

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการ การประเมินศักยภาพของน้ำตาลทรายดิบ เพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล

โดย
ผศ.ดร. ประกิจ สุขไย

กรกฎาคม 2559

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการ
การประเมินศักยภาพของน้ำตาลทรายดิบ
เพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล

โดย
ผศ.ดร. ประกิต สุขไย

กรกฎาคม 2559

บทสรุปผู้บริหาร

อุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทราย เป็นอุตสาหกรรมที่สำคัญของประเทศไทย โดยการผลิตน้ำตาลทรายจะเป็นการผลิตจากอ้อย ซึ่งถือว่าอ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยมีการใช้ประโยชน์จากน้ำตาลทั้งด้านอุปโภคและบริโภคภายในประเทศ รวมถึงเป็นสินค้าส่งออกที่สร้างรายได้เข้าประเทศเป็นอย่างมาก ทำให้อุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลจากอ้อยเติบโตอย่างรวดเร็ว รวมไปถึงความต้องการน้ำตาลทั้งในระดับอุตสาหกรรมและระดับครัวเรือนที่เพิ่มสูงขึ้นทุกๆปี อย่างไรก็ตาม ราคาน้ำตาลทรายโลกในปัจจุบันมีสภาวะความผันผวน อีกทั้งประเทศไทยยังมีต้นทุนการผลิตน้ำตาลที่สูงกว่าหลายประเทศที่ผลิตน้ำตาลส่งออก แนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันด้านราคาน้ำตาลในตลาดโลกได้ คือ การปรับปรุงการผลิตต่างๆ รวมทั้งนำอ้อยมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น เอทานอล ซึ่งใช้ในการในปัจจุบันมีความต้องการทางด้านพลังงานเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากความต้องการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงมีอย่างไม่จำกัด ทำให้ต้องมีการนำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงจากต่างประเทศเพิ่มมากขึ้น

ดังนั้น จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การศึกษาและการประเมินศักยภาพของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล โดยประกอบด้วยการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล (ได้แก่ ความเข้มข้นน้ำตาลทรายดิบ, ชนิดและความเข้มข้นแหล่งไนโตรเจน) ในระดับฟาสก์ปริมาตร 500 มิลลิตร และศึกษาการผลิตในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้สภาวะจากการศึกษาเบื้องต้นในระดับฟาสก์ จากนั้น ศึกษาการผลิตในระดับถังหมักขนาด 50 ลิตร เพื่อใช้ประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของน้ำตาลทรายดิบในการผลิตเอทานอล เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและต้นแบบในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ โดยในส่วนของการศึกษาและการประเมินศักยภาพของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล ประกอบด้วยการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล โดยศึกษาความเข้มข้นน้ำตาลทรายดิบ, ชนิดและความเข้มข้นแหล่งไนโตรเจน โดยศึกษาปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลนั้น เนื่องจากปริมาณของแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญของยีสต์ และการเจริญของยีสต์มีผลต่อการผลิตเอทานอล นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบจะใช้ยีสต์ทางการค้าที่มีการใช้ผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมภายใต้ยี่ห้อ Angle yeast เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่มีการจำหน่ายในระดับอุตสาหกรรมและมีการศึกษาเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล

