์ เวียงแก้ว⁷, ประสิทธิ์ มาลัยเลิศ⁸,
อรเพ็ญ หนูสุวรรณ⁹, ไพพรรณ นุดกะ⁶, ชุมพร ถาวร⁷, พรศ วิจารย์รัฐจันทร์⁴
และ ประกายเพชร พัฒนขจร²

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะของปัจจัยต่างๆ ในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ โดยเปรียบเทียบสายพันธุ์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 8 สายพันธุ์ และแบคทีเรีย *Zymomonas* sp. 2 สายพันธุ์ ความเข้มข้นของกากน้ำตาล, อาหารเสริม, pH และอุณหภูมิ ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมักแอลกอฮอล์และการเกิดสารเจือปนต่างๆ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต. พบว่าสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตแอลกอฮอล์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 (SC90) โดยมีสภาวะในการหมักที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของกากน้ำตาลในอาหาร 20% Brix, อาหารเสริม (NH₄)₂ SO₄ 0.03% (v/v) ค่าความเป็นกรด – ด่าง ไม่ต้องปรับ pH (ประมาณ 4.5), อุณหภูมิ 30°C. โดยจะผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงสุด 8% v/v ในชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก และเกิดสารเจือปนต่างๆ 1474.07 ppm.

ส่วนการศึกษากการใช้วิธีทางเคมีในการกำจัด fusel oils (ส่วนที่เพิ่มไม่ได้เสนอในข้อเสนอโครงการ) โดยใช้ผงคาร์บอน, แผ่นดูดซับ ซิลิกา เจล (silica gel) และ ซีโอไลต์ (zeolite). พบว่าการใช้ silica gel สามารถลดปริมาณ fusel oils ได้มากที่สุดโดยมีปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่ลดลงดังนี้ methanol 61.90%, 1-propanol 89.64%, iso-butanol 90.52% และ iso-amyl alcohol 94.12%.

¹ ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.)

² โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

³ ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร, วท.

⁴ ฝ่ายเทคโนโลยีวัสดุ, วท.

⁵ หปคมีวิเคราะห, ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา, วท.

⁶ ศูนย์กลิ่นทรีย์, วท.

⁷ ฝ่ายบริการอุตสาหกรรมและที่ปรึกษา, วท.

ในส่วนของการกำจัดการเจือปนต่างๆ ในขั้นตอนการกลั่น คณะผู้วิจัยได้ทำการปรับปรุง หอกกลั่นโดยติดตั้งอุปกรณ์ต่างๆ และทำระบบท่อ/ระบบรีฟลักซ์เกือบสมบูรณ์แล้ว แต่ไม่สามารถ ติดตั้งระบบท่อซึ่งต้องเชื่อมติดกับตัวหอกกลั่น รวมถึงการทดลองกลั่นได้ เนื่องจากยังไม่สามารถจัด เวลาหยุดเดินเครื่องเพื่อเชื่อมต่อระบบท่อใหม่ได้ ซึ่งจะ ได้จัดทำพร้อมทั้งทดสอบการเดินเครื่องและ ปรับปรุงอีกเล็กน้อยต่อไป. คณะผู้วิจัยได้ทำการขนย้ายแอลกอฮอล์ 95% v/v จำนวน 3,000 ลิตร จากโครงการส่วนพระองค์ไปกลั่นเป็นแอลกอฮอล์ 99.5% v/v ที่โรงงานต้นแบบของ วท. และส่ง คืนให้โดยไม่คิดค่าใช้จ่าย. นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้ ทูลเกล้าถวายแบบพิมพ์เขียวของหอกกลั่น (แบบ หอกกลั่นเดิมซึ่งผู้ออกแบบเดิมไม่ได้เขียนไว้ แบบที่ปรับปรุงระบบท่อ/ระบบรีฟลักซ์ และแบบระบบ กำจัด fusel oils ในหอกกลั่นพร้อมสำหรับให้โครงการส่วนพระองค์นำไปดำเนินการได้ทันที แต่ใน โครงการนี้มีข้อจำกัดด้านงบประมาณจึงไม่สามารถดำเนินการได้) แต่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เมื่อวันที่ 16 พฤษภาคม 2544.

1. บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการ

เนื่องด้วยแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้จากโรงงานแอลกอฮอล์ โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ในปัจจุบัน หลังจากได้ถูกนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิง “Gasohol” ในรถยนต์ และผลิตเป็นแอลกอฮอล์ แข็งส่งออกจำหน่ายแล้ว ยังมีส่วนที่เหลืออยู่อีกเป็นจำนวนมาก ซึ่งส่งผลไปยังแผนการผลิต ไม่สามารถดำเนินการได้อย่างต่อเนื่อง เนื่องจากมีสถานที่สำหรับเก็บไม่เพียงพอ, รวมทั้งเมื่อเก็บไว้นานจะทำให้ความเข้มข้นหรือเปอร์เซ็นต์ของแอลกอฮอล์เปลี่ยนไป. ปัญหาต่างๆ เหล่านี้จะหมดไปหากสามารถนำไปจำหน่ายโดยส่งออกขายให้กับหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน หรือนำไปใช้ในการจัดทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ ซึ่งนอกจากช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวแล้วยังส่งผลดี เนื่องจากก่อให้เกิดรายได้ขึ้นมาสามารถนำไปใช้จ่ายในงานวิจัยในอนาคตต่อไป.

อย่างไรก็ตาม คุณภาพของแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้จากโรงงานแอลกอฮอล์โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา หากจะพิจารณานำไปใช้ผลิตเครื่องสำอาง ก็อาจถือเป็นทางเลือกทางหนึ่ง เนื่องจากเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับทางด้านคุณภาพกับ specification ของ denatured alcohol ที่นำเข้าจากบริษัท Hayman จำกัด ประเทศอังกฤษ โดย บริษัท โอเอสสกา จำกัด แล้วนั้น แอลกอฮอล์ที่ผลิตได้จากทางโรงงานแอลกอฮอล์ โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ยังจำเป็นต้องทำการปรับปรุงคุณภาพให้ดีขึ้นอีก, โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่ก่อให้เกิดกลิ่นที่มีอยู่ในส่วนผสมของแอลกอฮอล์ เช่น fusel oil และ ester หรือ สาร volatiles อื่นๆ เป็นต้น.

Fusel alcohols หรือ higher alcohols หรือ fusel oils เป็นแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 ตัว มีจุดเดือดและน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าเอทานอล, เป็นกลุ่มที่สำคัญของแอลกอฮอล์ซึ่งมีผลต่อการเกิดกลิ่นและมีความเข้มข้นที่แตกต่างกันในไวน์ (2-phenethyl alcohol โดยทั่วไปจะไม่ถูกจัดเป็น fusel oils เนื่องจากความเข้มข้นที่ต่ำและกลิ่นที่คล้ายกลิ่นกุหลาบ). คุณสมบัติของ fusel oils แสดงในตารางที่ 1, fusel oils ถูกผลิตจากยีสต์ในกระบวนการหมักด้วยปฏิกิริยา decarboxylation และ reduction ของ precursor α -oxycarboxylic acid ตัวอย่างเช่น iso-butanol เกิดมาจาก α -ketoisovaleric acid โดยผ่าน iso-butylaldehyde (α -oxycarboxylic acids เป็นส่วนของ anabolic pathway ของการรวมตัวกันของ amino acids ในกรณีนี้ α -ketoisovaleric acid ถูก transaminated ไปยัง valine).

Isovaleraldehyde และ isobutylaldehyde เป็นสาร intermediate ของการสังเคราะห์ isoamyl alcohol และ isobutanol ตามลำดับ.

Fusel oils มีองค์ประกอบที่สำคัญคือ isoamyl (3-methyl-1-butanol), “active amyl” (2-methyl-1-butanol), isobutyl (2-methyl-1-propanol), และ n-propyl alcohols โดยมี isoamyl alcohol เป็นองค์ประกอบอยู่มากกว่า 50%. แม้ว่า fusel oils ประกอบด้วยสารหลายๆ ตัวแต่ปริมาณความเข้มข้นในไวน์จะต่ำมาก, อย่างไรก็ตาม ถ้าส่วนความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านกระบวนการกลั่นซึ่งจะไปมีผลต่อการผลิตบรันดี (Weinheim : VCH 1996).

Higher alcohols อาจเกิดขึ้นได้จาก corresponding amino acids โดยใช้ enzymatic pathways เดียวกัน ตัวอย่างเช่น isobutanol เกิดจาก valine โดยปฏิกิริยา Ehrlich.

ตารางที่ 1. คุณสมบัติทางกายภาพของ fusel oil*

สูตรทางเคมี	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$
น้ำหนักโมเลกุล	88.15
จุดเดือดที่ 101.13 kPa	133.2°C.
จุดเยือกแข็ง	-90°C.
ความถ่วงจำเพาะ (20/20°C.)	0.8155
ความหนืดที่ 20°C.	4.3 cP
ความดันไอที่ 20°C.	0.27 kPa
จุดวาบไฟ	45°C.

- * ที่มา : 1. Union Carbide Chemicals and Plastics Corp., 1984. *UCAR Alcohols for Coatings Applications, Brochure F-48588*. Solvents and Coatings Materials Division, Danbury, Conn., Sept.
2. Union Carbide Chemicals and Plastics Corp. 1957. *Tables of Azeotropic Data*, unpublished.

สำหรับแนวทางการดำเนินงานในส่วนนี้ของโครงการจะเป็นการปรับปรุงคุณภาพของแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา โดยจะทำการควบคุมกระบวนการหมักให้ปริมาณของสารประกอบที่ก่อให้เกิดกลิ่นมีปริมาณที่เหมาะสมหรือน้อยที่สุดที่จะยอมรับได้ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์หลัก (main product) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์เหมาะสมที่จะนำไปใช้ทางด้านการค้า โดยการทดลองจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน :

ขั้นตอนแรก “การป้องกัน” โดยจะหาทางควบคุมปริมาณการเกิดของ fusel oils และ volatiles อื่นๆ ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักให้น้อยที่สุด โดยจะพิจารณาศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อปริมาณ fusel oils และ volatiles อื่นๆ ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก (Zoecklein *et al.* 1995) ได้แก่ :

- สายพันธุ์ของยีสต์ (yeast strains).
- ส่วนประกอบและความเข้มข้นของสารอาหาร (medium composition).
- ปริมาณอาหารเสริม.
- pH.
- ปริมาณหัวเชื้อและความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น.
- อุณหภูมิ.

ขั้นตอนที่สอง “การกำจัด” สาร fusel oils และ volatiles อื่นๆ ที่มีอยู่ในน้ำสาจะถูกกำจัดออก โดยการควบคุมอุณหภูมิและความดันในหอกลั่น โดยเริ่มต้นจะทดลองใช้หอกลั่นของโรงงานต้นแบบผลิตแอลกอฮอล์ของ วท. ในการกำจัด fusel oils (เคยทดลองใช้มาแล้วในอดีตซึ่งเป็น “know-how” จากประเทศญี่ปุ่น), หลังจากนั้นจะทำการดัดแปลงเพื่อปรับปรุงหอกลั่นของโรงงานแอลกอฮอล์ โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ทำการทดลองใช้กำจัด fusel oils และ volatiles อื่นๆ ต่อไป.

วท. ได้จัดทำข้อเสนอโครงการและได้รับงบประมาณสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โดยมีระยะเวลาดำเนินงาน 24 เดือน.

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ให้มีคุณภาพดีเทียบเท่ากับ denatured alcohol เหมาะแก่การจำหน่ายเป็นเชื้อเพลิงและนำไปผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ.

1.3 ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ (fusel oils และ volatiles) ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล.
2. การศึกษาการกำจัดสารเจือปนต่างๆ ที่อยู่ในน้ำสาโดยวิธีการกลั่น.
3. ศึกษาทดลองวิธีการกำจัดสารเจือปนที่อยู่ในแอลกอฮอล์ 95%.

4. ศึกษาทดลองการหมักและกั่นในโรงงานผลิตแอลกอฮอล์โครงการส่วนพระองค์
สวนจิตรลดา.

5. ศึกษาออกแบบปรับปรุงหอกลั่นของโรงงานแอลกอฮอล์โครงการส่วนพระองค์
สวนจิตรลดา.

1.4 พื้นที่ศึกษา

1.4.1 ห้องปฏิบัติการ และโรงงานต้นแบบผลิตแอลกอฮอล์ของ วท.

1.4.2 โรงงานผลิตแอลกอฮอล์โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา.

2. การศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ (fusel oils และ volatiles)

ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

การพัฒนาคุณภาพแอลกอฮอล์ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา เพื่อให้มีคุณภาพดี เทียบเท่าหรือใกล้เคียงกับ denatured alcohol ที่นำเข้าจากต่างประเทศสำหรับใช้ผลิตเครื่องสำอาง และเครื่องอุปโภคอื่นๆ นั้น การศึกษาจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน :

ส่วนแรก เป็นการศึกษาปัจจัยต่างๆ เพื่อจะหาสภาวะที่เหมาะสมและนำไปใช้ในการควบคุมในกระบวนการผลิตต่อไป, โดยในบทนี้จะกล่าวถึงรายละเอียดของการศึกษาทดลองปัจจัย ทั้ง 5 ปัจจัยตามหัวข้อข้างล่าง ประกอบด้วย วัสดุ, อุปกรณ์, สารเคมี และเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง วิธีการทดลอง, ผลการทดลอง วิเคราะห์และสรุปผล รวมทั้งข้อเสนอแนะ.

ส่วนที่สอง เป็นการศึกษาการกำจัดสารเจือปนต่างๆ ที่อยู่ในน้ำสาโดยวิธีการกลั่น ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดในบทต่อไป.

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ ในระบบการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่จะศึกษาในครั้งนี้ 5 ปัจจัย ประกอบด้วย :

1. การศึกษาผลของสายพันธุ์ยีสต์ที่มีต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ.
2. การศึกษาผลของความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่มีต่อสารเจือปนต่างๆ.
3. การศึกษาผลของอาหารเสริมที่มีต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ.
4. การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ.
5. การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ.

2.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ จุลินทรีย์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 (SC90) สายพันธุ์ที่ใช้ในโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา.

2. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5596 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).

3. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).
4. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).
5. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).
6. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).
7. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5729 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).
8. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5728 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).
9. *Zymomonas mobilis* 405 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).
10. *Zymomonas* sp. 548 (ศูนย์จุลินทรีย์ วท.).

2.1.2 สารเคมี

1. กากน้ำตาล (สวนจิตรลดา).
2. น้ำตาลปี๊ป (สวนจิตรลดา).
3. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Fluka – Garautie).
4. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck).
5. KH_2PO_4 (Merck).
6. Alkaline copper reagent (Merck).
7. Nelson reagent (Merck).
8. สารละลายเอทานอล 99.7% (Polyscience).
9. Acetaldehyde (Polyscience).
10. Acetone (Polyscience).
11. 1- Propanol (Polyscience).
12. Iso – Butanol (Polyscience).
13. 2 – Pentanol (Polyscience).
14. 1 – Butanol (Polyscience).
15. Iso – Amyl alcohol (Polyscience).
16. 1 – Pentanol (Polyscience).

2.1.3 เครื่องมือ อุปกรณ์

1. Gas chromatography (5890 series).
2. Spectrophotometer (Spectronic 3000 , Miltonroy).
3. เครื่องนับเซลล์ยีสต์ (Haemacytometer).

4. เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter model 500 , Eutech instruments).
5. ชุดกลั่นแอลกอฮอล์ (Regnault pycnometer).
6. Alcohol meter.
7. เครื่องวัดปริมาณน้ำตาล (hand refractometer).
8. เครื่องแก้ว.

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

โดยทำการศึกษาเชื้อทั้งหมด 10 สายพันธุ์ ดังนี้ :

1. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 (SC90) สายพันธุ์ที่ใช้ในโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา.
2. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5596.
3. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013.
4. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.
5. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339.
6. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049.
7. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5729.
8. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5728.
9. *Zymomonas mobilis* 405.
10. *Zymomonas* sp. 548.

ทำการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Saccharomyces* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM medium ที่ 30°C. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง, ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Zymomonas* sp. 2 สายพันธุ์ เลี้ยงในอาหาร nutrient broth ในสภาวะไร้อากาศที่ 30°C. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง, หลังจากนั้นนำเชื้อทั้ง 10 สายพันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง molasses agar โดยเลี้ยงที่ 30°C. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตคุณลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น พร้อมทั้งคุณลักษณะรูปร่างเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์.

2.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแอลกอฮอล์

จากการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ในข้อ 2.1 สรุปได้ว่า สายพันธุ์ที่เหมาะสมจะทำการศึกษาคอมี 4 สายพันธุ์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 , 5092, 5596 และ 5606 (SC90).

2.2.2.1 การเตรียมเชื้อ (starter)

นำเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ TISTR 5013, 5092, 5596 และ 5606 ไปเลี้ยงในหลอดอาหารวุ้นเอียง (slant agar) ที่อุณหภูมิ 30°C. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง. หลังจากนั้นนำเชื้อยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักแอลกอฮอล์ โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 30°C. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.

2.2.2.2 การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 15, 20 และ 25% Brix

เตรียมอาหารที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ โดยมีส่วนประกอบของกากน้ำตาลที่มีความหวาน 15, 20 และ 25% Brix ปริมาณ 3 ลิตร ในพลาสติกขนาด 5 ลิตร, นำไปฆ่าเชื้อในเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C., 15 psi เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น, จากนั้นถ่ายเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ลงในอาหารเหลวทั้งสามความเข้มข้นโดยใช้ปริมาณหัวเชื้อ 3.5% โดยปริมาตร. เพาะเลี้ยงยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่อุณหภูมิห้องในสภาวะไร้อากาศ เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง, นำมาวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), ปริมาณเซลล์ยีสต์, ปริมาณน้ำตาล โดยใช้วิธีของ Somagi (1952) – Nelson (1944), ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ Regnault pycnometer (AOAC 1975; 1995) และ alcohol – meter และสารเจือปนต่างๆ (impurities) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักโดยตรวจสอบด้วยเครื่อง gas chromatography.

2.2.3 การศึกษาผลของปัจจัยด้านอาหารเสริมที่มีผลต่อการเกิด fusel oils

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของกากน้ำตาลและสายพันธุ์ยีสต์ในหัวข้อ 2.1 และ 2.2 พบว่าที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่ 20% Brix เมื่อนำมาหมักกับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092 และ TISTR 5606 (SC90) มีความเหมาะสมกว่าสภาวะเปรียบเทียบกับอื่นจึงถูกเลือกมาใช้ในการศึกษาผลของปัจจัยอื่นต่อไป.

2.2.3.1 การเตรียมหัวเชื้อ (starter)

นำเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ TISTR 5092, TISTR 5606 ไปเลี้ยงในหลอดวุ้นเอียง (slant agar) ที่อุณหภูมิ 30°C. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง. หลังจากนั้นนำเชื้อยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักแอลกอฮอล์ โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 30°C. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.

2.2.3.2 การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix โดยใช้อาหารเสริม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่มีความเข้มข้น 0%, 0.03%, 0.05% และ 0.1% w/v

เตรียมอาหารที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ โดยมีส่วนประกอบของกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ซึ่งไม่ต้องปรับ pH, โดยที่ pH เริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.5 – 4.8 ปริมาตร medium 3,000 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 5 ลิตร จำนวน 8 พลาสติก โดยเติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่ความเข้มข้น 0%, 0.03%, 0.05% และ 0.1% w/v ตามลำดับ. นำไปฆ่าเชื้อในเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C , 15 psi เป็นเวลา 15 นาที, ทิ้งให้เย็น จากนั้นถ่ายเชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์ลงในอาหารเหลวแต่ละความเข้มข้นของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อ 10% โดยปริมาตร. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิห้องในสภาวะไร้อากาศ, เก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด – ค่าง (pH), ปริมาณเซลล์ยีสต์, ปริมาณน้ำตาลโดยใช้วิธีของ Somogi (1952) – Nelson (1944), ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ alcohol meter และปริมาณสารเจือปนต่างๆ (impurities) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักโดยตรวจสอบด้วยเครื่อง gas chromatography.

2.2.4 การศึกษาผลของ pH ที่มีผลต่อการเกิด fusel oils ทำการศึกษาที่ค่า pH ต่างๆ 4 ค่า ได้แก่ pH 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5

เตรียมอาหารที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ โดยมีส่วนประกอบของกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix, เติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ปริมาณ 0.03% w/v (สภาวะเหมาะสมได้จากการศึกษาข้อ 2.3) ปริมาตร medium 3,000 มิลลิลิตร ในพลาสติก ขนาด 5 ลิตร จำนวน 4 พลาสติก ที่มีค่า pH ต่างกัน 4 ค่า ได้แก่ pH 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ. นำไปฆ่าเชื้อในเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C , 15 psi เป็นเวลา 15 นาที, ทิ้งให้เย็น จากนั้นถ่ายเชื้อยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ลงในอาหารเหลวแต่ละค่า pH โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อ 10% โดยปริมาตร. ทำการเพาะเลี้ยงยีสต์ที่อุณหภูมิห้องในสภาวะไร้อากาศ เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ค่าต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 2.3.2.

2.2.5 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเกิด fusel oils โดยศึกษาที่ค่าอุณหภูมิต่างๆ 4 ค่า ได้แก่ 25°C , 30°C , 35°C . และ 40°C .

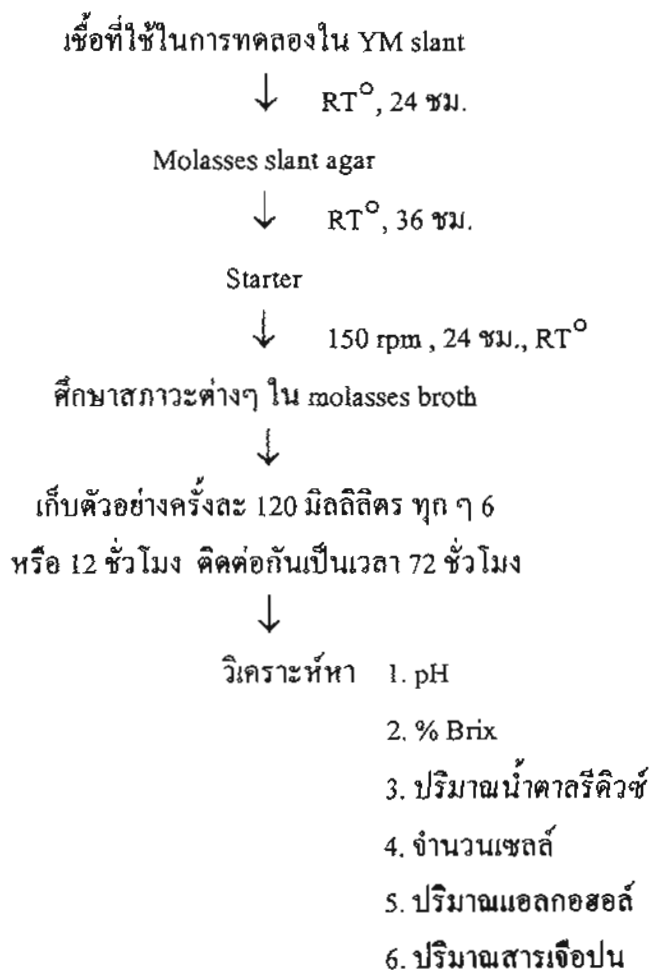
เตรียมอาหารที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ โดยมีส่วนประกอบของกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix, เติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ปริมาณ 0.03% w/v โดยไม่มีการปรับ pH ซึ่ง pH เริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.5–4.8 ปริมาตร medium 3,000 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 5 ลิตร จำนวน 5 พลาสติก และควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ค่าต่างๆ คือ 25°C , 30°C , 35°C . และ 40°C . และอุณหภูมิห้อง ตามลำดับ. นำไปฆ่าเชื้อในเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C , 15 psi เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นถ่ายเชื้อยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5606 ลงในอาหารเหลวแต่ละอุณหภูมิโดยใช้ปริมาณหัวเชื้อ 10%

โดยปริมาตร, เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องในสภาวะไร้อากาศ เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์
หาค่าต่างๆ เช่นเดียวกับ ข้อ 2.3.2.

2.2.6 การหมักและกลั่นในโรงแอลกอฮอล์โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา

เพื่อเก็บข้อมูลในระหว่างการหมัก โดยใช้สภาวะการหมักที่ใช้ในปัจจุบันของ
โรงงานแอลกอฮอล์โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา สำหรับเป็นข้อมูลเปรียบเทียบกับหลังมีการ
ใช้สภาวะใหม่ที่เหมาะสมจากการทดลองในห้องปฏิบัติการแล้ว และปรับปรุงหากลั่นแล้ว.

2.1.6.1 ทำการหมักแอลกอฮอล์ด้วยสภาวะเดิมโดยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*
TISTR 5606 (SC90) เพื่อทำการเก็บข้อมูลระหว่างการหมักโดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง
เพื่อวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อ, pH, ปริมาณน้ำตาล, ปริมาณแอลกอฮอล์และสารเจือปนต่างๆ โดยมี
รายละเอียดของการหมัก ดังนี้ :



หมายเหตุ : ทำการทดลอง 2 จำเป็นอย่างน้อยในทุกๆ การทดลอง

2.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

2.3.1 การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลจากผลการทดลองโดยเปรียบเทียบเชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์ คือ :

1. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 (SC90) สายพันธุ์ที่ใช้ในโครงการ ส่วนพระองค์สวนจิตรลดา.
2. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5596.
3. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013.
4. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.
5. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339.
6. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049.
7. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5729.
8. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5728.
9. *Zymomonas mobilis* 405.
10. *Zymomonas* sp. 548.

จากการทดลองพบว่ายีสต์สายพันธุ์ TISTR 5606, 5596, 5013 และ 5092 สามารถเจริญได้ดีในอาหารแข็งกากน้ำตาล ซึ่งการเจริญบนอาหารแข็งจะได้ลักษณะโคโลนีที่มีขนาดใหญ่ มีกลิ่นแอลกอฮอล์ และเจริญเติบโตได้เร็วกว่าสายพันธุ์อื่น. ส่วนยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5339, 5049, 5729 และ 5728 เจริญได้ไม่ดีในอาหารแข็งกากน้ำตาล, สังเกตได้จากโคโลนีที่เจริญในอาหารและระยะเวลาในการเจริญ จึงเปลี่ยนถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลวกากน้ำตาล 20% Brix เชื้อเจริญได้น้อย จากการตรวจนับจำนวนเซลล์เพื่อติดตามการเจริญพบว่าโคจ่มาก และมีจำนวนเซลล์น้อย. สำหรับเชื้อ *Zymomonas* sp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ เจริญน้อยมากในอาหารแข็งกากน้ำตาล 20% Brix ถ่ายเชื้อ ครั้งที่ 2 ในอาหารเหลวกากน้ำตาล 20% Brix เชื้อไม่เจริญจึงไม่ศึกษาต่อ.

สรุปได้ว่าสายพันธุ์ที่เหมาะสมจะทำการศึกษาคือ 4 สายพันธุ์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013, 5092, 5596 และ 5606 (SC90).

2.3.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่มีต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ

ในการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

การทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของกากน้ำตาล 3 ค่า ได้แก่ 15%, 20% และ 25% Brix.

2.3.2.1 กรณีใช้กากน้ำตาลที่มีความหวาน 15% Brix

จากผลการทดลองผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 15% Brix ในตารางที่ 2 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักของยีสต์ 4 สายพันธุ์ คือ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง, ปรากฏว่าสายพันธุ์ที่ผลิตเอทานอลสูงที่สุด คือ สายพันธุ์ TISTR 5596 และสายพันธุ์ TISTR 5606 หมักแอลกอฮอล์ได้ 5% v/v ที่ชั่วโมงที่ 69 และ 48 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 5 และ 7 ตามลำดับ. รองลงมาคือสายพันธุ์ TISTR 5092 หมักแอลกอฮอล์ได้ 4.8% v/v ที่ชั่วโมงที่ 69 และสายพันธุ์ TISTR 5013 หมักแอลกอฮอล์ได้ 4.6% v/v ที่ชั่วโมงที่ 75 ดังแสดงในรูปที่ 3 และ 1 ตามลำดับ.

ในระหว่างกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์ 4 สายพันธุ์ พบว่าค่า pH จะค่อนข้างคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยค่า pH จะอยู่ในช่วง 4.5 – 4.65 ดังแสดงในตารางที่ 2.

การวัดปริมาณสารเจือปนต่างๆ (impurities) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักของยีสต์ 4 สายพันธุ์ ผลแสดงใน ตารางที่ 3. พบว่าสายพันธุ์ TISTR 5606 สร้าง acetaldehyde สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 57 และสายพันธุ์ TISTR 5596 สร้าง acetaldehyde สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 69 ซึ่งทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีแนวโน้มสร้างสารนี้ลดลงในเวลาต่อมา ดังแสดงในรูปที่ 8 และ 6 ตามลำดับ. ส่วน 2 สายพันธุ์คือ TISTR 5013 และ TISTR 5092 จะสร้างสารนี้ในปริมาณน้อยกว่า 2 สายพันธุ์แรก ดังแสดงในรูปที่ 2 และ 4 ตามลำดับ. ส่วนสาร impurities อื่นๆ ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก ได้แก่ acetone และ ethylacetate จะเกิดขึ้นในปริมาณที่น้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ acetaldehyde ที่เกิดขึ้น ทั้ง 4 สายพันธุ์.

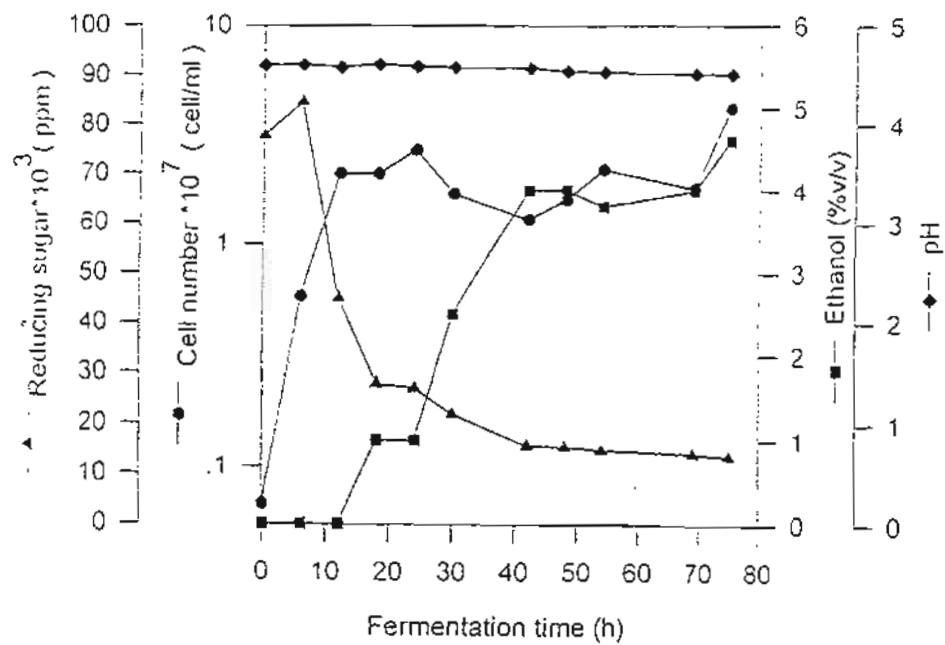
จากการตรวจนับปริมาณเซลล์ในระหว่างกระบวนการหมักโดยใช้ปริมาณหัวเชื้อใกล้เคียงกันคือ 10^5 cell/ml ภายหลังเติมหัวเชื้อลงในกระบวนการหมักวัดปริมาณเซลล์ตั้งต้นของเชื้อ ทั้ง 4 สายพันธุ์ จะอยู่ในช่วง 10^7 cell/ml โดยเชื้อที่เจริญดีที่สุดคือ TISTR 5606, รองลงมาคือ TISTR 5596, TISTR 5092 และ TISTR 5013 ตามลำดับที่ชั่วโมงที่ 24 ดังแสดงในตารางที่ 2.

ตารางที่ 2. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 15% โดยใช้สตัลยพันธุ์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง

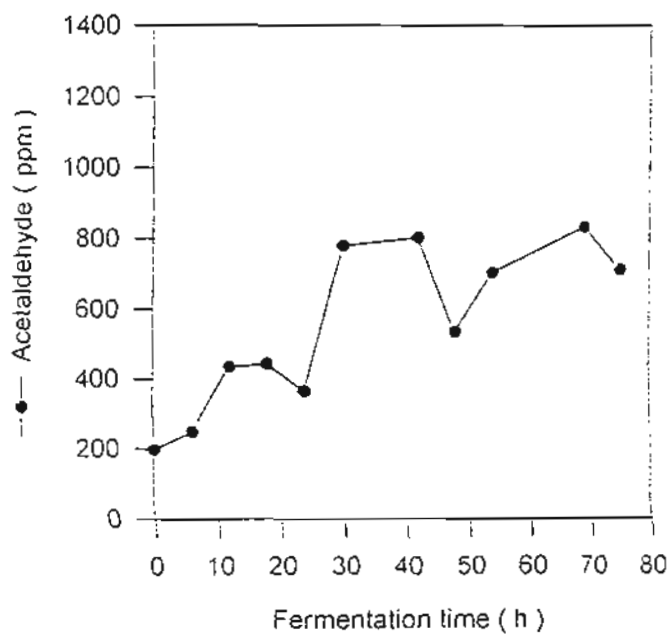
เวลา(ชม.)	ปริมาณน้ำตาลรีเวิร์ส(*10 ³ ppm)				pH				ปริมาณน้ำตาล(%Brix)				จำนวนเซลล์(*10 ⁷ cell/ml)				%Alcohol			
	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606
0	77.62	81.98	77.43	83.37	4.6	4.63	4.61	4.59	15	15	15	15	0.068	0.61	0.44	0.48	0	0	0	0
6	84.55	92.27	89.8	84.36	4.61	4.6	4.63	4.65	15	15	15	15	0.58	0.94	0.82	1.1	0	0	0	0
12	44.85	32.77	58.71	49.31	4.58	4.62	4.61	4.55	15	15	15	14	2.1	3.1	1.9	4.1	0	0.5	0.5	0.5
18	27.82	21.88	40.99	28.22	4.61	4.6	4.6	4.54	13	13	13.5	13	2.1	4	4.2	4.9	1	2	1.8	2
24	27	13.96	25.54	23.07	4.59	4.6	4.61	4.54	13	12	13	12	2.7	4.1	4.7	5.7	1	2.5	2.5	2.8
30	21.88	12.67	18.12	10.89	4.58	4.59	4.59	4.53	12.2	10.8	12	11	1.7	4	3.8	5.4	2.5	4	2.5	4
42	15.54	9.5	13.86	8.02	4.57	4.55	4.58	4.54	11.2	10.4	10	10	1.3	3.8	4.3	5.6	4	4	4.1	4
48	15.34	14.46	22.28	16.63	4.54	4.52	4.56	4.51	11	10	10	10	1.6	3.5	3.9	5.3	4	4.5	1.2	5
54	14.7	17.72	16.14	17.72	4.53	4.53	4.54	4.51	10.6	9.6	10	10	2.2	3.9	3.8	5.1	3.8	4.6	4	4.4
69	14	14.85	14.95	14.85	4.51	4.53	4.53	4.51	10	9.8	9.4	9.4	1.8	4.7	4.3	5.3	4	4.8	5	5
75	13.47	15.58	13.18	13.69	4.51	4.53	4.54	4.52	10	9.8	9.4	9.4	4.2	4.5	5.2	6.1	4.6	4.8	5	5

ตารางที่ 3. ปริมาณสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ TISTR 5013, 5092, 5596 และ 5606 ในถากน้ำตาลที่มีกัวเนฮวาน 15% Brix

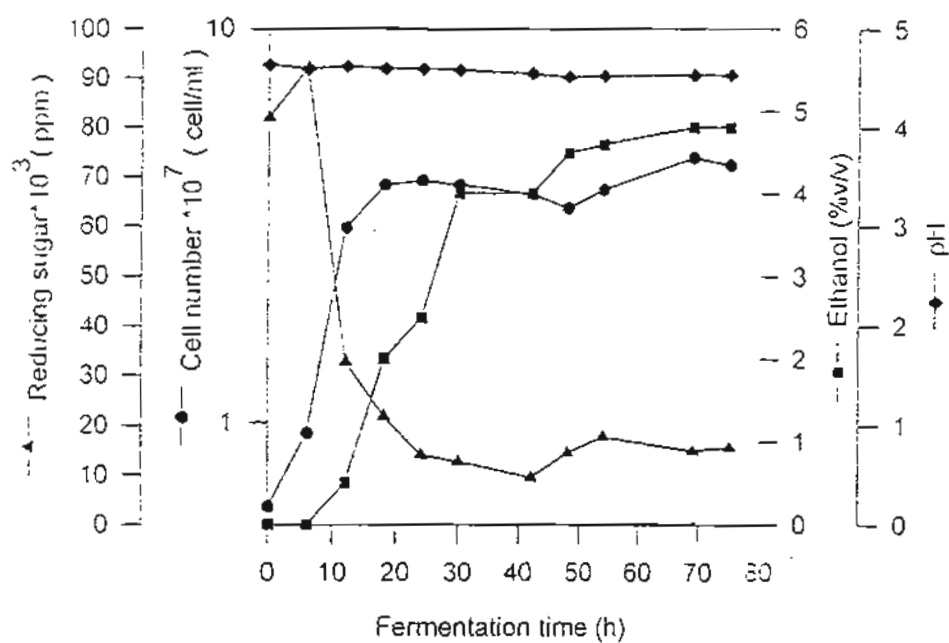
เชื้อ - เวลา	Acetaldehyde	Acetone	EtoAc
5013-0	198.12	5.24	6.77
5013-6	248.58	5.38	0.59
5013-12	434.31	5.39	2.04
5013-18	443.83	4.76	6.63
5013-24	364.65	24.83	
5013-30	780.14	5.04	
5013-45	803.93	7.83	
5013-51	536.7	3.5	
5013-57	705.52	4.62	
5013-69	834.59	5.62	
5013-75	714.21	1.74	3.59
5092-0	342.29	7.17	0.68
5092-6	272.55	4.03	0.74
5092-12	469.12	7.04	1.12
5092-18	492.72	3.29	
5092-24	733.52	4.83	
5092-30	457.05	2.44	
5092-45	580.53	3.57	
5092-51	758.38	4.85	
5092-57	606.91	3.53	
5092-69	2051.37	13.78	
5092-75	463.85	2.83	
5596-0	283.81	4.36	
5596-6	361.11	4.38	0.79
5596-12	433.91	5.87	1.28
5596-18	681.29	5.63	0.73
5596-24	790.85	3.69	
5596-30	569.44	2.92	1.58
5596-45	832.75	4.83	
5596-51	635.44	4.14	
5596-57	644.83	3.93	
5596-69	875.37	5.45	
5596-75	331.63	2.02	
5606-0	303.04	6.52	0.54
5606-6	386.74	5.81	0.88
5606-12	608.48	5.50	0.96
5606-18	740.99	3.29	
5606-24	826.22	5.14	
5606-30	953.47	5.29	
5606-45	1311.91	3.57	
5606-51	1349.69	3.25	
5606-57	1369.49	8.36	
5606-69	1132.94	7.20	
5606-75	568.48	3.50	



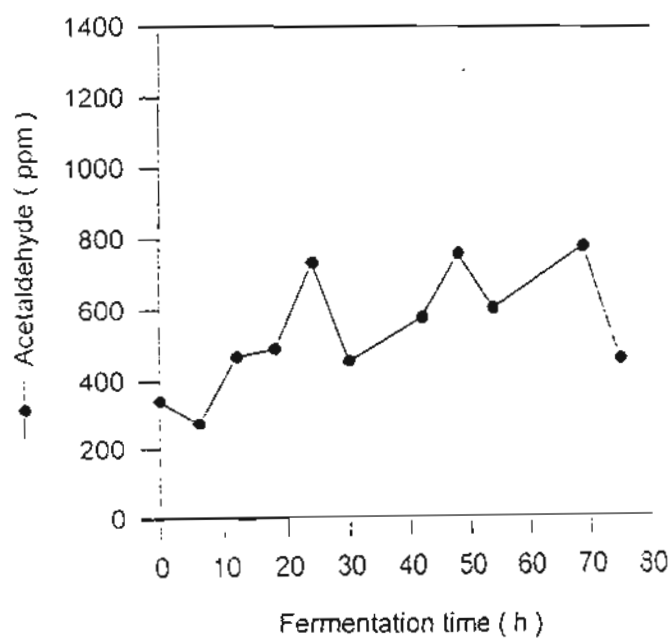
รูปที่ 1. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5013.



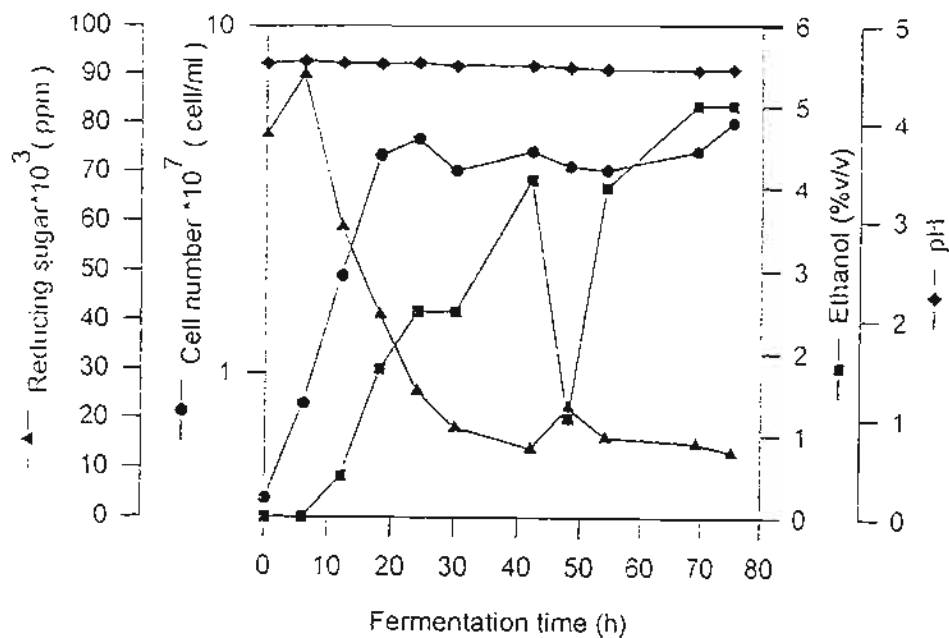
รูปที่ 2. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5013.



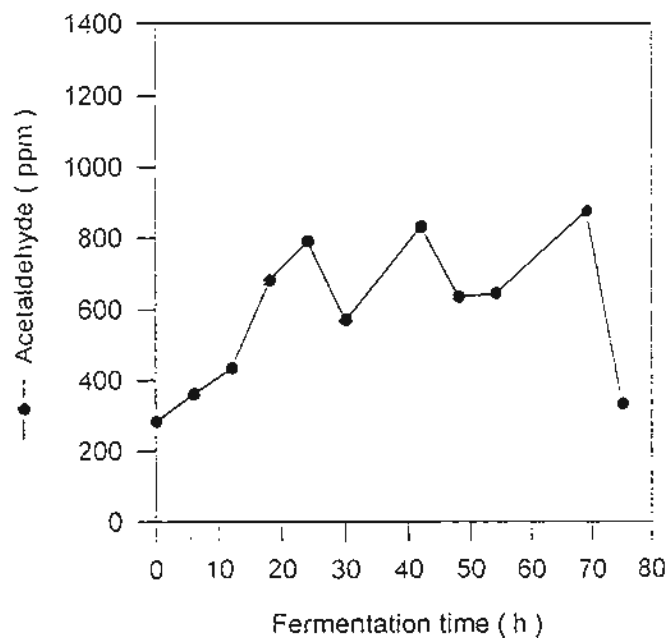
รูปที่ 3. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5092.



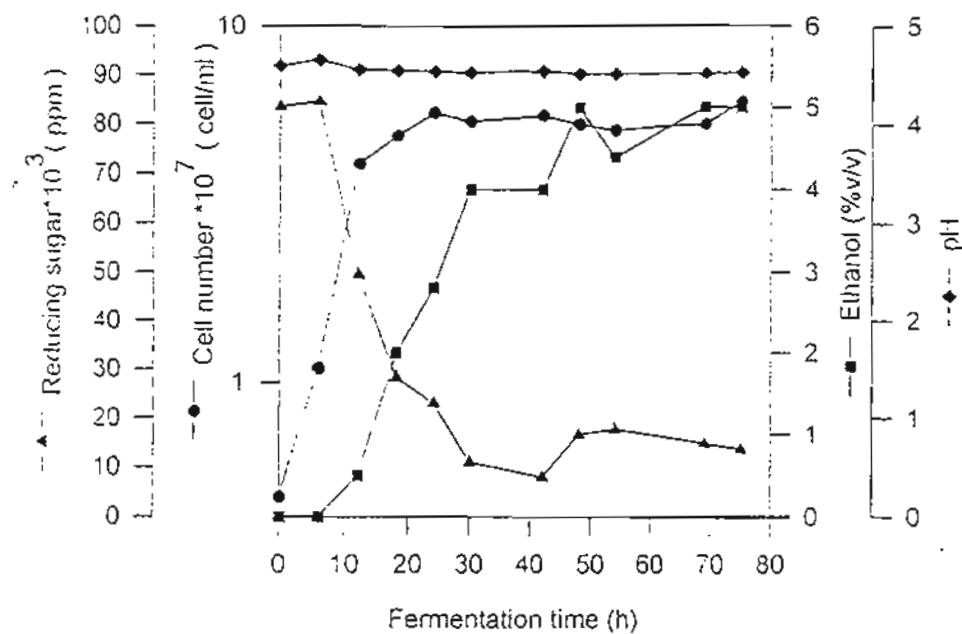
รูปที่ 4. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5092.



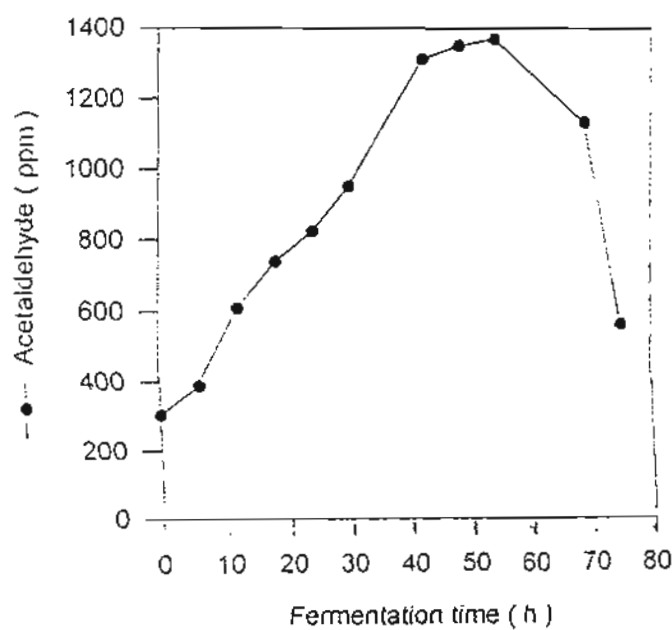
รูปที่ 5. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5596.



รูปที่ 6. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5596.



รูปที่ 7. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5606.



รูปที่ 8. ปริมาณสารเอ็ป (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5606.

เมื่อพิจารณาการใช้กากน้ำตาลที่มีความหวาน 15% Brix ของยีสต์ 4 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ TISTR 5606 สามารถใช้กากน้ำตาลได้ดีที่สุดคือ เหลือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 8.02×10^1 ppm, รองลงมาคือสายพันธุ์ TISTR 5092 วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 9.5×10^1 ppm, สายพันธุ์ TISTR 5596 วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 13.86×10^1 ppm และสายพันธุ์ TISTR 5013 วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 15.54×10^1 ppm ที่ชั่วโมงที่ 42 ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 2.

ส่วนรูปที่ 9 และ 10 แสดงเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล และปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นของสายพันธุ์ยีสต์ทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวข้างต้น.

2.3.2.2 กรณีใช้กากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix

จากผลการทดลองผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ในตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักของยีสต์ 4 สายพันธุ์ คือ TISTR 5013, 5092, 5596 และ 5606 ผลปรากฏว่าสายพันธุ์ที่ผลิตเอทานอลได้สูงที่สุดคือ สายพันธุ์ TISTR 5092 หมักแอลกอฮอล์ ได้ 6.5% ที่ชั่วโมงที่ 54 ดังแสดงในรูปที่ 13. รองลงมาคือสายพันธุ์ TISTR 5013 และ TISTR 5606 วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 5% ที่ชั่วโมงที่ 42 และชั่วโมงที่ 54 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 11 และ 17, ส่วนสายพันธุ์ TISTR 5596 หมักแอลกอฮอล์ได้ต่ำกว่า 3 สายพันธุ์แรก คือ ผลิตได้สูงสุด 4% ที่ชั่วโมงที่ 69 ดังแสดงในรูปที่ 15, ซึ่งอาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ TISTR 5596 ไม่สามารถใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมในการหมักแอลกอฮอล์ (สายพันธุ์ TISTR 5596 ปกติใช้ในการวิจัยการผลิตแอลกอฮอล์จากมันสำปะหลังซึ่งสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงจึงนำมาเปรียบเทียบกับการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล).