จากผลการทดลอง พบว่า ที่สภาวะการใช้น้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 24 ร่วมกับการเติมยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.23 น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นแหล่งไนโตรเจนและเติมแหล่งแร่ธาตุ โดยสามารถผลิตเอทานอลได้ สูงสุดที่ร้อยละ 7.57 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่เวลาการหมัก 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองสภาวะอื่น จากนั้น จึงศึกษาขั้นตอนโดยการศึกษาใช้สภาวะดังกล่าว ในการหมักระดับถึงหมักขนาด 5 ลิตร โดยเปรียบเทียบการเติมและไม่เติมอากาศ ซึ่งการเติมอากาศจัดเป็นต้นทุนในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมเช่นกัน จากผลการทดลอง พบว่า สภาวะดังกล่าวที่ศึกษา มีการผลิตเอทานอลของทั้งแบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ หลังจากระยะเวลาผ่านไป 60 ชั่วโมง (โดยแบบไม่เติมอากาศมีปริมาณการผลิตเอทานอลสูงกว่าเล็กน้อย) ประมาณร้อยละ 10.94 น้ำหนักต่อปริมาตร และคงที่จนถึง 60 ชั่วโมง ดังนั้น จากผลการทดลองดังกล่าว สภาวะน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 24 ร่วมกับการเติมยูเรียความเข้มข้น 0.23 เป็นแหล่งไนโตรเจนและเติมแหล่งแร่ธาตุและไม่เติมอากาศ จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการใช้ในการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 50 ลิตร และเพื่อใช้ประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม จากผลการทดลอง พบว่า การผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 50 ลิตร สามารถผลิตเอทานอลได้ 10.99 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่เวลา 36 ชั่วโมง จากนั้น ศึกษาและประเมินราคาต้นทุนของการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 50 ลิตร (Working volume เท่ากับ 30 ลิตร) โดยศึกษาปัจจัยของราคาน้ำตาลทรายดิบ ใน 4 ช่วง ได้แก่ 10, 15, 20 และ 25 บาท ต่อจุดคุ้มทุนในการผลิต โดยถ้าผลิต 1 ลิตร จะมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 15.72, 16.92, 18.12 และ 20.52 บาท ตามลำดับ และต้องจำหน่ายในราคาลิตรละ 25.88, 27.08, 28.28 และ 30.68 บาท ถึงจะคุ้มทุน ตามลำดับ โดยสามารถสรุปได้ว่า ราคาในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบนั้น ราคาน้ำตาลทรายดิบจะเป็นตัวแปรสำคัญต่อต้นทุนในการผลิต จากผลการทดลองดังกล่าว สามารถสรุปได้ว่า การใช้น้ำตาลทรายดิบเพื่อผลิตเอทานอลสามารถผลิตได้ โดยมีปริมาณเอทานอลที่ถูกผลิตได้มากถึง 10.99 น้ำหนักต่อปริมาตร นอกจากนี้ การเลือกสภาวะให้เหมาะสมในการผลิตเอทานอลมีความสำคัญ และเลือกใช้วัตถุดิบที่จำเป็นต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ ซึ่งมีผลต่อราคาต้นทุนในการผลิตเช่นเดียวกัน ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสามารถใช้เป็นต้นแบบหรือทางแนวทางในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ และสามารถต่อยอดพัฒนาการผลิตในระดับอุตสาหกรรมในอนาคต

บทคัดย่อ

จุดประสงค์งานวิจัยนี้ ศึกษาการนำน้ำตาลทรายดิบใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล ได้แก่ ความเข้มข้นน้ำตาลทรายดิบ, ชนิดและความเข้มข้นแหล่งไนโตรเจน และการเติมแหล่งแร่ธาตุในระดับฟอสฟอรัสปริมาณ 500 มิลลิตร และศึกษาการผลิตในระดับถังหมักขนาด 5 และ 50 ลิตร จากผลการทดลอง พบว่า ที่สภาวะการใช้น้ำตาลทรายดิบ ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 24 ร่วมกับการเติมยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.23 น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นแหล่งไนโตรเจนและเติมแหล่งแร่ธาตุ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดที่ร้อยละ 9.65 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่เวลาการหมัก 60 ชั่วโมง จากศึกษาสภาวะการหมักเอทานอลดังกล่าว ในถังหมักขนาด 5 และ 50 ลิตร พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 10.94 และ 10.99 น้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ และศึกษาราคาต้นทุนการผลิตและจุดคุ้มทุนในถังหมักขนาด 50 ลิตร สามารถสรุปได้ว่า ราคาในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบนั้น ราคาน้ำตาลทรายดิบจะเป็นตัวแปรสำคัญต่อต้นทุนในการผลิต

Abstract

The objective of this study was to utilize raw sugar for ethanol production to investigate the optimum condition such as raw sugar concentration, source and concentration of nitrogen and trace element in 500 mL flask scale. The results showed that the concentration of raw sugar at 24 % (w/v) combined with 0.23% (w/v) urea as nitrogen source and presense of trace element showed highest ethanol production around 9.65% (w/v) at 60 h when compared with other conditions. After that, the ethanol production in 5 and 50 L fermenters were investigated using the successful condition from flask scale. The study of ethanol production in 5 and 50 L fermentor showed the ethanol were produced about 10.94% (w/v) and 10.99% (w/v), respectively. The study of economic assessment of ethanol production in 50 L fermentor can be concluded that the cost of ethanol production depended on raw sugar price that represented the important factor directly effected on investment cost of ethanol production.

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	i
สารบัญตาราง	ii
สารบัญภาพ	iv
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลและวิจารณ์	15
สรุปผลการทดลอง	56
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	59

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารที่ได้จากการผลิตเอทานอลโดยยีสต์	6
2	สิ่งทดลองสำหรับแผนการทดลอง 2 ตัวแปรชนิดกำลังสองแบบหมุน	16
3	แผนการทดลองการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลรวมทั้งหมด และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล	17
4	แสดงค่าต่างๆของการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบที่ความเข้มข้นร้อยละ 18, 25, 30 และ 35	22
5	ผลการทดลองการศึกษาค่าผลของความเข้มข้นของน้ำตาล และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล	22
6	สมการถดถอยแบบควบคุมสองตัวแปรที่มีต่อร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตรของเอทานอลและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์	23
7	ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีน้ำตาลทรายดิบและสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เป็นองค์ประกอบ	26
8	แสดงสภาวะการศึกษาหาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำตาลทรายดิบ ความเข้มข้นร้อยละ 24	28
9	การศึกษาค่าผลของแร่ธาตุต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้แหล่งไนโตรเจนต่างๆ	35
10	แสดงสภาวะการทดลองเพื่อการศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร	41
11	เปรียบเทียบกำลังการผลิต	48
12	ราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตต่อหน่วย	48
13	ราคาวัตถุดิบต่อในถังหมักขนาด 50 ลิตร (Working volume 30 ลิตร)	49
14	ต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 50 ลิตร (Working volume = 30 ลิตร) โดยใช้ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ราคาต่างๆ	50

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
1 ผลการศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอล	61
2 การศึกษาการเติมแร่ธาตุ (Trace element) และปริมาณและชนิดของ แหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร	67
3 การศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร (น้ำตาลซูโครสความ เข้มข้น ร้อยละ 24)	69
4 การศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 50 ลิตร	73

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบที่ความเข้มข้นต่างๆที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ Angle yeast	20
2	กราฟพื้นผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบและสารสกัดจากยีสต์ต่อการผลิตเอทานอล	24
3	การผลิตเอทานอลที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 5.0 และอัตราการเขย่า 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	25
4	กราฟแสดงค่าความชื้นที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสถานะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)	30
5	กราฟแสดงค่าความเป็นกรดต่างๆที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสถานะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)	31
6	กราฟแสดงปริมาณเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสถานะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)	31
7	กราฟแสดงปริมาณกลีเซอรอลที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสถานะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)	32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
8	กราฟแสดงค่าอัตราการผลิตเอทานอลต่อเวลา (Productivity) ที่ 72 ชั่วโมง ของแต่ละสภาวะการศึกษาหาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำตาลทรายดิบ ความเข้มข้นร้อยละ 24	32
9	ค่าความขุ่นที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)	37
10	ค่าความเป็นกรดต่างเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)	37
11	ปริมาณเอทานอลเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)	39
12	ปริมาณกลีเซอรอลเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)	40
13	ค่าอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)	40
14	แสดงค่าความขุ่น (optical density) ของการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)	43
15	แสดงค่าความเป็นกรดต่างของการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)	44

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	แสดงปริมาณเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)	44
17	แสดงปริมาณกลีเซอรอลที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)	45
18	กราฟแสดงการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, Urea ร้อยละ 0.23, เติม Trace element, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)	46
19	กราฟแสดงค่าความชื้นและค่าความเป็นกรดต่างที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, Urea ร้อยละ 0.23, เติม Trace element, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)	47
ภาพภาคผนวกที่		
1	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)	62
2	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.23 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)	62
3	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)	63
4	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพภาคผนวกที่		หน้า
5	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)	64
6	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)	64
7	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้สารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)	65
8	การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 24 และสารสกัดยีสต์ร้อยละ 1 และเติมอากาศ	70
9	การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 24 และสารสกัดยีสต์ร้อยละ 1 และไม่เติมอากาศ	70
10	การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 24 และยูเรียร้อยละ 0.23 และเติมอากาศ	71
11	การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 24 และยูเรียร้อยละ 0.23 และไม่เติมอากาศ	71

การประเมินศักยภาพของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล (Potential assessment of raw sugar for ethanol production)