เมื่อพิจารณาค่า pH ในระหว่างกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์ 4 สายพันธุ์ พบว่าค่า pH ก่อนข้างคองที่ ทั้ง 4 สายพันธุ์ค่าจะต่ำลงเล็กน้อยในระยะปลายของกระบวนการหมัก โดย pH จะอยู่ในช่วง 4.5 – 4.7 ดังแสดงในตารางที่ 4.

ในการวัดปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ของยีสต์ 4 สายพันธุ์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 5. พบว่าสายพันธุ์ TISTR 5092 ผลิต acetaldehyde สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 69 และลดลงเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น, เช่นเดียวกับสาร iso-butanol, 1-propanol และ iso-amylalcohol สร้างสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 30 และลดลงเมื่อช่วงปลายการหมักแอลกอฮอล์ ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 14.

ส่วนสายพันธุ์ TISTR 5013, TISTR 5596 และ TISTR 5606 จะสร้างสาร acetaldehyde, iso-butanol, l-propanol และ iso-amylalcohol มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการหมัก และเพิ่มขึ้นไปเรื่อยๆ จนช่วงท้ายของการหมักค่าที่วัดได้จะเริ่มคงที่ ดังแสดงในรูปที่ 12, 16 และ 18.

จากการตรวจนับปริมาณเซลล์ในระหว่างกระบวนการหมักของเชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์ โดยใช้หัวเชื้อที่มีปริมาณเซลล์ใกล้เคียงกัน คือ 10^7 cell/ml ภายหลังเติมหัวเชื้อในกระบวนการหมัก แล้วปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่นับได้ของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ จะอยู่ในช่วง 10^7 cells/ml โดยเชื้อที่เจริญดีที่สุดคือ TISTR 5606, รองลงมาคือ TISTR 5596, TISTR 5092 และ TISTR 5013 ตามลำดับ ผลดังแสดงใน ตารางที่ 4.

จากตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาการใช้กากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ของยีสต์ 4 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ TISTR 5013 สามารถใช้กากน้ำตาลเพื่อผลิตเป็นแอลกอฮอล์ได้ดีที่สุด คือจะเหลือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 5.27×10^3 ppm, รองลงมาคือสายพันธุ์ TISTR 5092 วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ได้ 5.36×10^3 ppm (ดังแสดงในรูปที่ 11, 13). ส่วนสายพันธุ์ TISTR 5596 วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ได้ 8.18×10^3 ppm (รูปที่ 15) และสายพันธุ์ TISTR 5606 จะใช้กากน้ำตาลได้น้อยที่สุดโดยวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในการหมักมากที่สุดคือ 11.36×10^3 ppm ผลแสดงในรูปที่ 17. เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์ คือ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ได้แก่ acetaldehyde, l-propanol, iso-butanol, iso-amylalcohol จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มลดลงหรือคงที่เมื่อเข้าสู่ช่วงปลายของระยะการหมักแอลกอฮอล์. เชื้อยีสต์ที่สร้างสาร impurities สูงที่สุดคือ สายพันธุ์ TISTR 5606, รองลงมาคือ TISTR 5013 และ TISTR 5092 และตัวที่ผลิตน้อยที่สุดคือ TISTR 5596 (รูปที่ 19) ในขณะที่รูป 20 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากเชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์ ดังกล่าวมาแล้ว.

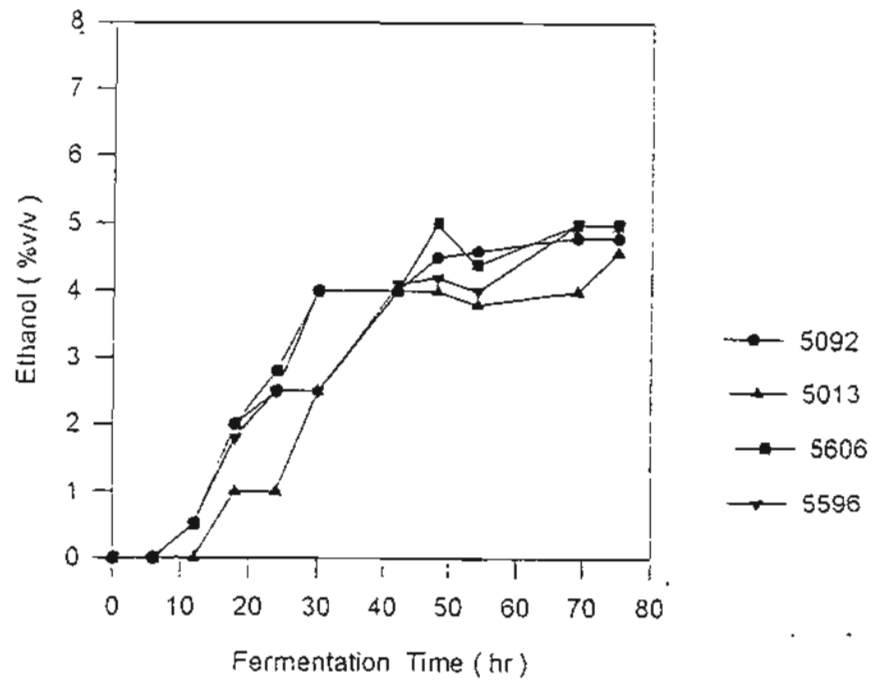
ตารางที่ 4. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% โดยใช้อัตราส่วน TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง

เวลา(ชม.)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(*10 ³ ppm)				pH				ปริมาณน้ำตาล(%Brix)				จำนวนเซลล์(*10 ⁷ cell/ml)				%Alcohol			
	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606
0	91.81	88.1	115	84.54	4.66	4.65	4.58	4.64	20	20	19	20	0.14	0.41	1.5	0.5	0	0	0	0
6	82.27	85.6	110.72	76.36	4.67	4.65	4.58	4.66	20	20	19	20	0.19	0.46	1.52	0.52	0.1	0.5	0	0
12	70	80.45	105.92	71.18	4.6	4.51	4.59	4.61	19	19	19	19	0.74	1.15	1.55	1.43	1	0.5	0	0.5
18	38.63	75.9	95.45	38.11	4.67	4.76	4.58	4.65	18	18	19	18	0.93	2.03	2.1	1.59	1.5	1	0	1
24	38.63	41.36	93.18	35.9	4.71	4.72	4.59	4.72	17	17	18	17	1.3	5.5	4.4	6	2.2	3	0	2
30	26.81	31.81	56.81	31.36	4.7	4.76	4.61	4.7	16	16.5	18	16	2.4	5.3	4.5	6.4	3	3	1	3.5
42	24.09	23.63	32.72	21.36	4.66	4.7	4.64	4.61	15.5	16	16	16	3.6	6	5.8	6.7	4	4.5	3.2	4.8
48	23.63	19.54	26.36	20.9	4.5	4.7	4.64	4.66	15	14	15	14	3.6	6	5.86	6.8	4.5	4.5	3.5	4.5
54	9.5	5.9	17.27	18	4.54	4.62	4.66	4.62	14	14	14	14	3.6	6	6.7	7.4	5	6	4	4.5
69	5.45	5.45	16.81	11.36	4.54	4.55	4.67	4.52	14	13.4	14	13	3.3	6.4	6.7	7.4	5	6.5	4	4.5
75	5.27	5.36	8.18	11.36	4.45	4.6	4.64	4.56	14	13	14	13	3.1	6.4	6.74	7.4	3.2	4	5	5

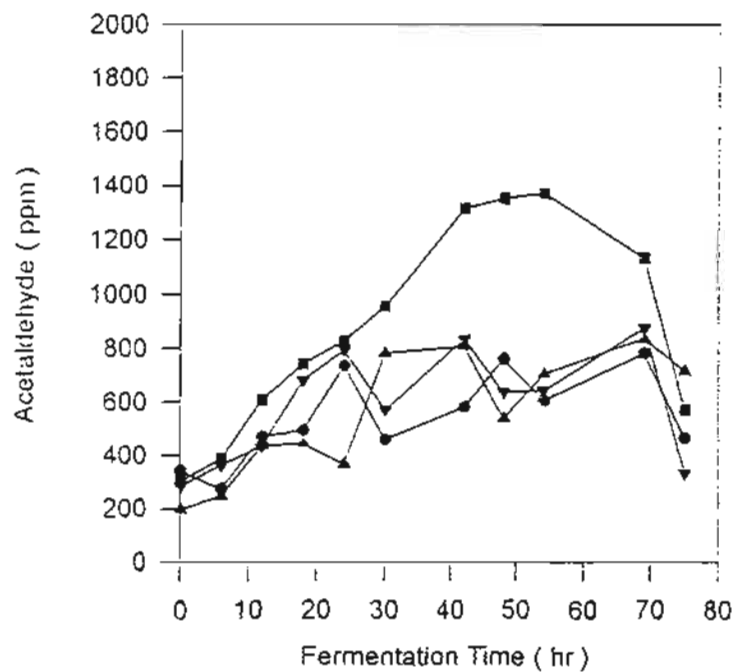
ตารางที่ 5. ปริมาณสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ TISTR 5013, 5092, 5596 และ 5606

ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix

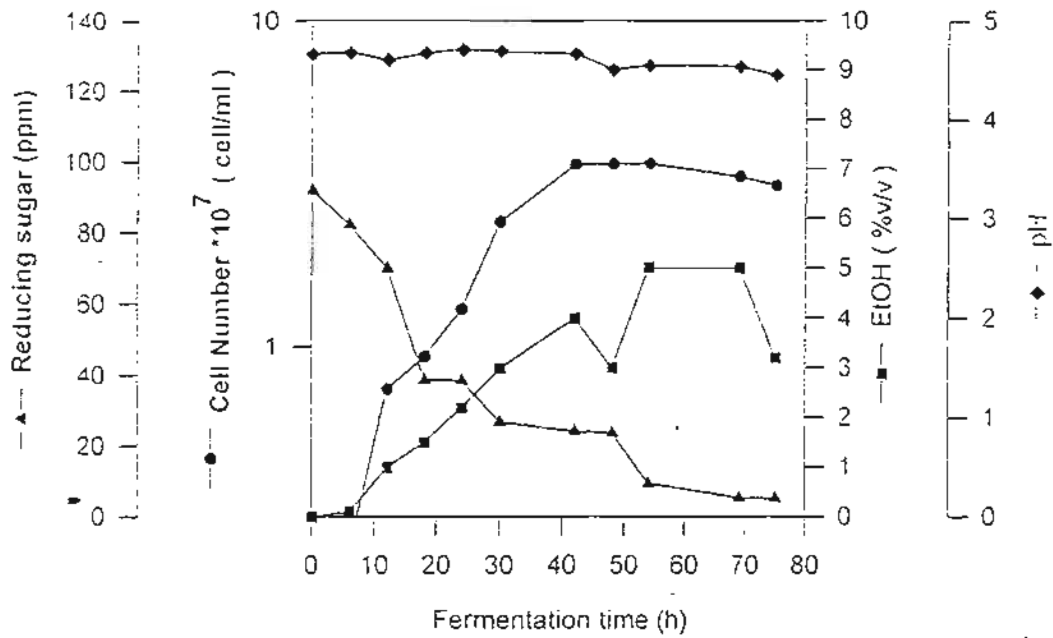
เชื้อ-เวลา(ชม.)	ปริมาณสารชนิดต่างๆระหว่างการหมักของเชื้อสายพันธุ์ต่างๆในกากน้ำตาลความเข้มข้น 20%(ppm)						
	Acetaldehyde	Acetone	Ethyl acetate	Methanol	1-Propanol	Iso-butanol	Iso-amyl alcohol
5013-0	561.68	11.98	0.00	0.00	4.33	6.39	19.64
5013-6	812.18	5.19	1.52	5.23	10.50	16.78	41.55
5013-12	1624.22	16.06	1.70	13.00	16.88	23.49	48.58
5013-18	1614.42	16.54	2.76	13.27	16.32	21.19	43.58
5013-24	1641.70	14.92	2.71	7.80	17.47	21.10	72.51
5013-30	1178.95	11.22	4.52	10.29	17.79	21.75	74.56
5013-42	1456.45	9.06	6.99	2.42	17.73	23.88	74.28
5013-48	1199.41	6.97	4.95	0.00	18.71	24.07	92.56
5013-54	1356.91	12.62	10.35	5.23	15.44	24.60	84.75
5013-69	1413.67	12.54	9.93		15.30	22.77	80.63
5013-75	1688.43	14.98	12.91		23.69	22.17	65.56
5092-0	449.34	27.16	1.25	7.20	1.71	6.81	16.59
5092-6	938.66	7.37	1.23	6.72	12.61	28.65	60.97
5092-12	955.32	16.65	2.43	16.05	16.66	28.08	65.00
5092-18	1151.24	10.30	2.25	11.35	18.20	28.08	69.00
5092-24	1153.23	9.23	2.38	13.95	28.19	25.30	64.00
5092-30	1286.21	9.93	4.53	5.23	31.94	25.46	75.44
5092-42	1436.45	10.04	10.17	37.26	31.60	23.36	72.58
5092-48	1225.22	12.34	9.15	0.00	24.97	22.46	70.61
5092-54	1086.53	11.47	10.40		18.70	21.94	65.27
5092-69	1071.69	6.91	7.75		18.14	20.08	62.25
5092-75	816.01	10.66	11.33		11.57	14.10	38.63
5596-0	647.37	12.93	1.30	5.23	0.00	4.37	23.23
5596-6	732.85	6.80	0.91	13.16	5.65	6.12	24.24
5596-12	746.29	19.13	0.74	12.08	5.69	5.67	28.19
5596-18	766.26	10.44	0.91	9.50	5.45	5.69	28.29
5596-24	815.44	11.41	1.04	10.14	11.00	11.38	32.12
5596-30	1326.83	11.22	3.24	8.70	15.98	21.74	46.86
5596-42	1756.62	15.08	5.04	5.23	15.93	18.45	48.16
5596-48	1764.95	11.28	7.00	5.23	15.94	18.29	48.89
5596-54	2006.68	17.93	10.13	12.17	16.99	18.21	49.43
5596-69	1019.44	10.33	11.48	0.00	15.17	17.41	51.36
5596-75	816.01	8.30	11.07	0.00	11.57	14.10	38.63
5606-0	666.00	18.69	1.21	9.33	4.04	4.58	15.94
5606-6	662.00	8.04	1.06	5.23	4.67	5.56	16.19
5606-12	661.11	11.10	1.32	11.44	9.12	10.94	30.04
5606-18	1242.00	14.07	2.23	14.03	23.93	24.07	48.45
5606-24	1768.00	12.59	4.39	29.44	25.80	24.32	53.21
5606-30	1758.00	10.77	4.69		25.54	23.41	58.45
5606-42	1535.67	13.47	12.61	42.72	25.35	23.47	51.50
5606-48	1536.38	6.02	7.40		27.07	26.99	69.21
5606-54	1955.18	15.09	17.34		39.66	30.05	94.48
5606-69	1685.00	10.48	13.41		29.38	24.48	67.50
5606-75	1688.43	16.45	22.81		23.69	22.17	65.56



รูปที่ 9. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์.

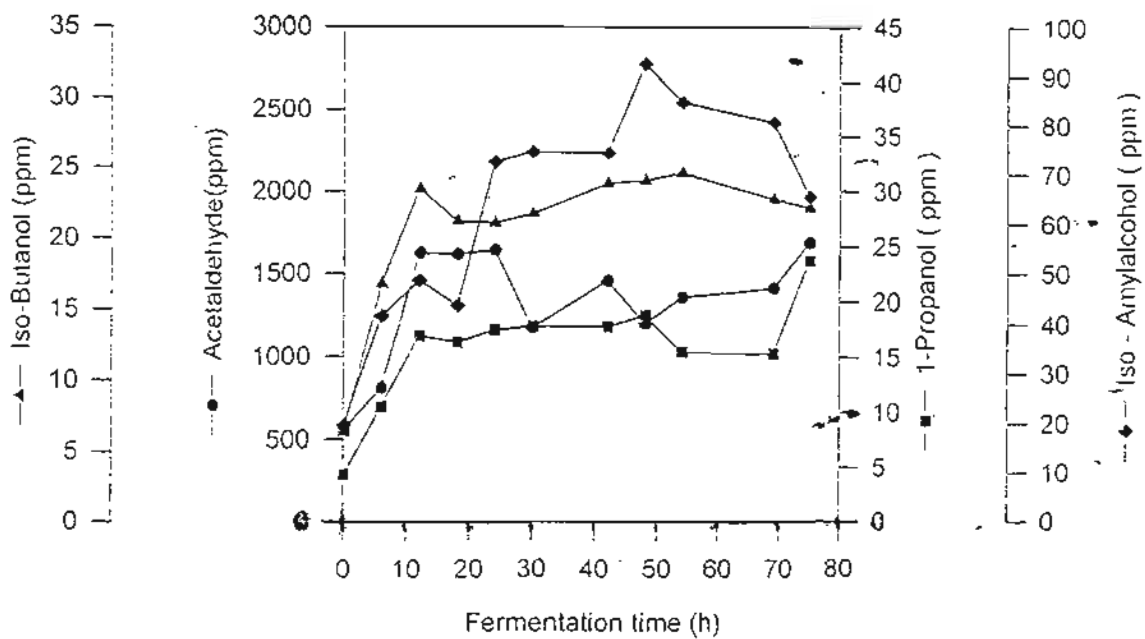


รูปที่ 10. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก แอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 15% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์.



รูปที่ 11. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์

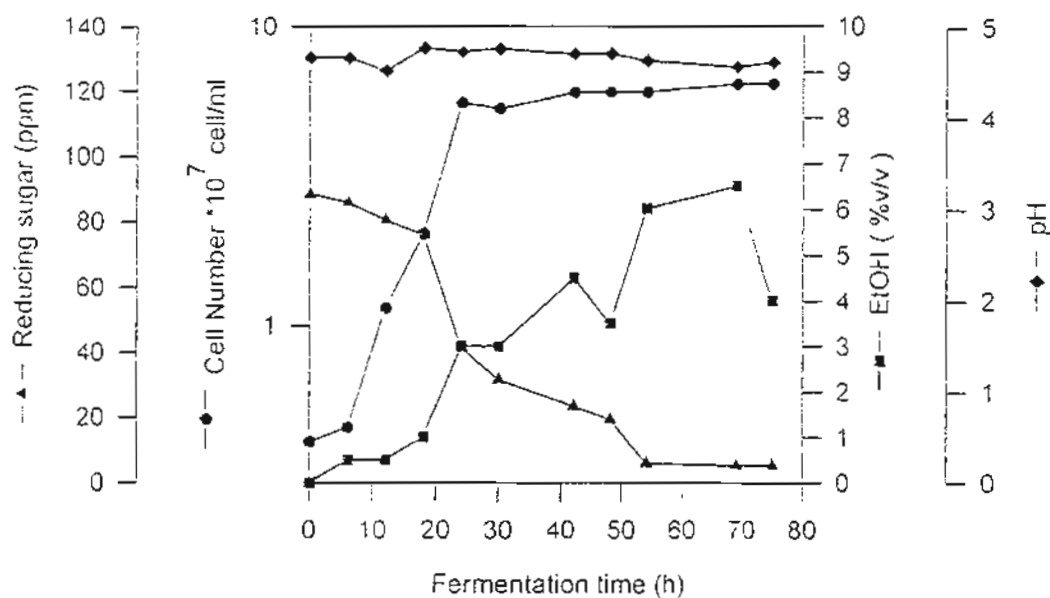
Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ TISTR 5013.



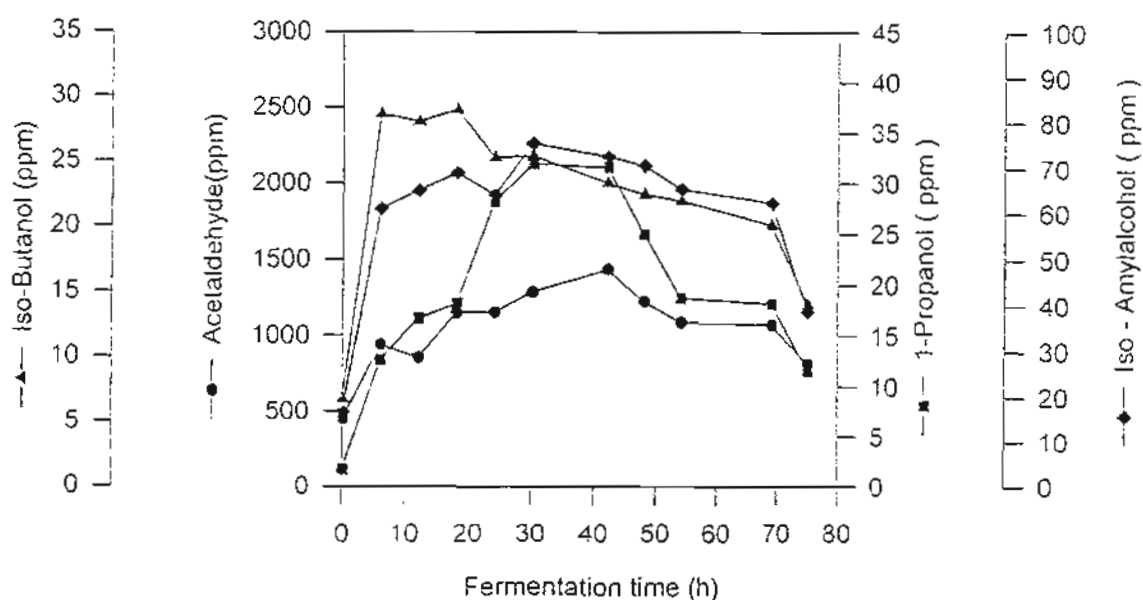
รูปที่ 12. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

ที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์

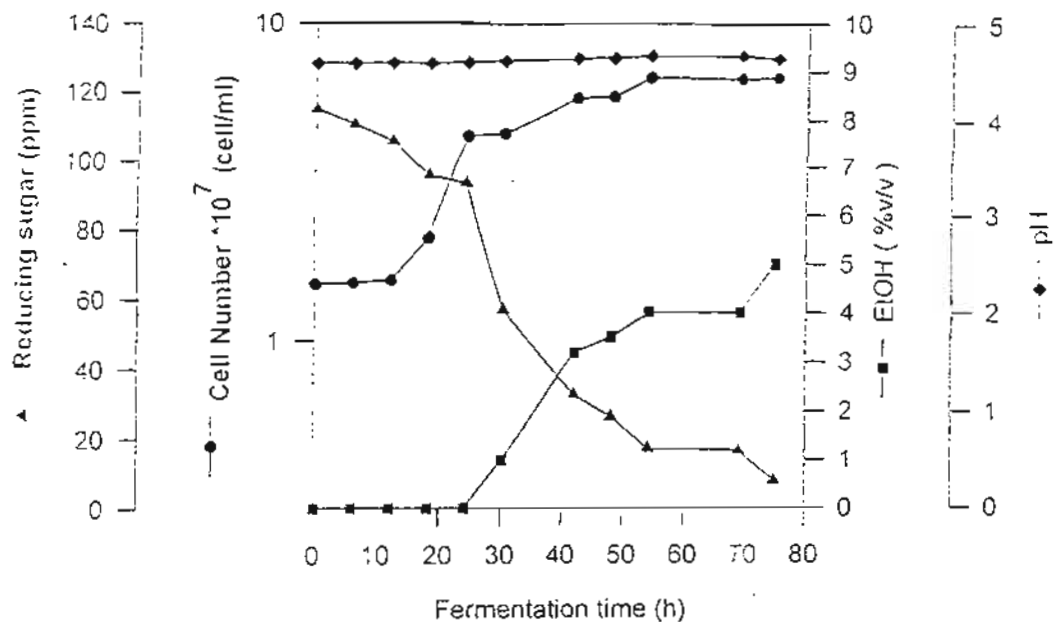
TISTR 5013.



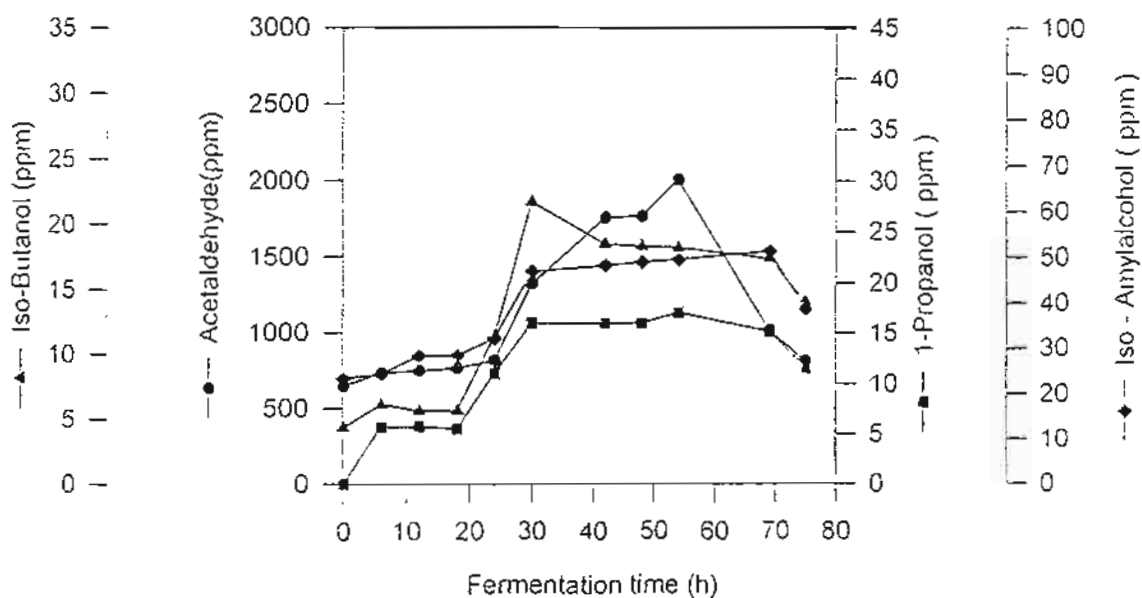
รูปที่ 13. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5092.



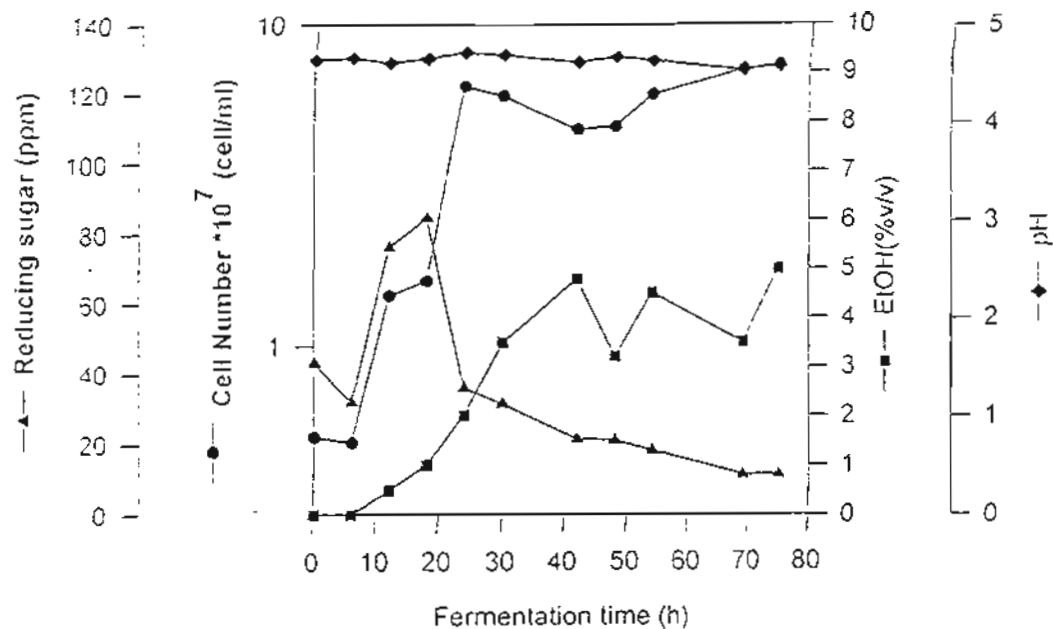
รูปที่ 14. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5092.



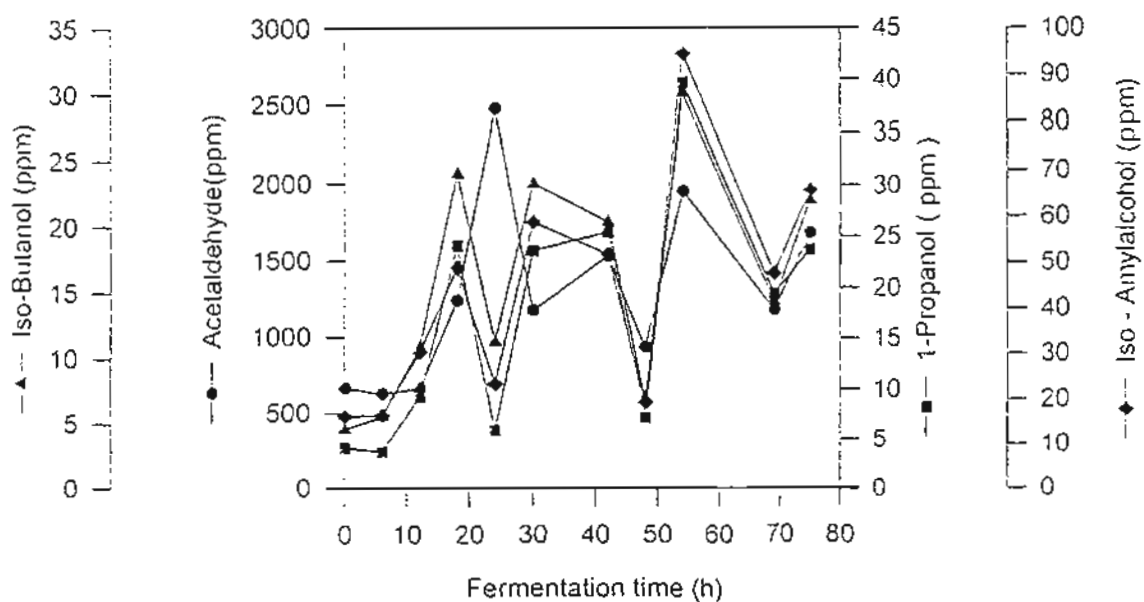
รูปที่ 15. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5596.



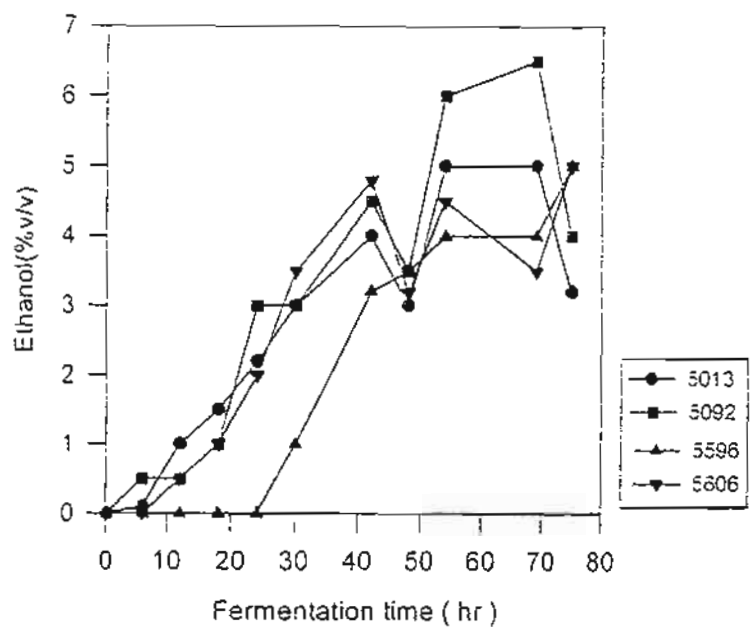
รูปที่ 16. ปริมาณสารเจือปน (acetaldehyde) ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5596.



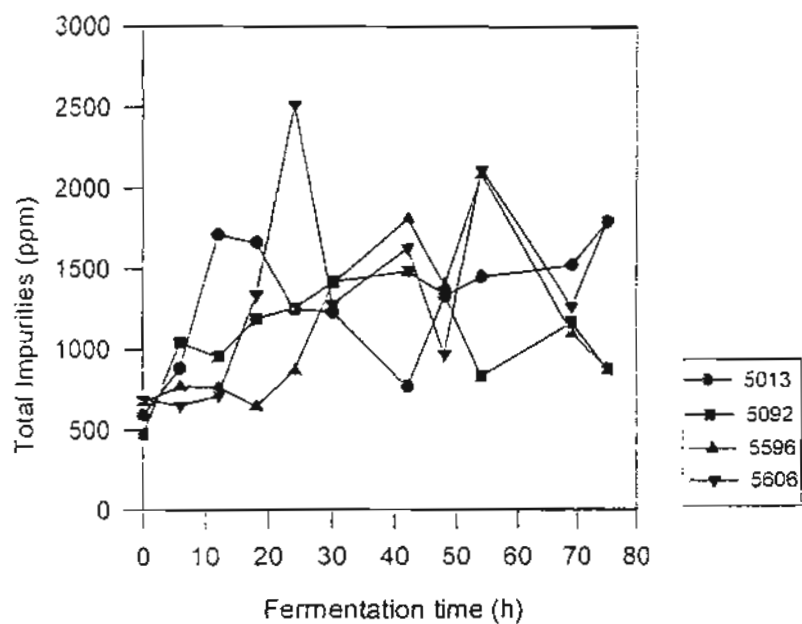
รูปที่ 17. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5606.



รูปที่ 18. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5606.



รูปที่ 19. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์.



รูปที่ 20. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวม ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์.

2.3.2.3 กรณีใช้กากน้ำตาลที่มีความหวาน 25% Brix

ผลการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 25% Brix ในตารางที่ 6 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ในระหว่างการหมักของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง. พบว่ายีสต์สายพันธุ์ TISTR 5606 ผลิตเอทานอลได้สูงสุด เท่ากับ 7.2% v/v ที่ชั่วโมงที่ 69 ดังแสดงในรูปที่ 27, รองลงมาคือ สายพันธุ์ TISTR 5013 และ TISTR 5092 วัดปริมาณ (เอทานอล) ชั่วโมงที่ 69 ได้ 7 และ 5.2% ตามลำดับ (ดังแสดงในรูปที่ 21 และ 23) ส่วนสายพันธุ์ TISTR 5596 ผลิตเอทานอลได้ 4.5% ที่ชั่วโมงที่ 75 ของการหมัก.

ส่วนค่า pH ในระหว่างกระบวนการหมักของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่าค่าค่อนข้างคงที่ อยู่ในช่วง 4.5-4.8 ดังแสดงในตารางที่ 6.

จากการตรวจปริมาณเชื้อระหว่างหมักของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ เชื้อที่เจริญดีที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ TISTR 5606 รองลงมาคือ TISTR 5092, TISTR 5013 และ TISTR 5596 ตามลำดับ โดยเชื้อทั้งหมดเจริญเข้าสู่ stationary phase ในระยะ 24 - 30 ชั่วโมง ของการหมัก (ผลแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 27, 23, 21 และ 25).

จากการวัดปริมาณน้ำตาลที่เหลือในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก สายพันธุ์ TISTR 5013 สามารถใช้กากน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยเหลือ 23.2×10^3 ppm., รองลงมาคือ สายพันธุ์ TISTR 5606 วัดปริมาณน้ำตาลที่เหลือได้ 30.45×10^3 ppm (ดังแสดงในรูปที่ 21 และ 27). ส่วนสายพันธุ์ TISTR 5092 และ 5596 วัดปริมาณที่เหลือได้ 39.23×10^3 และ 56.81×10^3 ppm ตามลำดับ (ผลแสดงในรูปที่ 23 และ 25). เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการผลิตสาร impurities ต่างๆ ได้แก่ acetaldehyde, 1-propanol, iso-butanol และ iso-amylalcohol ในระหว่างการหมักของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 25% Brix (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 7) พบว่าเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ จะผลิตสารต่างๆ เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงประมาณชั่วโมงที่ 30-40 ของการหมักและหลังจากนั้นจะลดลงเล็กน้อยและค่อนข้างคงที่ในช่วงท้ายๆ ของการหมักโดยเชื้อสายพันธุ์ TISTR 5596 ผลิตสาร impurities มากที่สุด, รองลงมาคือ สายพันธุ์ TISTR 5606, TISTR 5092 และ TISTR 5013 ตามลำดับ. สำหรับสายพันธุ์ TISTR 5013 ในระหว่างช่วง 30 ชั่วโมงของการหมัก ผลิตสาร impurities ได้มากใกล้เคียงกับ TISTR 5606 แต่ช่วงหลังๆ จะผลิตได้น้อยกว่าเชื้ออื่นๆ.

ตารางที่ 6. ผลการหมักแอมมอกซอสจากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 25% โดยใช้สตัฟฟ์ TISTR 5013, TISTR 5092, TISTR 5596 และ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง

เวลา(ชม.)	ปริมาณน้ำตาลรีเวิร์ส(*10 ³ ppm)				pH				ปริมาณน้ำตาล(%Brix)				จำนวนเซลล์(*10 ⁷ cell/ml)				%Alcohol			
	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606	5013	5092	5596	5606
0	162.9	204	205.45	201.36	4.59	4.7	4.73	4.82	24	25	25	25	1.6	0.3	0.3	0.3	0	0	0	0
6	162.72	199	204.54	186.81	4.62	4.7	4.72	4.81	24	25	25	25	1.6	0.3	0.5	0.3	0	0	0	0
12	160.45	174	194.54	116.36	4.69	4.69	4.72	4.78	24	25	25	25	2.6	0.5	0.7	1	0	0	0	0
18	115	150.45	151.81	102.27	4.59	4.66	4.7	4.8	23.5	23	25	23	2.8	2.8	1.2	2.7	0	0	0	0
24	75.72	86.81	117.72	67.27	4.58	4.68	4.69	4.75	23	22	24	22	5	6.9	1.8	6.1	1	1	0	1.5
30	72.72	70.45	108.63	55	4.59	4.7	4.69	4.73	22	21	23	21	5.4	7.9	5.1	8	2.5	2.2	0.8	1.2
42	35.45	49.54	101.81	55	4.63	4.71	4.69	4.74	20	19	23	20	5.4	8.4	5.3	10.3	3	2	0.8	3.8
48	32.72	43.18	91.81	40	4.7	4.71	4.71	4.75	19	19	21	19	5.7	7.3	5	9	5.8	4	3	5
54	30	43	66.36	38.18	4.65	4.71	4.71	4.75	18.5	18	20	18	6.4	7.6	5.5	8	6.2	5	2.5	7
69	23.63	42.23	57.27	37.27	4.65	4.7	4.71	4.76	18	18	19	17	6.6	7.3	5.7	8.3	7	5.2	2.5	7.2
75	23.2	39.23	56.81	30.45	4.65	4.7	4.7	4.76	18	18	19	16.5	6.6	7.1	6.9	8.3	7	5	4.5	7.2

ตารางที่ 7. ปริมาณสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ TISTR 5013, 5092, 5596 และ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 25% Brix

ชื่อ-เวลา(ชม.)	ปริมาณสารชนิดต่างๆ ระหว่างการหมักของเชื้อยีสต์ต่างๆในกากน้ำตาลความเข้มข้น 25%(ppm)						
	Acetaldehyde	Acetone	Ethyl acetate	Methanol	1-Propanol	Iso-butanol	Iso-amyl alcohol
5013-0	697.48	13.06	2.01	12.91	6.34	7.03	40.07
5013-6	678.00	10.42	1.26	9.59	6.65	7.70	33.12
5013-12	648.02	11.25	1.09	8.51	6.30	9.71	31.19
5013-18	793.15	7.89	1.08	8.13	6.65	9.93	36.29
5013-24	1213.01	11.22	2.18	11.65	15.52	19.66	43.70
5013-30	1566.00	44.11	8.00	15.14	15.60	16.03	44.56
5013-42	1354.88	11.65	6.78	8.98	17.15	15.80	44.30
5013-48	1099.58	12.21	9.20	5.23	20.18	13.76	43.67
5013-54	1156.75	12.95	7.61	5.23	15.50	12.50	33.99
5013-69	1046.50	12.38	14.23	0.00	15.40	12.10	34.03
5013-75	1089.41	13.27	15.67	0.00	16.79	12.37	36.57
5092-0	506.71	16.66	2.49	21.32	6.64	11.35	30.63
5092-6	610.25	16.70	3.16	5.23	8.05	11.38	30.26
5092-12	809.52	15.23	3.18	5.23	8.45	14.57	32.87
5092-18	1416.07	23.94	3.09	5.23	18.82	19.28	53.86
5092-24	1262.10	8.80	4.38	5.23	17.74	19.51	55.83
5092-30	1298.95	11.91	4.60	5.23	18.60	19.63	55.43
5092-42	1299.49	8.44	7.28	5.23	22.62	20.53	72.81
5092-48	1266.15	12.12	12.11	5.23	24.11	25.00	102.43
5092-54	1289.00	12.11	8.92	0.00	24.10	26.22	159.63
5092-69	1224.00	9.29	16.25	0.00	24.70	27.70	158.88
5092-75	1202.95	22.94	15.04	17.54	24.10	31.77	134.54
5596-0	484.01	17.64	0.89	11.41	3.91	5.06	30.63
5596-6	620.62	10.41	0.95	5.23	4.00	5.59	30.83
5596-12	1013.93	21.21	1.19	4.13	4.00	5.81	39.45
5596-18	1275.74	17.84	1.69	5.74	5.06	13.32	40.53
5596-24	1925.33	16.81	2.39	5.23	21.50	28.16	65.26
5596-30	2333.32	21.15	3.47	5.23	21.77	22.98	64.00
5596-42	2428.74	18.04	3.32	5.23	27.00	24.78	64.05
5596-48	1980.33	14.84	5.16	5.23	29.40	24.96	64.54
5596-54	1988.84	12.92	6.53	5.23	35.15	24.40	60.92
5596-69	1969.39	11.92	10.59	0.00	37.50	23.96	46.42
5596-75	1913.52	15.44	11.00	5.23	24.45	18.78	45.67
5606-0	66.25	20.63	1.43	30.22	3.28	4.65	5.75
5606-6	750.07	43.49	1.22	8.01	3.00	4.79	6.64
5606-12	1509.64	16.59	2.10	2.43	9.30	13.41	32.58
5606-18	1436.95	28.00	4.50	5.23	9.80	13.96	33.23
5606-24	1430.00	6.77	3.03	5.23	17.68	14.70	38.92
5606-30	1565.92	11.78	7.46	0.00	22.50	19.92	51.88
5606-42	1585.00	11.53	4.16	0.00	25.00	19.99	55.35
5606-48	1491.10	16.47	12.93	5.23	25.20	20.44	73.91
5606-54	1285.00	14.96	16.81	56.10	25.78	28.55	78.74
5606-69	1241.74	18.31	18.92	120.98	26.00	30.99	100.66
5606-75	1269.00	16.42	26.25	0.00	13.89	17.11	61.79

สำหรับสายพันธุ์ TISTR 5606 และ TISTR 5092 ผลิตสาร impurity ได้ใกล้เคียงกัน โดยในช่วง 30-50 ชั่วโมงของการหมักหรือ TISTR 5606 จะผลิตมากกว่า TISTR 5092 ประมาณ 40% แต่หลังจากชั่วโมงที่ 50 ไปแล้ว ผลิตได้ใกล้เคียงกันมาก.

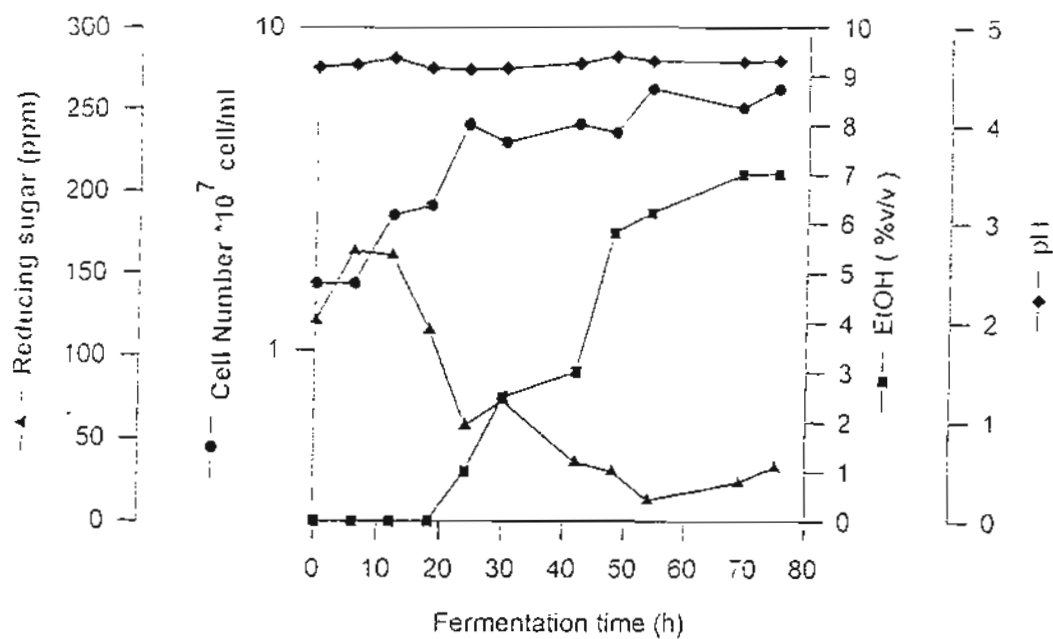
ในการวิเคราะห์หาสารที่เกิดขึ้น (impurity) ในกระบวนการหมัก โดยใช้วิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ค่าที่ได้มักไม่ค่อยคงที่ เนื่องจากตัวอย่างน้ำหมักยังมีสารปนเปื้อนอยู่มากเป็นสาเหตุ ทำให้ liner และ column สกปรกและอุดตันง่าย ค่าที่วัดได้จึงไม่ใช่ค่าที่แท้จริง อีกทั้งมีผลให้การวิเคราะห์ล่าช้ามีปัญหามาก. เนื่องจากสาเหตุดังกล่าวจึงคิดแปลงวิธีการวัดเพื่อให้ได้ค่าที่ถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น โดยนำเอาวิธีใกล้เคียงกับระบบ head space มาใช้กับน้ำหมักตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์โดยนำตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ใส่ขวด head space อบที่ 100° ซ. เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำตัวอย่างที่ได้มาฉีดเข้าเครื่อง GC ซึ่งสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วขึ้นถึง 3 เท่า โดยมี Recovery 72-96%.

รูปที่ 29 และ 30 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลและปริมาณสารเจือปนรวมที่เกิดจากยีสต์ 4 สายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้น ตามลำดับ.

2.3.3 ผลของอาหารเสริม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่มีต่อการเกิดสารเจือปนต่างๆ ในการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092 และ TISTR 5606

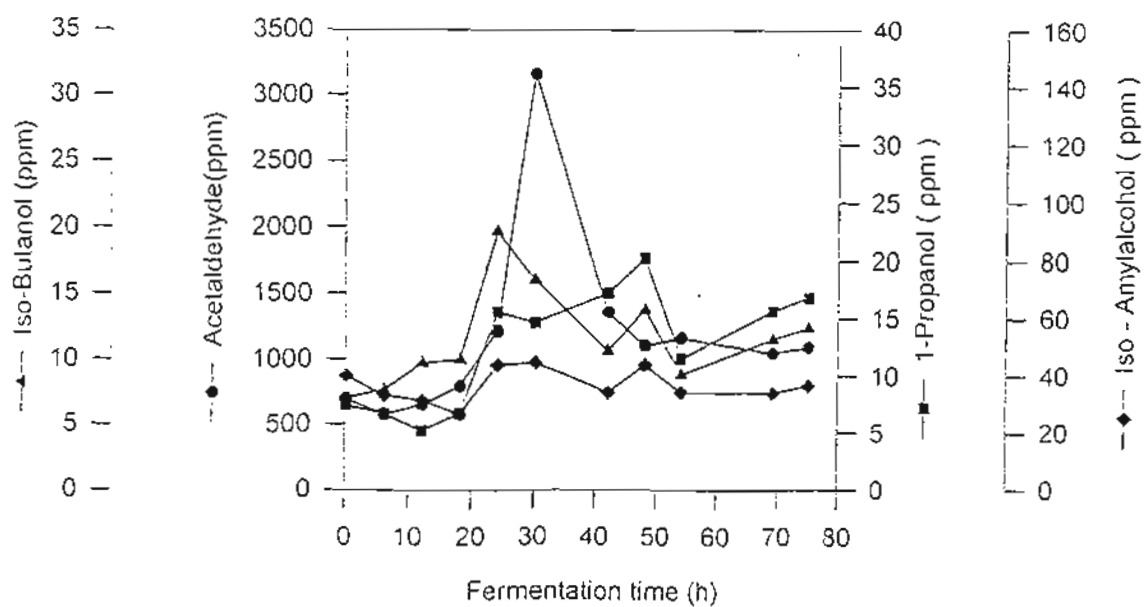
ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความหวาน 20% Brix (ตารางที่ 8) โดยแปรผันความเข้มข้น $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 0, 0.03, 0.05 และ 0.1% ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03% ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5092 สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงสุดเท่ากับ 7% ที่ชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก (รูปที่ 33), และในอาหารที่เติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ เพิ่มขึ้นเป็น 0.05-0.1% ไม่มีผล ใช้เชื้อผลิตแอลกอฮอล์ได้มากกว่า 7% (ดังแสดงในรูปที่ 31, 35, 37).

ในระหว่างกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ของสายพันธุ์ 5092 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันความเข้มข้นของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ทุกระดับ พบว่าค่าความเป็น กรด - ด่าง (pH) มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยอยู่ในช่วง pH 4.2-4.5 (ดังแสดงในตารางที่ 8 และรูปที่ 31 ถึง 37). จะเห็นว่าเชื้อใช้ น้ำตาลอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก หลังจากนั้นจะมีการใช้น้ำตาลน้อยมาก, และจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น $(1.1-1.5) \times 10^7$ cell/ml เชื้อเจริญเข้าสู่ stationary phase ในชั่วโมงที่ 36 ของการหมักโดยความเข้มข้นของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ในช่วง 0-0.1% ไม่มีผลให้เชื้อเจริญแตกต่างกัน ปริมาณสูงสุดของเชื้อ เท่ากับ $5.2-6.4 \times 10^7$ cell/ml.



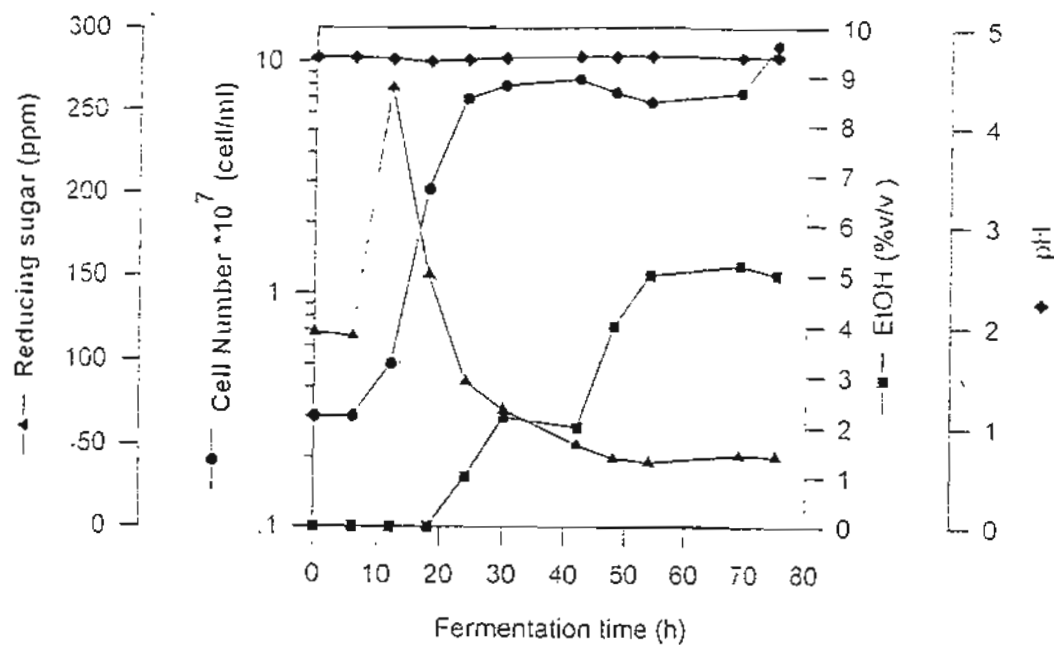
รูปที่ 21. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์

Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ TISTR 5013.



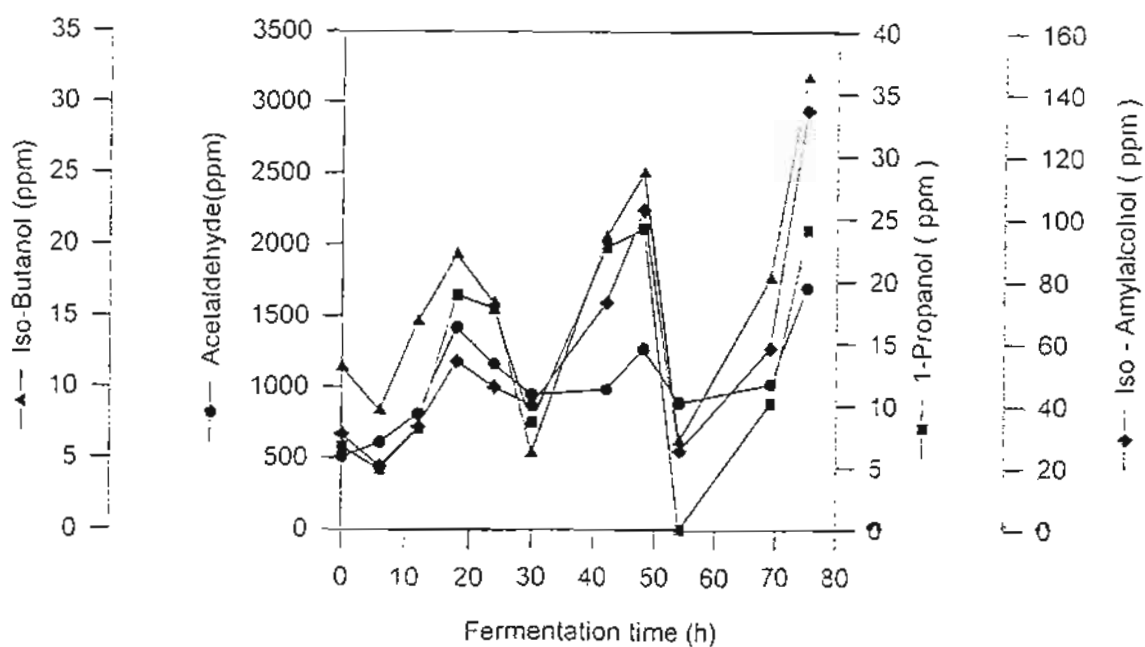
รูปที่ 22. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25%

โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5013.



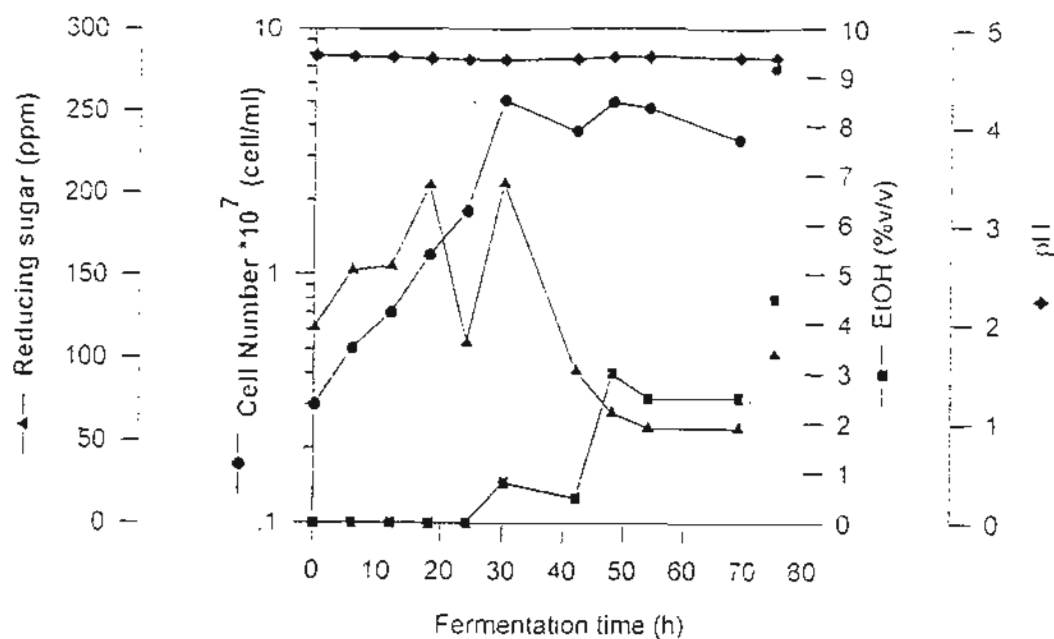
รูปที่ 23. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์

Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ TISTR 5092.



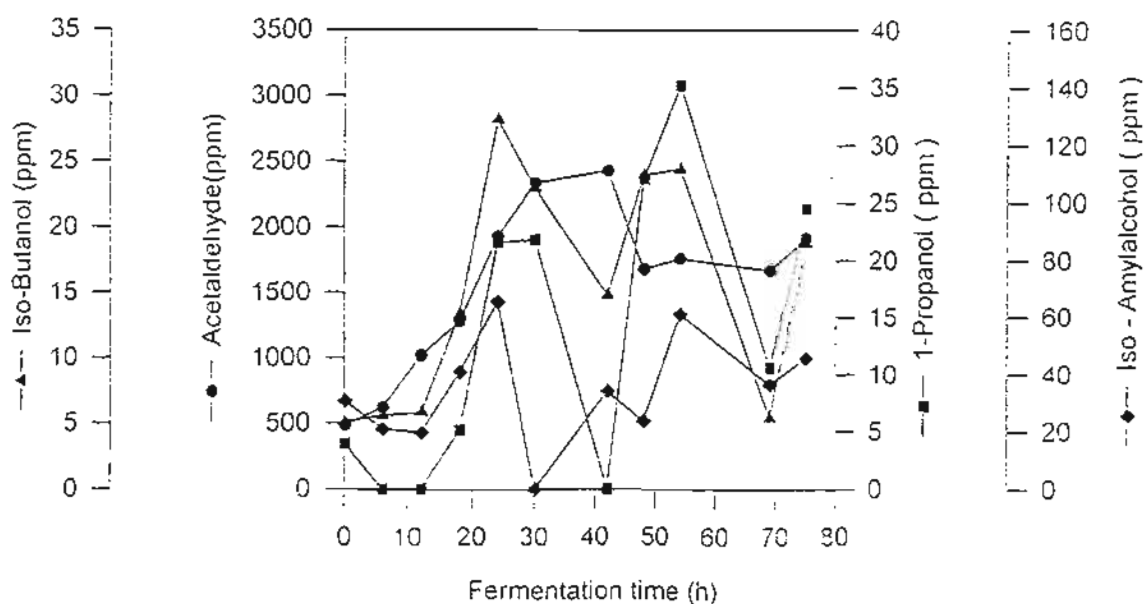
รูปที่ 24. ปริมาณสารเอสเตอร์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25%

โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5092.



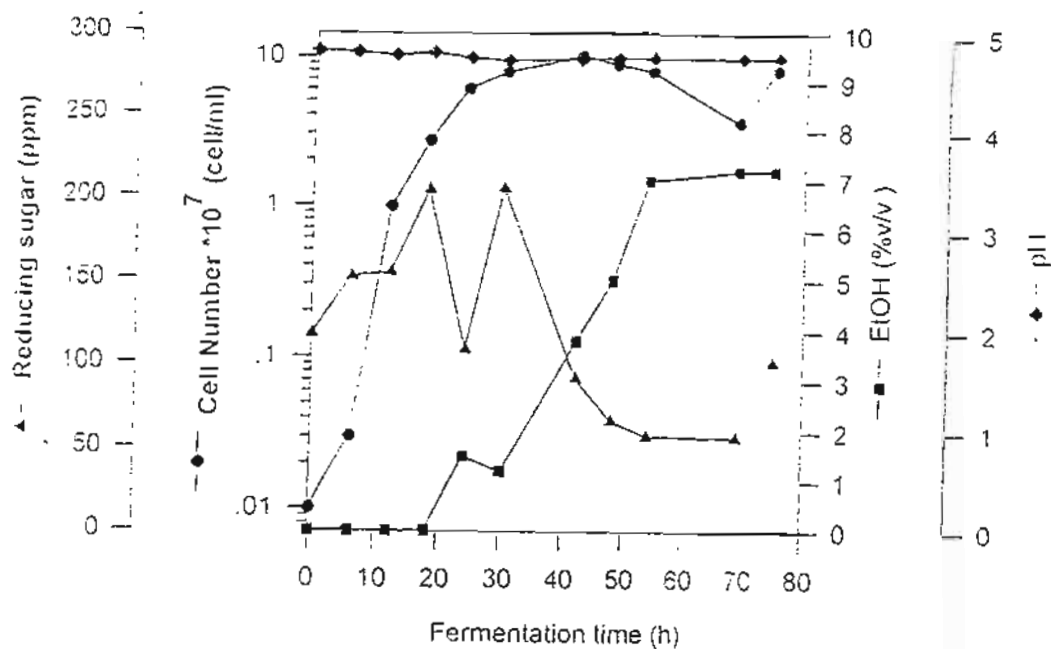
รูปที่ 25. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์

Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ TISTR 5596.

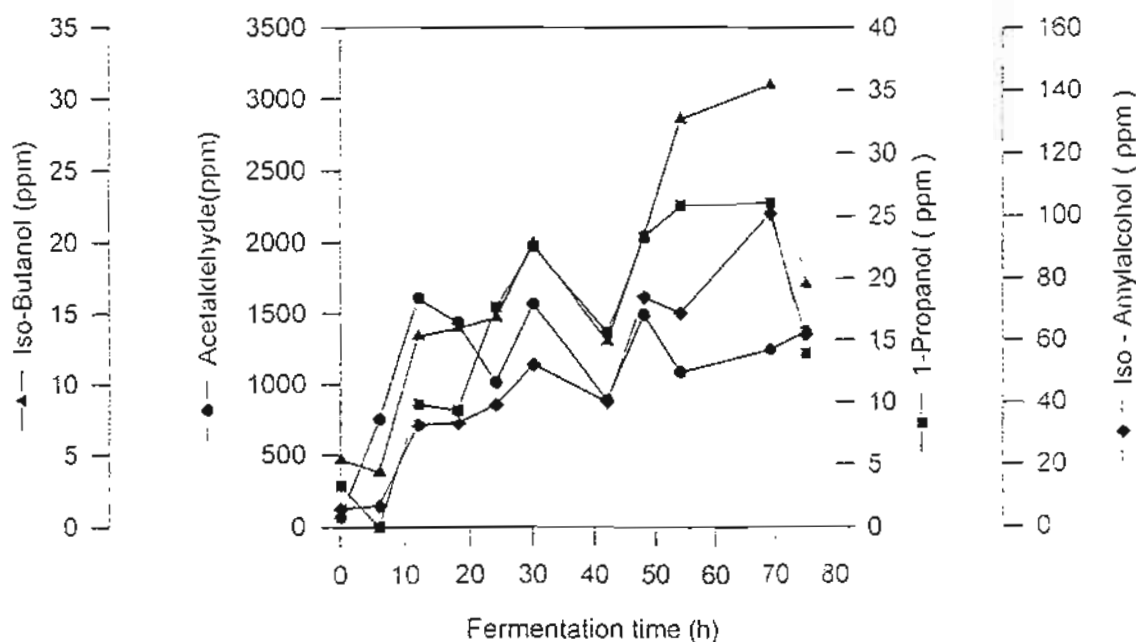


รูปที่ 26. ปริมาณสารเจือปนต่างๆที่เกิดขึ้นในการแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25%

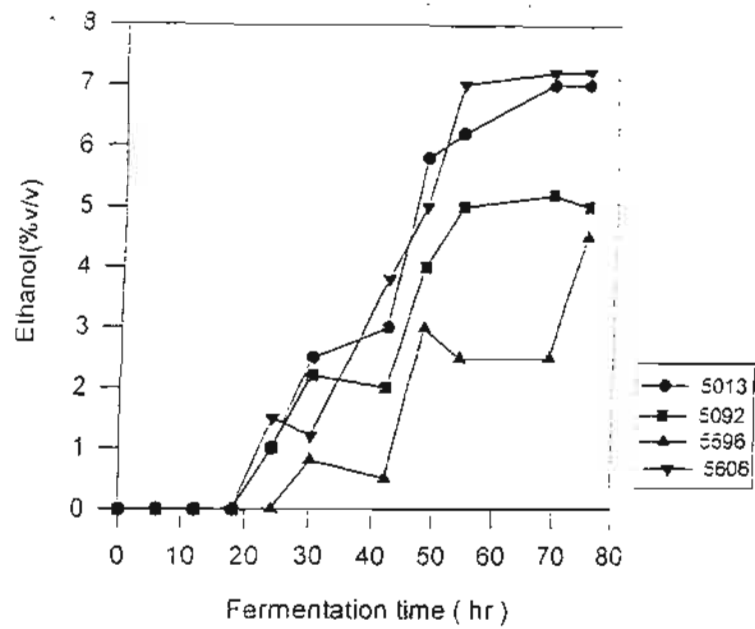
โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5596 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง.



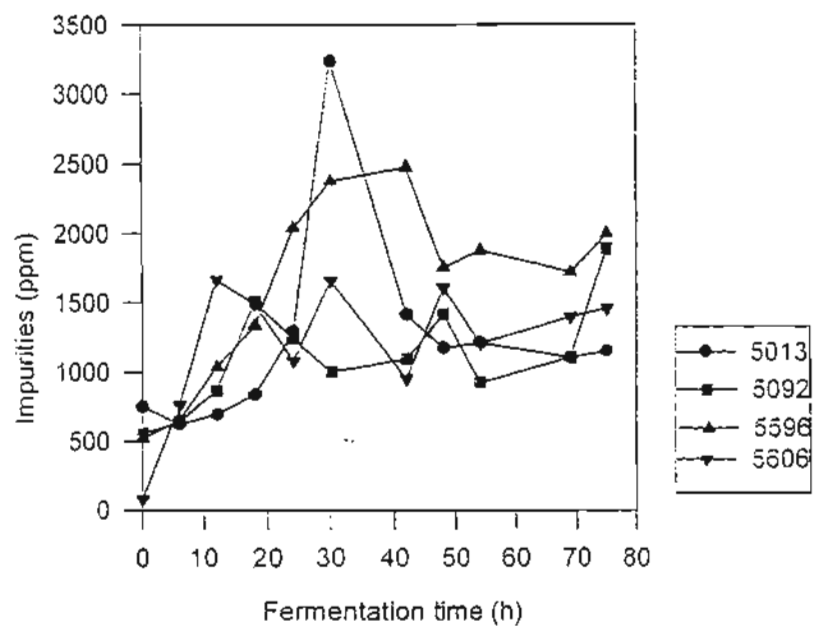
รูปที่ 27. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5606.



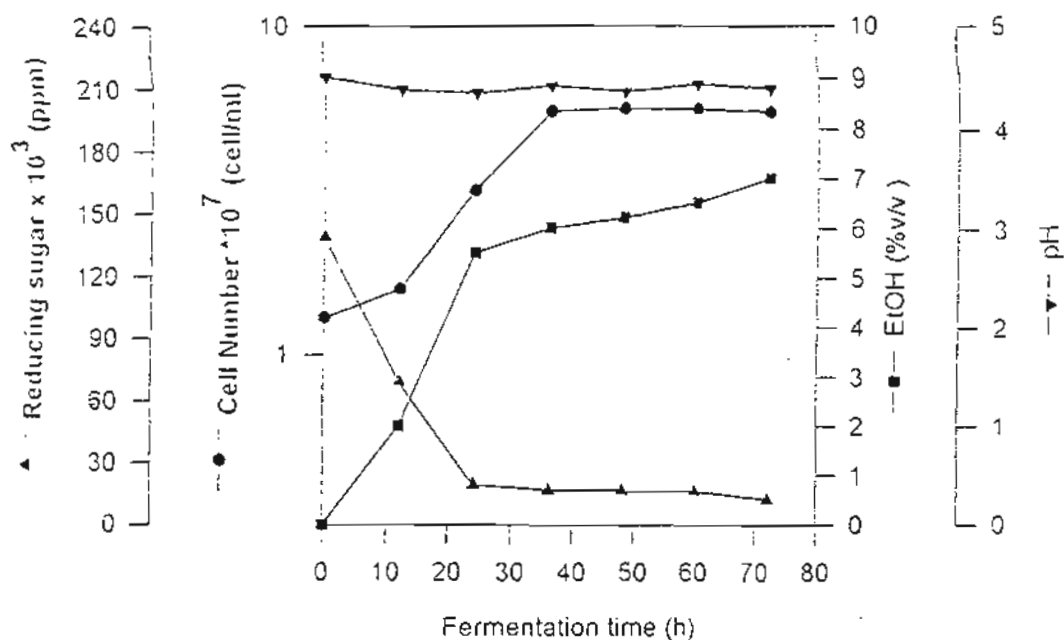
รูปที่ 28. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 75 ชั่วโมง.



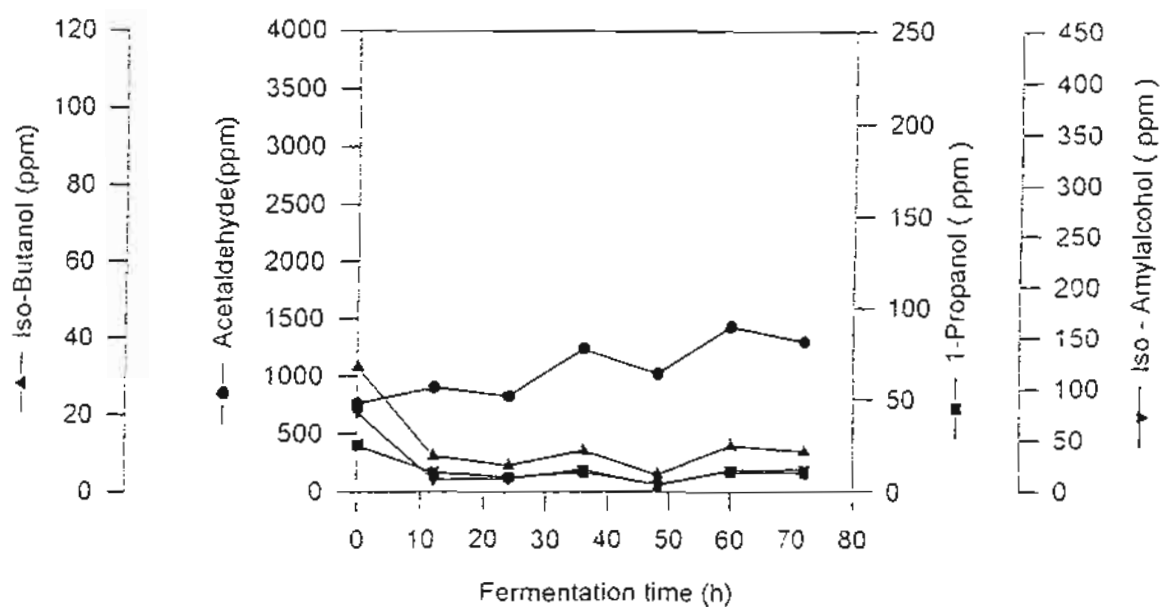
รูปที่ 29. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์.



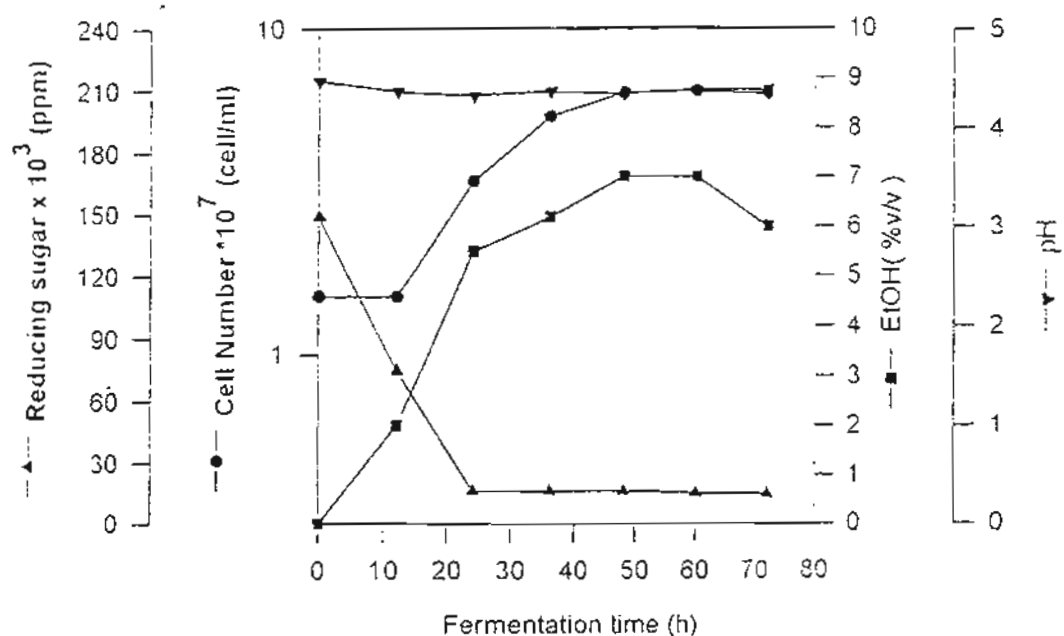
รูปที่ 30. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวม ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 25% โดยใช้เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์.



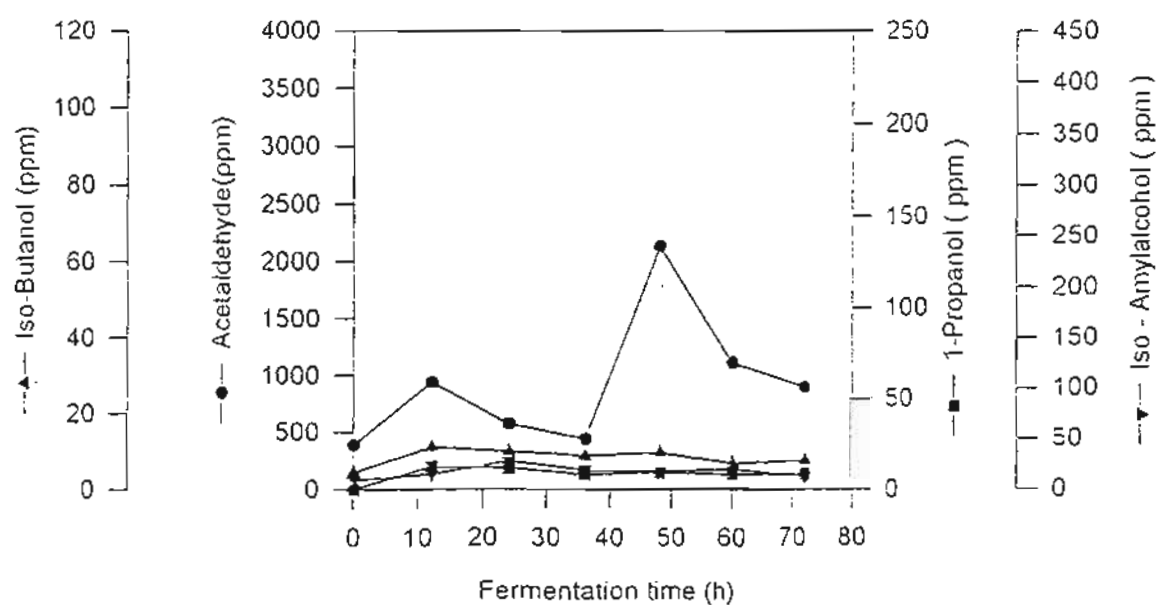
รูปที่ 31. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



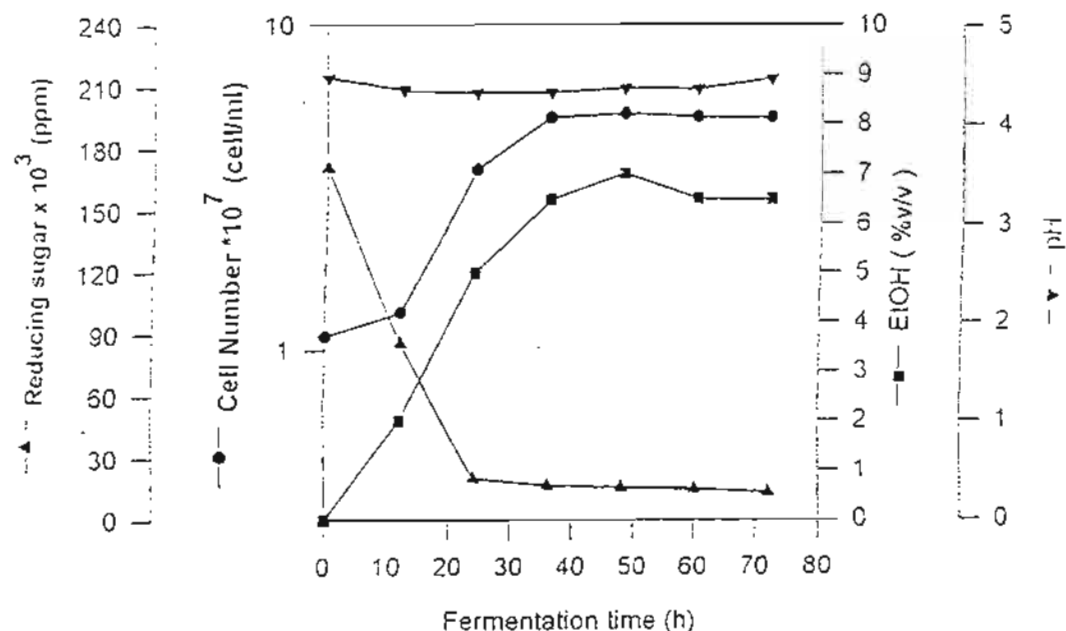
รูปที่ 32. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



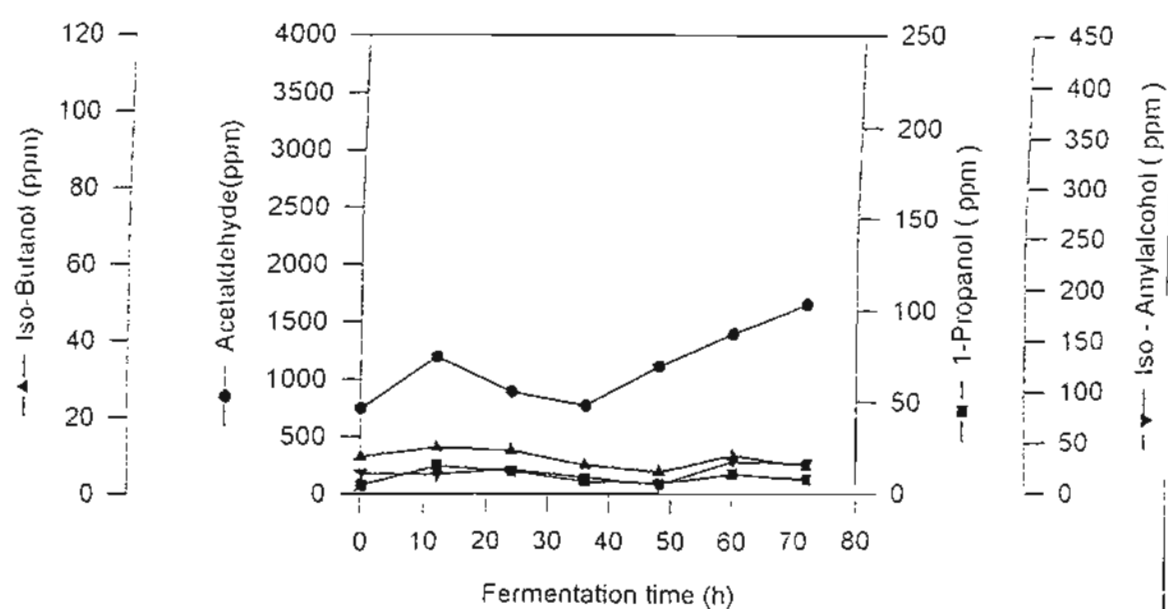
รูปที่ 33. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



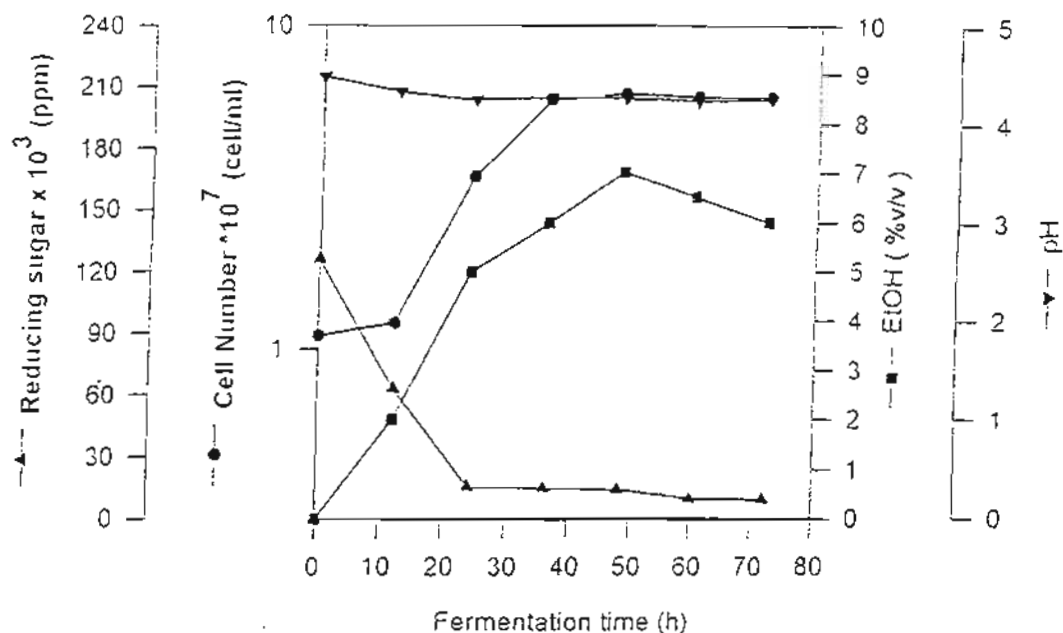
รูปที่ 34. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



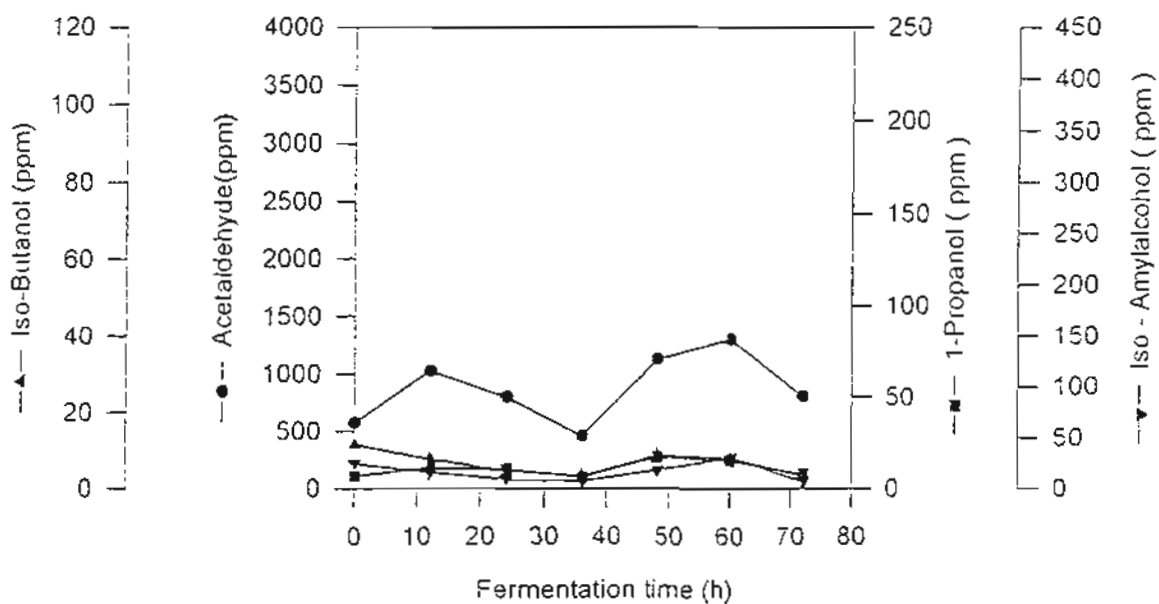
รูปที่ 35. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



รูปที่ 36. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



รูปที่ 37. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



รูปที่ 38. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.

ตารางที่ 8. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ที่ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ความเข้มข้นต่างๆ โดยยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5092 ที่อุณหภูมิห้อง

อุณหภูมิ	pH				ปริมาณน้ำตาล(Brix)				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์($\times 10^3$ ppm)				จำนวนเซลล์($\times 10^7$ cell/ml)				Alcohol (%)			
	AQ	AR	AS	AT	AQ	AR	AS	AT	AQ	AR	AS	AT	AQ	AR	AS	AT	AQ	AR	AS	AT
0	4.49	4.47	4.46	4.47	20	19.5	19.5	19.5	139.31	148.46	170.7	126.34	1.3	1.5	1.1	1.1	0	0	0	0
12	4.39	4.37	4.35	4.33	18.5	18	18	18	69.31	74.46	85.35	63.17	1.6	1.5	1.3	1.2	2	2	2	2
24	4.35	4.32	4.31	4.24	16	16.5	16	16	19.21	16.04	19.8	15.84	3.2	3.4	3.6	3.4	5.5	5.5	5	5
36	4.42	4.37	4.32	4.27	14	14	14.5	14	16.63	16.24	16.63	15.21	5.6	5.4	5.2	5.9	6	6.2	6.5	6
48	4.36	4.33	4.35	4.25	12	12	12	12.5	16.53	16.04	15.45	14.25	5.7	6.3	5.3	6.1	6.2	7	7	7
60	4.44	4.38	4.35	4.23	12	12	12	12	16.44	15.03	14.85	9.9	5.7	6.4	5.2	6	6.5	7	6.5	6.5
72	4.4	4.39	4.46	4.25	12	12	12	12	12.44	14.85	13.26	9.5	5.6	6.3	5.2	6	7	6	6.5	6

หมายเหตุ :

A = *Sac. cerevisiae* TISTR 5092

Q = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0%

R = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03%

S = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05%

T = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีปริมาณ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ แตกต่างกันทั้ง 4 ระดับ พบว่าสารเจือปนต่างๆ ได้แก่ acetaldehyde, 1-propanol, iso-butanol, iso-amylalcohol จะสร้างเพิ่มมากขึ้นในช่วงปลายกระบวนการหมัก ในปริมาณใกล้เคียงกัน (ดังแสดงในตารางที่ 9 และ รูปที่ 40).

สำหรับการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลของสายพันธุ์ TISTR 5092 เมื่อเปรียบเทียบผลการผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงและการสร้างสารเจือปนต่างๆ ในปริมาณต่ำพบว่าในอาหารที่มีการเติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03% เหมาะสมที่สุดต่อการหมักแอลกอฮอล์ จึงเลือกระดับความเข้มข้นนี้เพื่อทำการศึกษาคต่อไป (ดังแสดงในรูปที่ 39 และ 40).

ส่วนผลของความเข้มข้นของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่มีต่อการหมักแอลกอฮอล์ของสายพันธุ์ TISTR 5606 (แสดงในตารางที่ 10) พบว่าระดับความเข้มข้น 0.03% สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุดคือ 7% ที่ชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก (รูปที่ 43), รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0%, 0.05% และ 1% โดยวัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 6.5, 6.5 และ 6% ตามลำดับ (ดังแสดงในรูปที่ 41, 45 และ 47).

เมื่อพิจารณาในระหว่างกระบวนการหมักของสายพันธุ์ TISTR 5606 ค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก โดยจะอยู่ในช่วง pH 4.2-4.5 เชื้อมีการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมง แรกและจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น $(1.1-1.5) \times 10^7$ cell/ml เจริญเข้าสู่ stationary phase หลังจาก 36 ชั่วโมง ของการหมัก โดยปริมาณสูงสุดเท่ากับ $(5.2-6.3) \times 10^7$ cell/ml และพบว่า $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ในช่วง 0-0.05% ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ (ดังแสดงในรูปที่ 41 ถึงรูปที่ 47).

เมื่อวัดปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ของอาหารกากน้ำตาลและมี $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่ 4 ระดับความเข้มข้นคือ 0, 0.03, 0.05 และ 0.1% พบว่ามีปริมาณสารเจือปนต่างๆ เกิดขึ้นสูงสุดที่ชั่วโมง 36 ของการหมัก (ดังแสดงในรูปที่ 50) โดยมีการสร้างสารเจือปนอยู่ในช่วง 0.10-0.16%. ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงสุด โดยมีการเติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ในปริมาณน้อยที่สุด มีสารเจือปนอื่นๆ น้อยเมื่อเทียบกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.03% เหมาะสมที่สุด ในการศึกษาขั้นต่อไป ดังแสดงการเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล และปริมาณสารอื่นๆ ที่เกิดขึ้นจากเชื้อยีสต์ TISTR 5606 (ดังแสดงในรูป 49 และ 50).

ตารางที่ 9. ปริมาณสารเจือปนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ TISTR 5092 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ที่มี $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

ความเข้มข้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	AQ (ppm)				AR (ppm)				AS (ppm)				AT (ppm)			
	Acetaldehyde	I-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH	Acetaldehyde	I-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH	Acetaldehyde	I-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH	Acetaldehyde	I-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH
0	762.03	25.16	32.41	77.58	388.48	0.00	4.42	8.96	748.86	4.93	9.79	20.66	574.48	6.71	11.46	24.55
12	896.60	10.21	9.13	11.60	936.48	12.18	11.08	15.01	1190.02	14.95	12.03	18.22	1022.1	10.84	7.53	15.13
24	834.42	7.76	6.78	12.89	568.78	11.23	9.84	27.28	885.63	12.01	11.22	23.42	792.65	10.11	4.65	9.29
36	1234.42	10.33	10.67	21.62	434.53	7.84	8.66	18.83	768.36	6.7	7.51	16.13	458.06	6.16	3.27	6.94
48	1020.08	3.96	4.50	6.14	1126.24	9.11	9.75	17.56	1113.45	5.67	5.81	9.39	1132.16	17.23	8.84	18.35
60	1427.74	10.87	12.09	21.53	1107.93	8.20	6.80	19.86	1393.11	10.91	10.13	32.03	1298.65	15.02	7.8	29.89
72	1295.58	10.07	10.07	22.02	896.94	8.23	7.65	12.58	1653.37	7.74	7.24	29.74	808.46	7.85	3.37	7.37

หมายเหตุ :

A = *Sac. cerevisiae* TISTR 5092

Q = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0%

R = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03%

S = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05%

T = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%

ตารางที่ 10. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ที่ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5606 ที่อุณหภูมิห้อง

ร.ม.เชื้อ	pH				ปริมาณน้ำตาล(Brix)				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(*10 ³ ppm)				จำนวนเซลล์(*10 ⁷ cell/ml)				Alcohol (%)			
	BQ	BR	BS	BT	BQ	BR	BS	BT	BQ	BR	BS	BT	BQ	BR	BS	BT	BQ	BR	BS	BT
0	4.51	4.5	4.46	4.47	20	19.5	19.5	20	157.62	165.94	137.22	144.96	1.1	1.5	1.5	1.3	0	0	0	0
12	4.4	4.4	4.32	4.33	18	18.5	18.5	18	78.81	82.97	45.74	48.32	1.7	1.2	1	1.2	1.5	1	2	1
24	4.37	4.35	4.3	4.22	16.5	16.5	16	16	24.75	30.69	22.77	19	3.2	3.5	3.4	3.2	4.5	5	6	5.5
36	4.4	4.36	4.31	4.24	14.5	14.5	14.5	14	16.24	16.83	17.82	17.62	5.3	5.6	5.2	4.9	6.5	6.5	6.5	5.5
48	4.38	4.35	4.3	4.2	12.5	12	12	12	15.64	16.43	17.5	12.08	5.2	5.7	6.3	5.6	6.5	7	6.5	6
60	4.4	4.39	4.33	4.27	12	12	12	12	10.89	14.26	16.63	9.9	5.2	5.5	6.2	5.6	6.5	7	7	6.5
72	4.4	4.39	4.35	4.27	12	12	12	12	7.33	11.09	16.1	8.71	5.2	5.4	6.1	5.6	6.5	6	7	6

หมายเหตุ :

B = *Sac. cerevisiae* TISTR 5606

Q = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0%

R = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03%

S = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05%

T = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%

ตารางที่ 11. ปริมาณสารเจือปนที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเชื้อยีสต์ TISTR 5606 ในกากน้ำตาลที่มีความหวาน 20% Brix ที่มี $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

ความเข้มข้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	BQ (ppm)				BR (ppm)				BS (ppm)				BT (ppm)			
	Acetaldehyde	1-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH	Acetaldehyde	1-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH	Acetaldehyde	1-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH	Acetaldehyde	1-Propanol	Iso-BuOH	Iso-AmOH
0	965.16	6.35	9.40	30.02	565.29	3.10	5.28	15.39	1039.44	6.87	11.9	35.89	486.77	4.07	6.28	20.18
12	1016.80	8.60	12.31	12.15	886.78	9.47	14.24	17.37	1041.53	13.91	8.86	31.4	1210.2	16.97	10.1	14.57
24	1239.33	9.24	10.53	28.70	1287.82	10.02	9.88	25.03	1252.42	11.85	9.66	26.59	1350.1	11.33	5.3	11.19
36	1626.85	9.63	9.86	33.85	1519.67	7.61	7.35	19.76	1537.57	9.37	8.46	24.21	1168.43	24.69	11.33	29.4
48	1347.70	9.07	11.62	32.82	1143.72	9.92	9.51	26.73	1017.79	14.45	13.68	43.66	1096.85	16.76	7.21	14.92
60	1024.99	3.13	3.53	6.92	1224.58	2.82	3.10	6.13	993.79	4.94	3.95	15.89	1038.7	23.06	10.1	36.9
72	400.86	0.00	1.35	3.19	1042.37	7.47	7.31	18.60	1305.54	5.92	5.63	15.53	1028.07	3.09	1.29	2.78

หมายเหตุ :

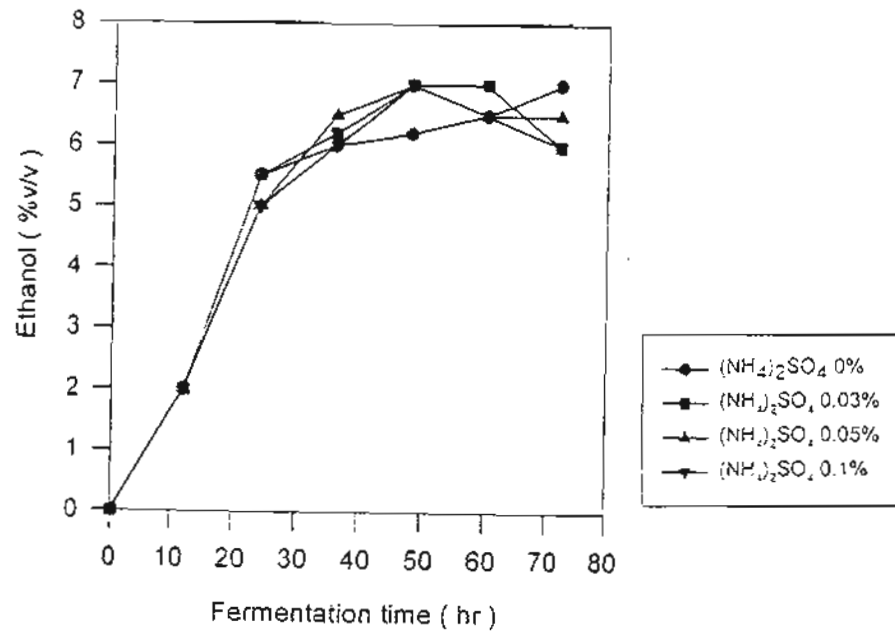
B = *Sac. cerevisiae* TISTR 5606

Q = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0%

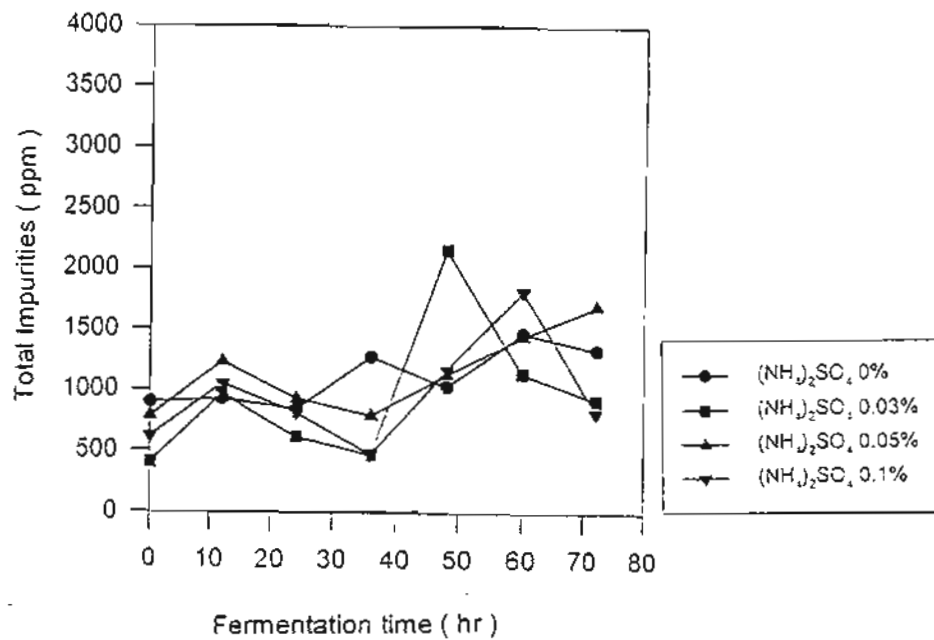
R = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03%

S = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05%

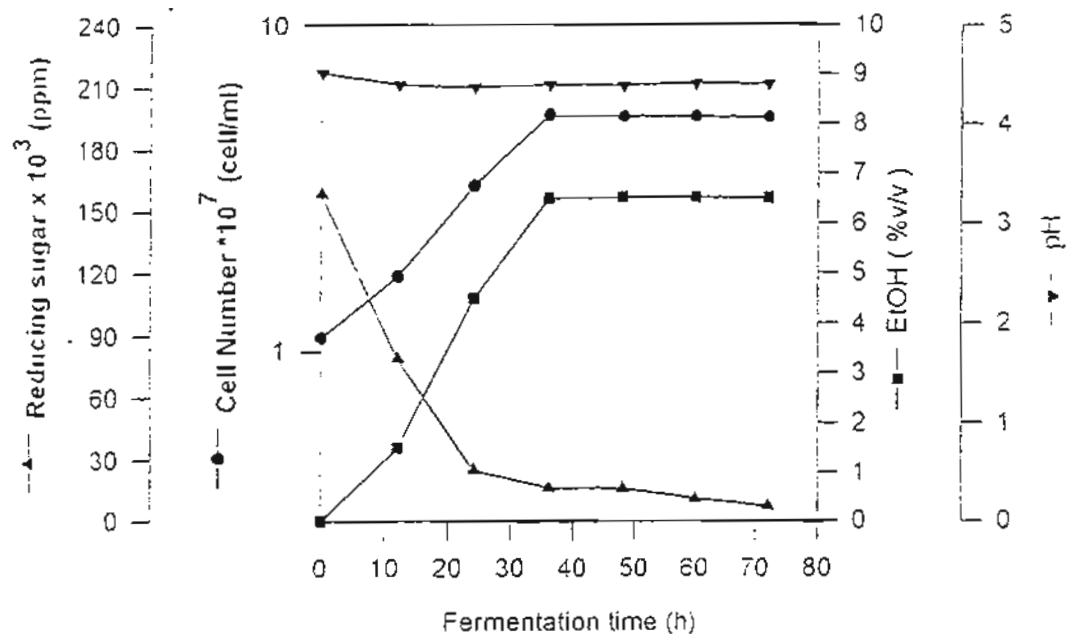
T = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%



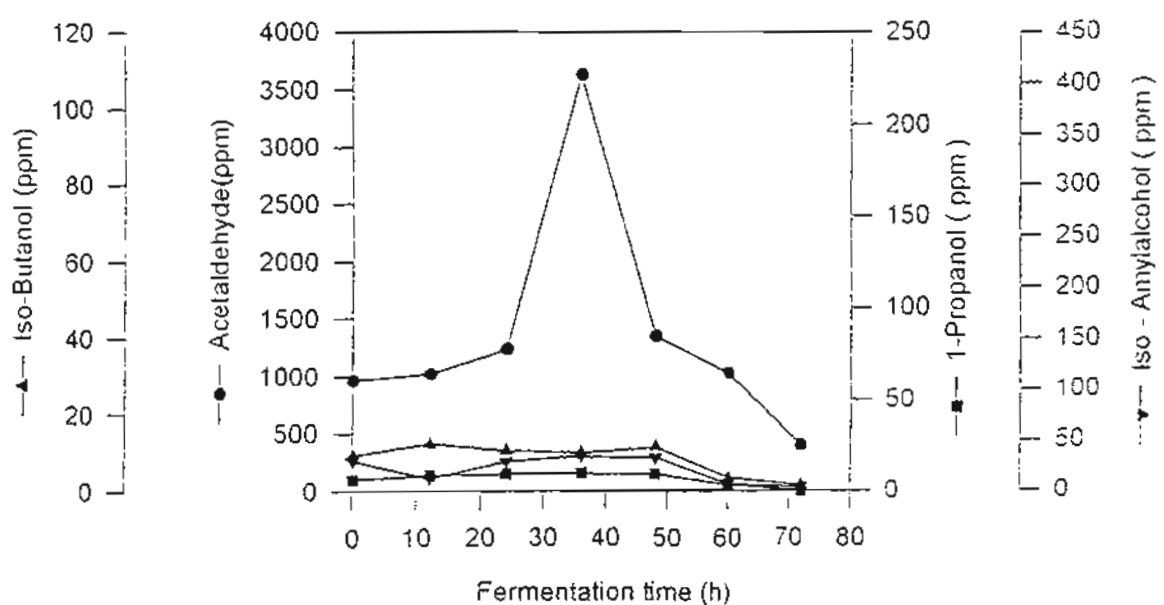
รูปที่ 39. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ % (NH₄)₂SO₄ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



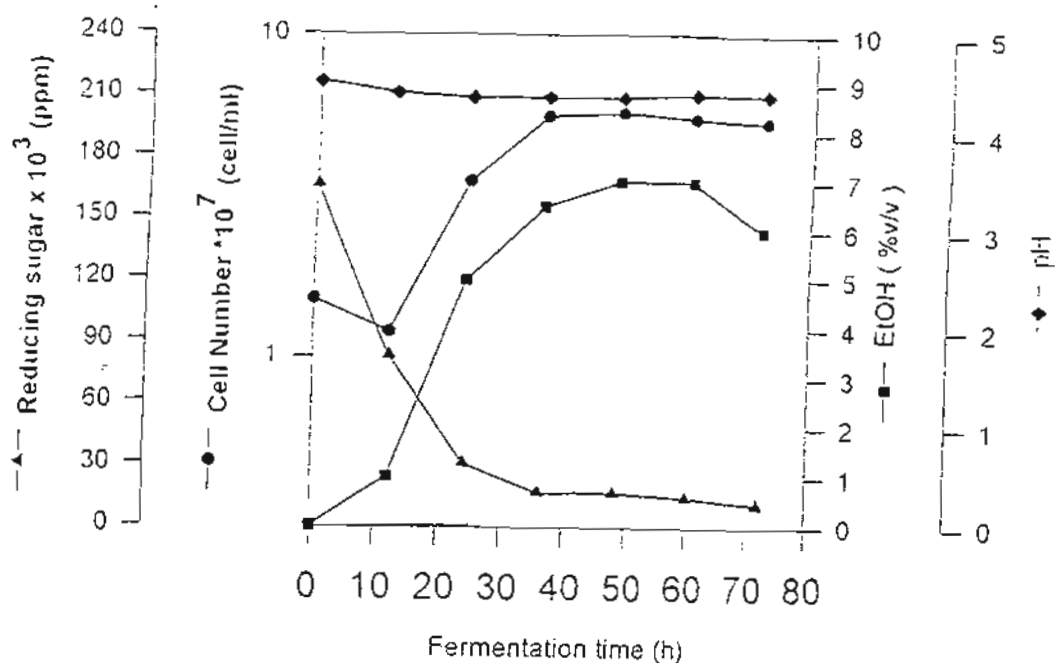
รูปที่ 40. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ % (NH₄)₂SO₄ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



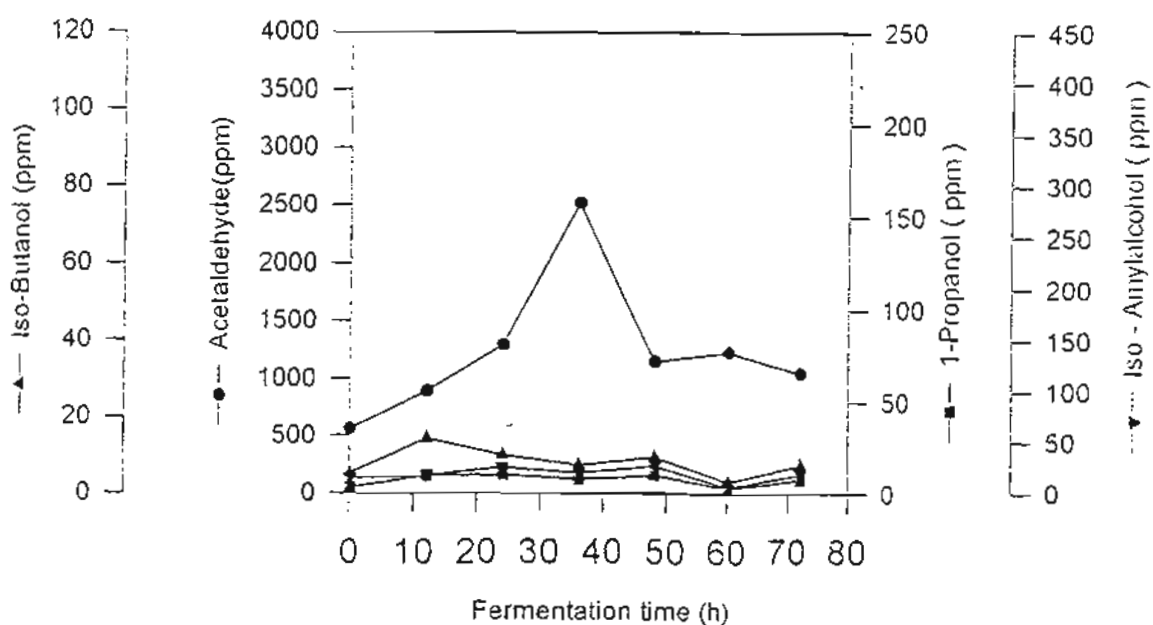
รูปที่ 41. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix (NH_4) $_2$ SO $_4$ 0% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



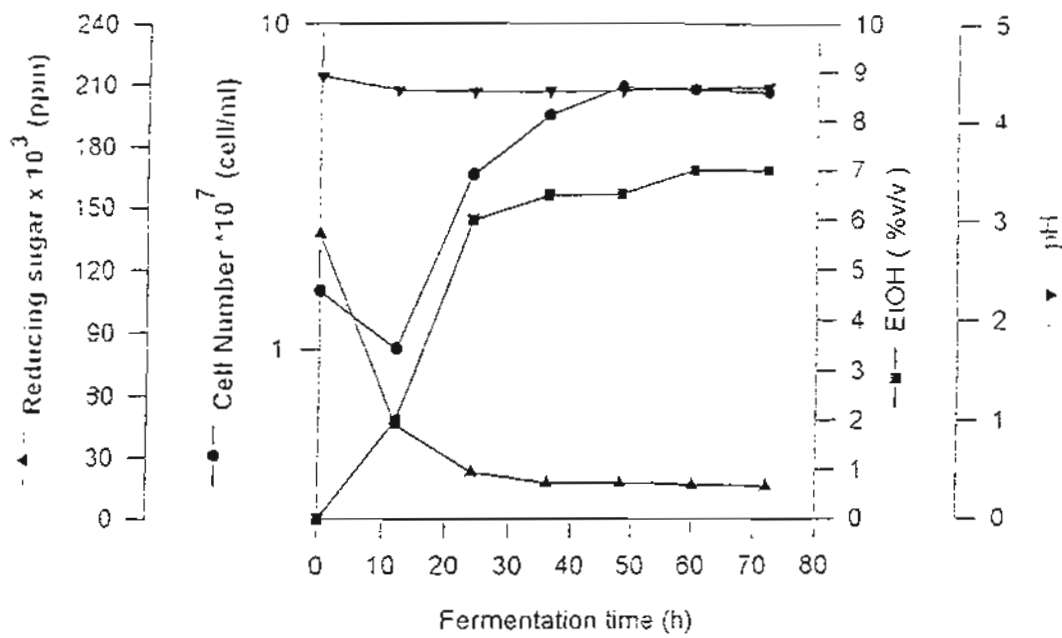
รูปที่ 42. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix (NH_4) $_2$ SO $_4$ 0% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



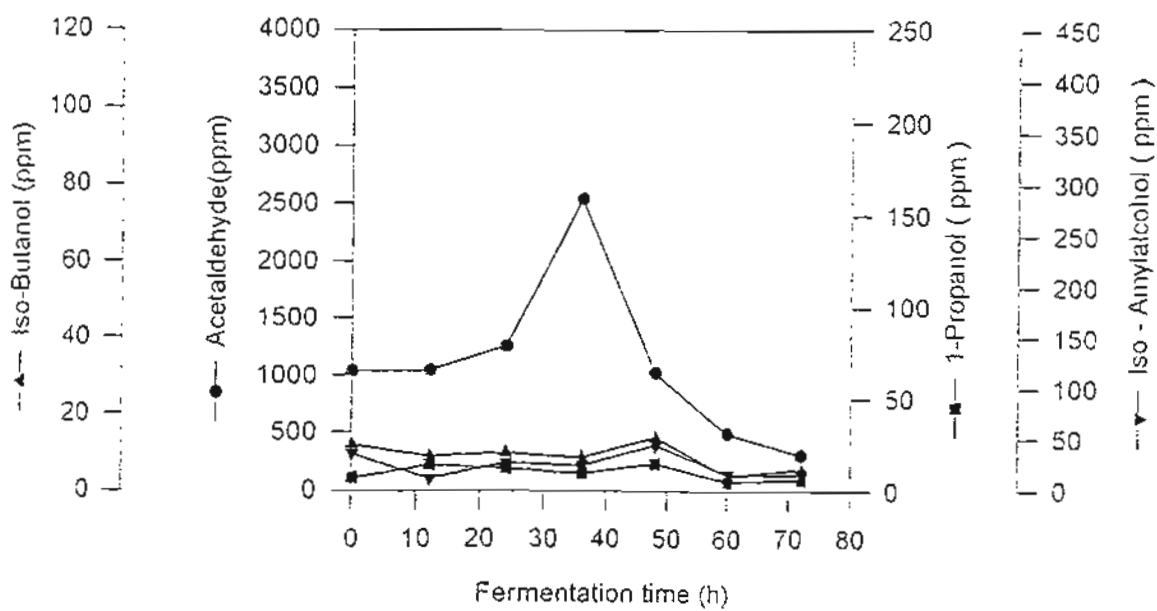
รูปที่ 43. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



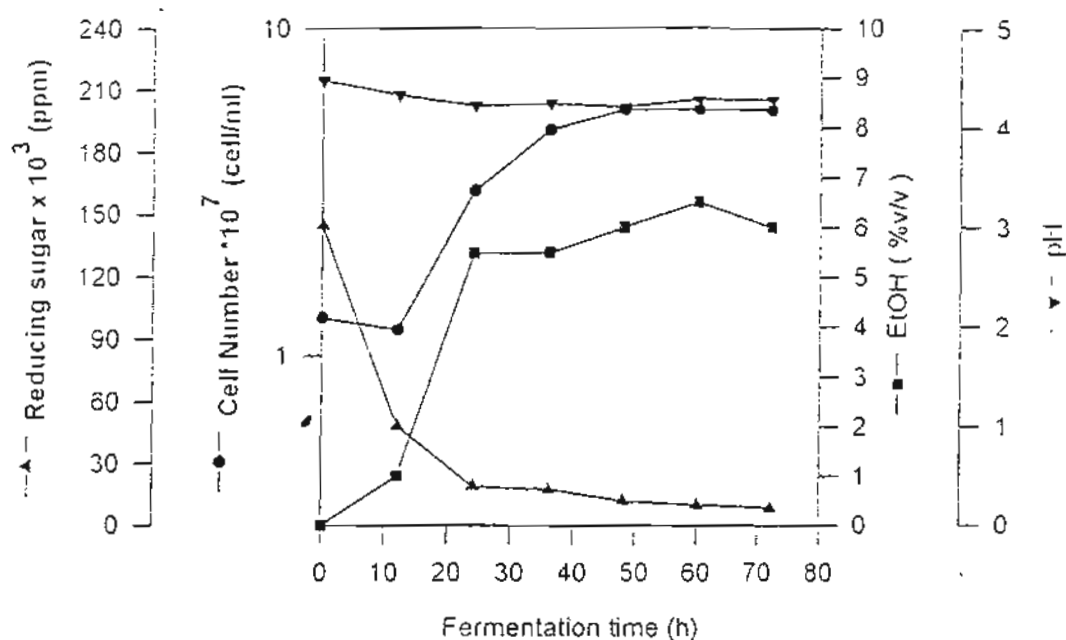
รูปที่ 44. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



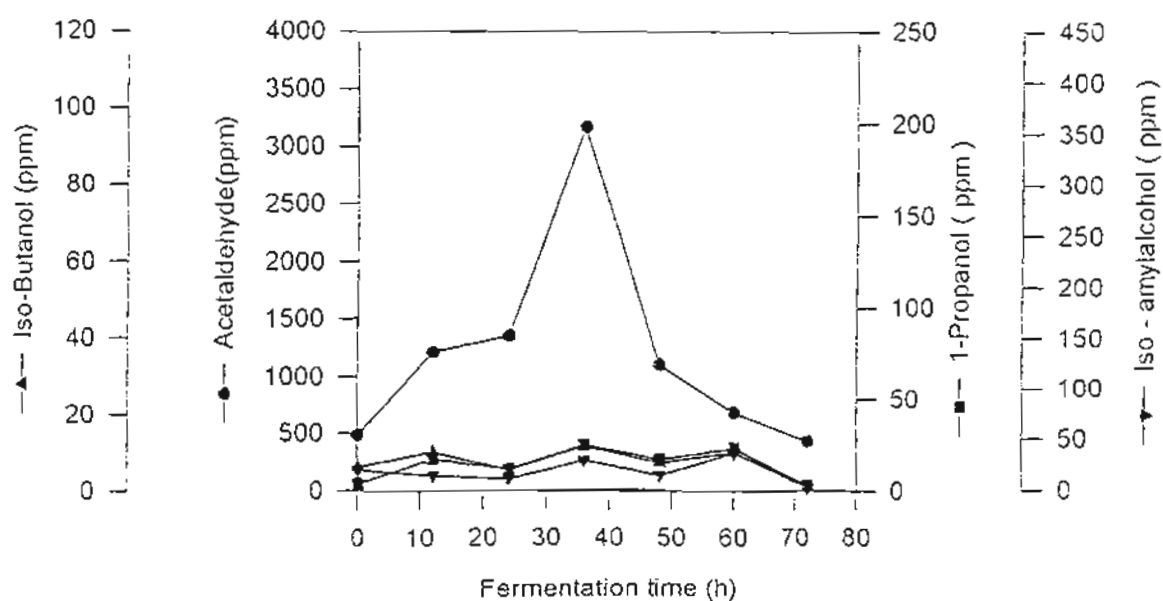
รูปที่ 45. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix (NH₄)₂SO₄ 0.05% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



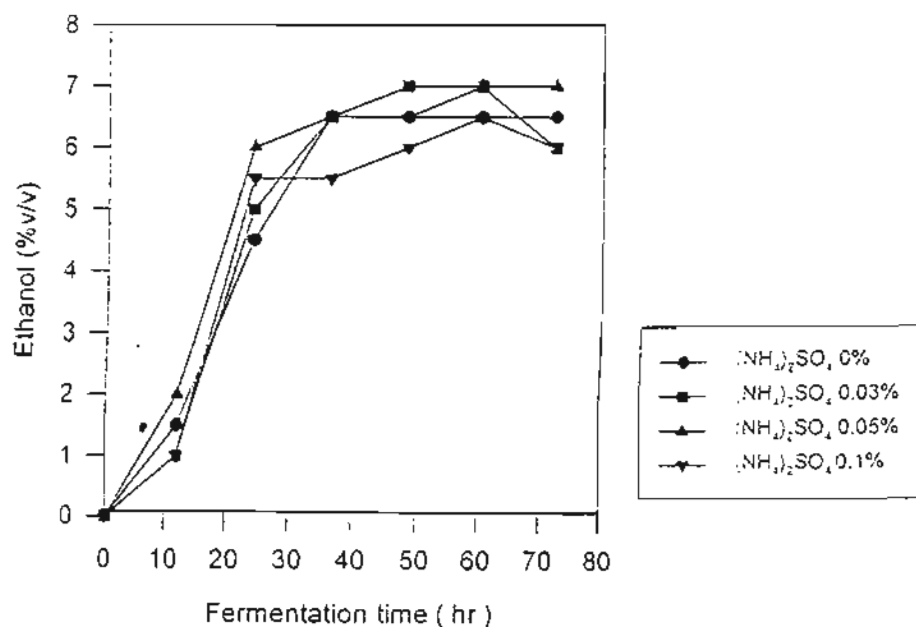
รูปที่ 46. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix (NH₄)₂SO₄ 0.05% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



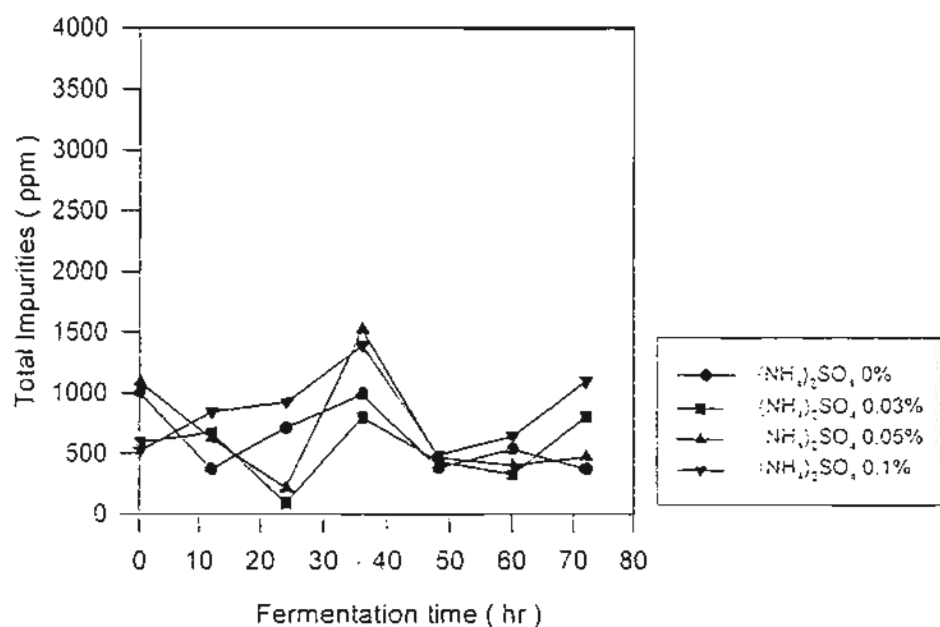
รูปที่ 47. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



รูปที่ 48. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1% โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



รูปที่ 49. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix % (NH₄)₂SO₄ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.



รูปที่ 50. การเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวมที่เกิดขึ้น ระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 20% Brix % (NH₄)₂SO₄ ต่างๆ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606.

2.3.4 ผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่มีต่อการเกิดสารเชื้อปนต่างๆ ในการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5092 และ TISTR 5606

ผลการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลโดยปรับระดับ pH เริ่มต้นของอาหารก่อน ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ pH 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5, พบว่าสายพันธุ์ 5092 ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุดที่ระดับ pH 4.5 ชั่วโมงที่ 48 โดยวัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 7% (ตารางที่ 12) รองลงมาคือที่ระดับ pH 5.5, 6.5 และ 7.5 โดยวัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 7, 6, 6% และ ตามลำดับ (รูปที่ 51 ถึง 57).

ในระหว่างกระบวนการหมักเมื่อเปรียบเทียบการเจริญของยีสต์ที่ระดับ pH ต่างๆ จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ 5092 เจริญได้ดีที่ pH 5.5 เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือภายใน 48 ชั่วโมงจะต่ำลง โดยวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 28.4×10^3 ppm (รูปที่ 53) และมีจำนวนเซลล์สูงสุด 10.7×10^7 cell/ml.

เมื่อตรวจวัดปริมาณสารเชื้อปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักในอาหารที่มี pH เริ่มต้นเท่ากับ 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5 (รูปที่ 52 ถึง 58) จะเห็นได้ว่าปริมาณสารเชื้อปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกัน แต่จะมีแนวโน้มว่าเมื่อค่า pH เท่ากับ 4.5 ในการหมักแอลกอฮอล์กับสายพันธุ์ TISTR 5092 สร้างแอลกอฮอล์ได้สูงและมีปริมาณสารเชื้อปนต่ำ (ดังรูปที่ 51 และ 52).

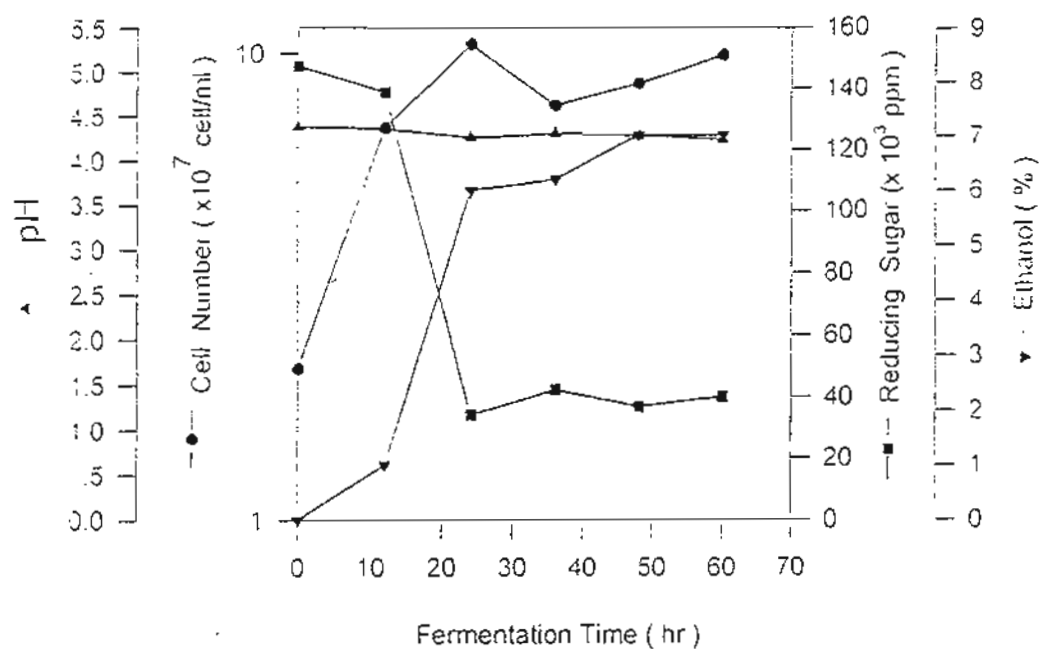
สำหรับสายพันธุ์ TISTR 5606 เมื่อวัดปริมาณแอลกอฮอล์ โดยเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH เริ่มต้นของอาหารก่อนนึ่งฆ่าเชื้อต่างๆ คือ 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5 (ตารางที่ 12) พบว่าสายพันธุ์ 5606 ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่ pH 4.5 และ pH 5.5 เนื่องจากวัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 7% ภายใน 36 ชั่วโมง (รูปที่ 61 และ 63) และเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์จะลดลง (รูปที่ 69).

เมื่อพิจารณาในระหว่างกระบวนการหมักเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH 5.5 จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่น้อยที่สุด โดยวัดได้ 22.97×10^3 ppm ภายใน 60 ชั่วโมง และตรวจนับปริมาณของเซลล์ได้สูงสุดที่ 13.7×10^7 cell/ml (รูปที่ 63).

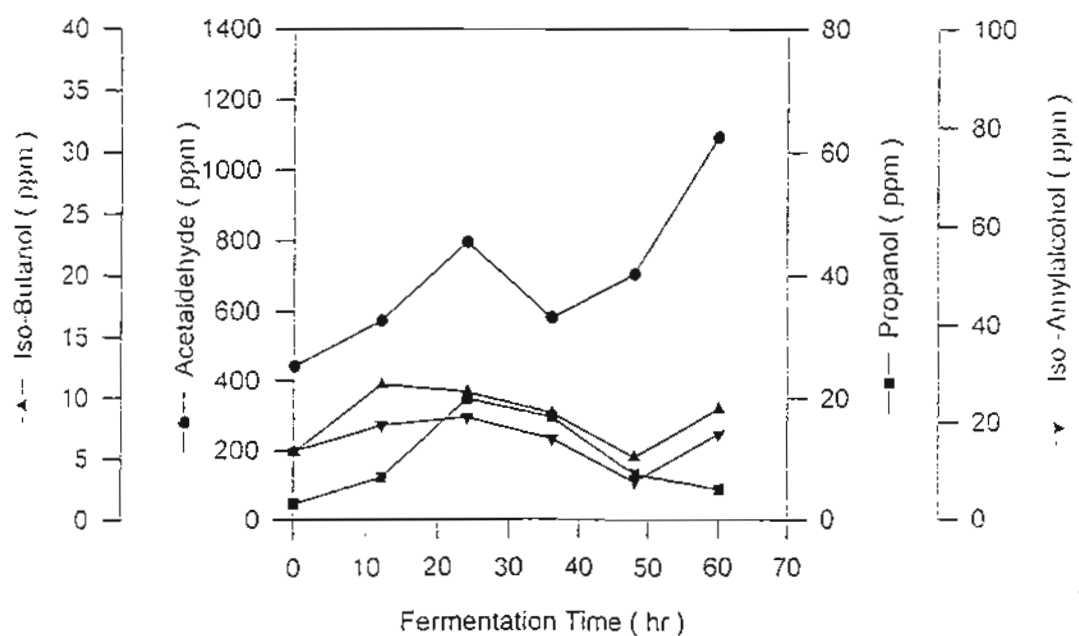
ระหว่างกระบวนการหมักปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pH 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5 (รูปที่ 62 ถึง 70), พบว่าปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นมีปริมาณใกล้เคียงกัน และค่า pH ที่วัดได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดในระหว่างกระบวนการหมักจะค่อนข้างคงที่ โดยจะเปลี่ยนแปลงน้อยมากในระหว่างการทดลอง.

ดังนั้นจากผลการทดลองจึงพิจารณาเลือกค่า pH 4.5 ใช้เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการหมักแอลกอฮอล์ เนื่องจากเป็นสภาวะที่ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูง และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกากน้ำตาล 20% Brix จะมีค่า pH ใกล้เคียงกับ pH 4.5 โดยไม่ต้องปรับจึงเป็นสภาวะที่สะดวก ประหยัด และเหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ต่อไป.

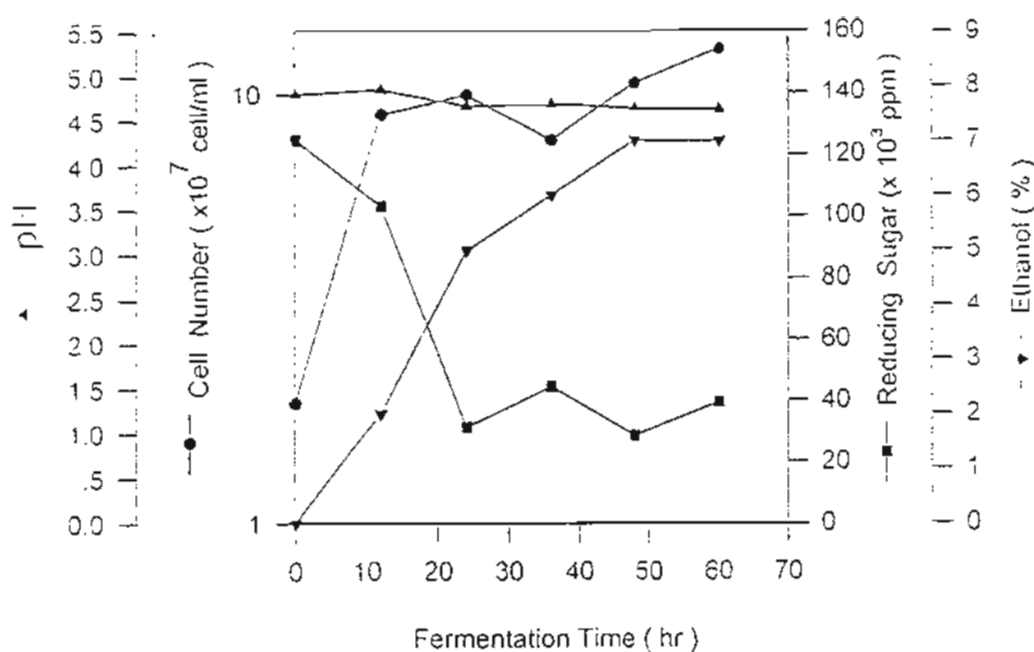
เมื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์ 5606 และ 5092 ที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ โดยดูจากอัตราเร็วในการผลิต, ปริมาณแอลกอฮอล์, และปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้น พบว่าสายพันธุ์ 5606 สามารถผลิตแอลกอฮอล์สูงสุดได้เร็วกว่าสายพันธุ์ 5092 และมีแนวโน้มในการสร้างสารเจือปนน้อยกว่า (ตารางที่ 12 ถึง 15), จึงเลือกใช้สายพันธุ์ 5606 ในการศึกษาผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักต่อไป.



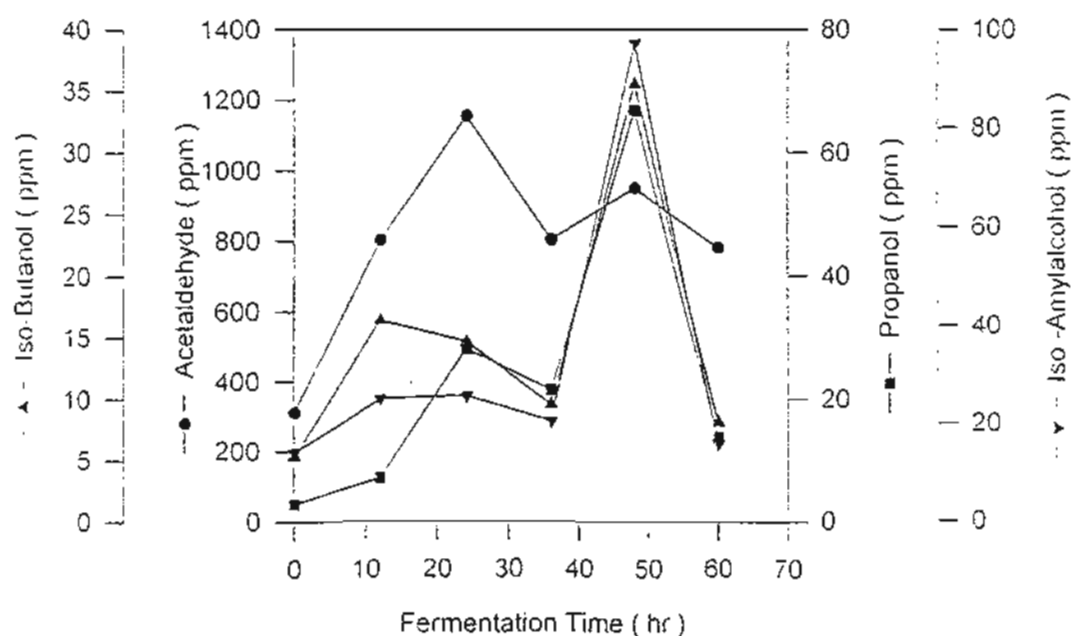
รูปที่ 51. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 4.5 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



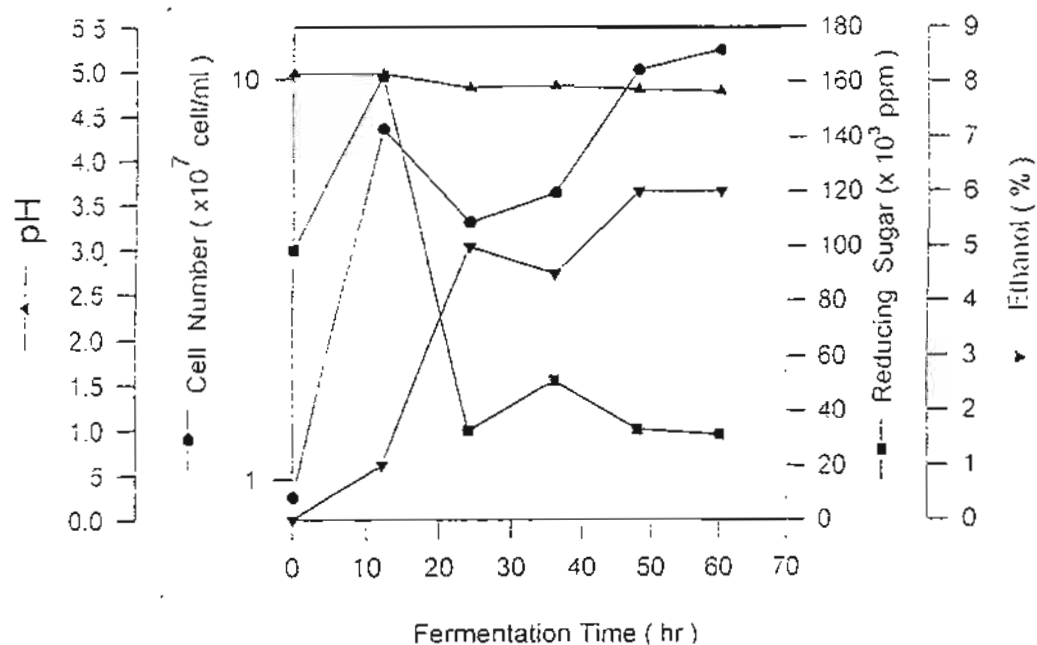
รูปที่ 52. ปริมาณสารเจือปนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 4.5 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



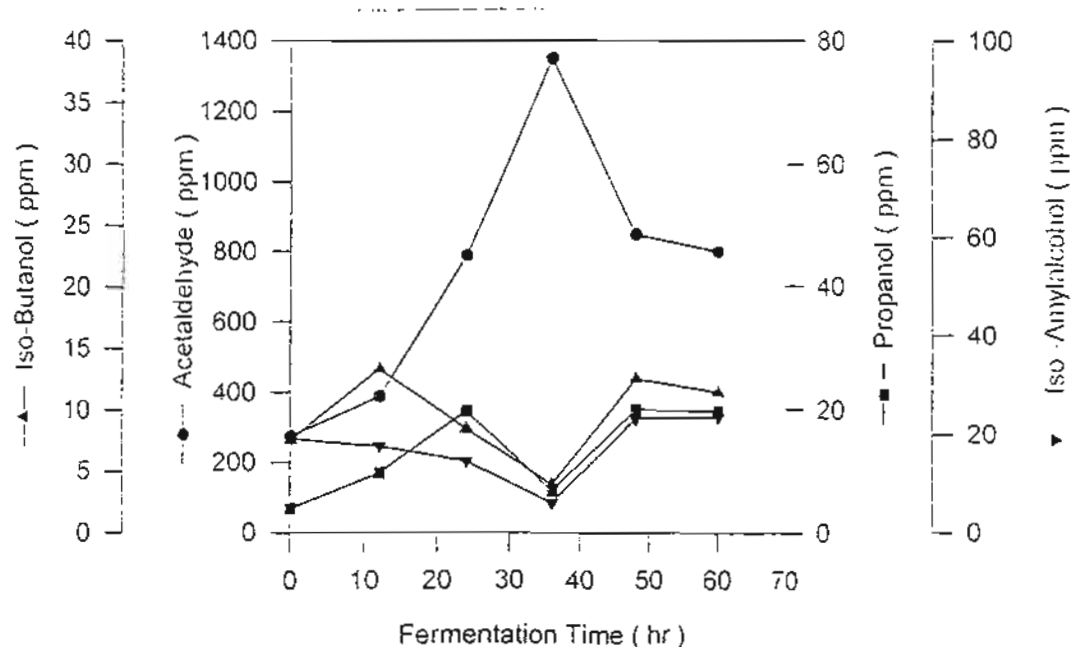
รูปที่ 53. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 5.5 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



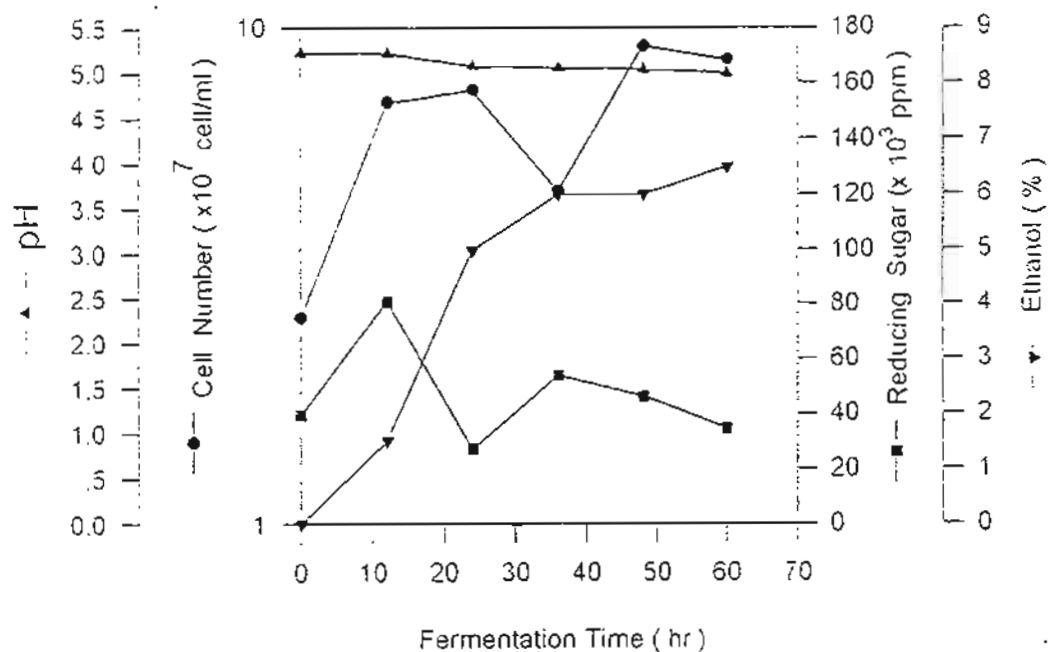
รูปที่ 54. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 5.5 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



รูปที่ 55. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 6.5 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.

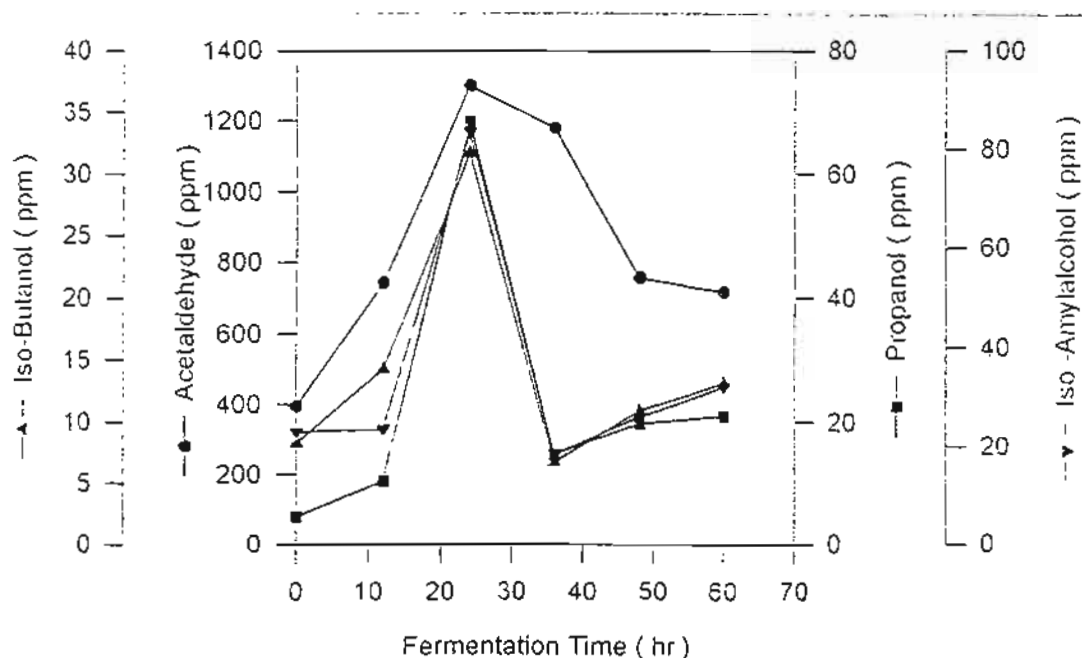


รูปที่ 56. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 6.5 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



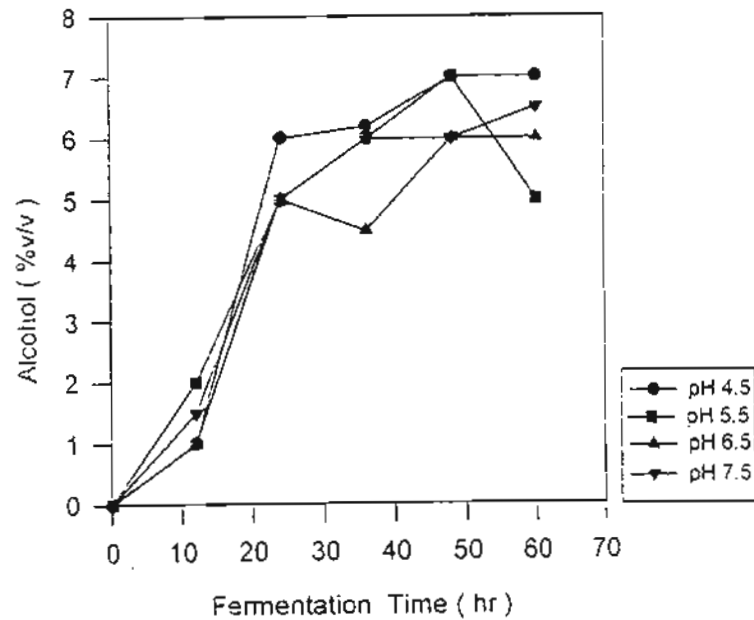
รูปที่ 57. การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix pH 7.5 โดยใช้เชื้อ

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5092.

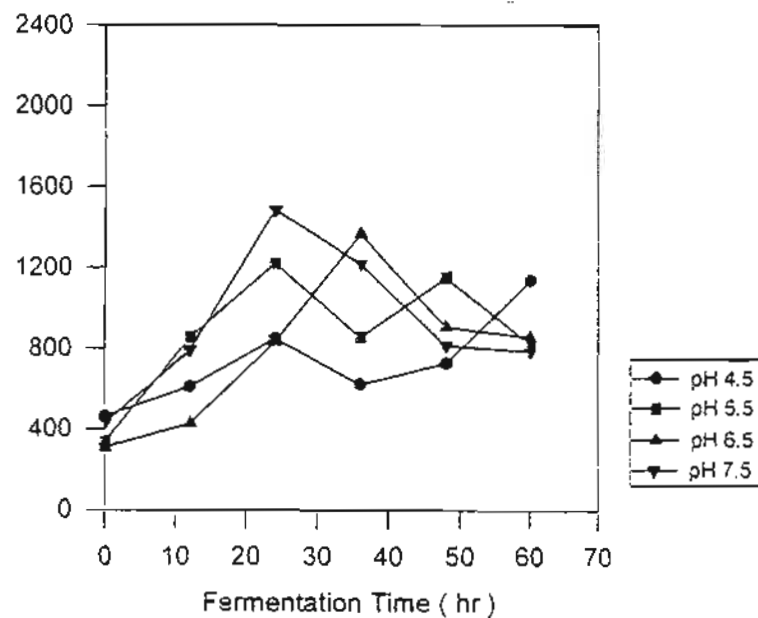


รูปที่ 58. ปริมาณสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20%

Brix pH 7.5 โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



รูปที่ 59. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ pH ต่างๆ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.



รูปที่ 60. กราฟเปรียบเทียบปริมาณสารเจือปนรวม ที่เกิดขึ้นในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 20% Brix ที่ pH โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5092.