คำนำ

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทรายของไทยเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ และการพัฒนาประเทศ โดยในปีการผลิต 2557/58 ประเทศไทยมีผลผลิตอ้อยเข้าหีบประมาณ 106 ล้านตัน ซึ่งสามารถสร้างรายได้ให้แก่ประเทศไม่น้อยกว่า 200,000 ล้านบาท และอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทรายยังเป็นแหล่งสร้างงานและรายได้ให้แก่ชาวไร่อ้อย และธุรกิจต่อเนื่อง ไม่น้อยกว่า 1,000,000 คน นอกจากนี้ ภาครัฐยังมียุทธศาสตร์ส่งเสริม และผลักดัน อุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทรายให้เติบโตยิ่งขึ้น เช่น การส่งเสริมการเพาะปลูกอ้อย การส่งเสริมงานวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทราย การให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับราคาอ้อยโดยการขอสินเชื่อจากธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร (ธ.ก.ส.) เป็นต้น จากการส่งเสริมและผลักดันจากภาครัฐดังกล่าว ทำให้อุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทรายในประเทศไทยมีการเติบโตสูงขึ้น โดยในปีการผลิต 2557/58 มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยประมาณ 10 ล้านไร่ (เพิ่มขึ้นจากปีการผลิต 2556/57 ประมาณร้อยละ 5) และสามารถผลิตน้ำตาลทรายดิบได้มากถึง 72 ล้านกระสอบ (1 กระสอบ เท่ากับ 100 กิโลกรัม) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงราคาน้ำตาลโลกในปัจจุบัน พบว่าราคาน้ำตาลโลกมีแนวโน้มปรับตัวลดลงอย่างต่อเนื่องโดยราคาน้ำตาลโลก เมื่อเปรียบเทียบกับราคาน้ำตาลในปี 2554 ที่มีราคาอยู่ที่ 0.65 ดอลลาร์ต่อกิโลกรัม ลดลงคิดเป็นประมาณร้อยละ 58 แม้ว่าราคาน้ำตาลโลกจะปรับตัวลดลงอย่างต่อเนื่อง แต่ในประเทศไทยยังคงส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกอ้อยมากขึ้น ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณอ้อย อันเนื่องมาจากนโยบายการลดพื้นที่การเพาะปลูกข้าวในพื้นที่ที่ไม่เหมาะสม และทดแทนด้วยการปลูกอ้อยอีกทั้งภาครัฐยังมียุทธศาสตร์ช่วยเหลือชาวไร่อ้อยโดยการช่วยเหลือให้สินเชื่อเพิ่มค่าอ้อยในอัตราตันละ 160 บาท ส่งผลให้กองทุนอ้อยและน้ำตาลต้องรับภาระในการกู้ยืมเงินเพื่อรักษาราคาอ้อยในปัจจุบัน โดยหากราคาน้ำตาลโลกยังคงมีแนวโน้มลดลงอีกนั้น การรักษาราคาเสถียรภาพของราคาอ้อยจึงเป็นเรื่องที่ต้องดำเนินการได้ยากยิ่ง ดังนั้น ทางภาครัฐควรมีการปรับตัวหรือสร้างนโยบาย รวมทั้งแนวทางปฏิบัติ เพื่อรักษาเสถียรภาพของราคาอ้อยและน้ำตาลในปัจจุบัน จากปัญหาที่เกิดขึ้นดังกล่าว ทำให้ประเทศไทยจำเป็นต้องทบทวนถึงแนวทางปฏิบัติของอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลเดิมที่มีอยู่ให้สามารถใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์ของน้ำอ้อยและผล

พลอยได้จากอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลให้มากที่สุด คือ การใช้ผลิตภัณฑ์จากน้ำอ้อยเพื่อผลิตเป็นพลังงานเชื้อเพลิงทดแทน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เอทานอล

ปัจจุบัน อุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลนั้นอาศัยกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต ซึ่งเป็นผลพลอยได้ที่ได้จากการผลิตน้ำตาล โดยปีการผลิต 2557/58 อุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทรายสามารถผลิตกากน้ำตาลได้มากถึง 4.5 ล้านตัน โดยสามารถผลิตเอทานอลได้ 4.2 ล้านลิตรต่อวัน โดยผลิตจากกากน้ำตาลร้อยละ 61.9 จากน้ำอ้อยร้อยละ 4.7 และจากมันสำปะหลังร้อยละ 33.4 ความต้องการใช้เอทานอลของไทยอยู่ที่ประมาณวันละ 3.3 ล้านลิตร เพิ่มขึ้นจากปี 2557 ร้อยละ 16.3 เนื่องจากการใช้ในรูปของพลังงานเชื้อเพลิงเพิ่มสูงขึ้น (จากนโยบายส่งเสริมการท่องเที่ยวของภาครัฐ) นอกจากนี้ แผนการผลิตเอทานอลจากแผนพัฒนาพลังงานทดแทนของภาครัฐ (ภาพที่ 2) คาดการณ์การผลิตเอทานอลไว้ที่ 9 ล้านลิตรต่อวัน ซึ่งหากพิจารณาถึงอัตราการผลิตในปัจจุบันนั้น ไม่สามารถเป็นไปได้ จึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งที่จะต้องมีการอนุญาตให้มีการผลิต เอทานอลจากผลิตภัณฑ์ของน้ำอ้อย เช่น น้ำเชื่อมดิบ น้ำตาลทรายดิบ และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่มาจากอ้อย จึงจะทำให้สามารถผลิตเอทานอลได้ 9 ล้านลิตร/วัน ทำให้มีรายรับเข้าสู่ระบบอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลอย่างมั่นคง ดังนั้น ในเรื่องกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการผลิตต่างๆ จะต้องมีการเปลี่ยนแปลง และมีการกำหนดประเภทของโรงงานและการใช้อ้อยและน้ำอ้อย เพื่อที่จะให้เป็นไปตามแผนที่ทางภาครัฐได้ตั้งเป้าหมายไว้ซึ่งอาจจะมีโรงงานประเภทผลิตเอทานอลจากน้ำอ้อยโดยตรง (ไม่มีการผลิตน้ำตาลทราย) หรือมีโรงงานที่ผลิตน้ำตาลทรายและเอทานอลหลายๆ รูปแบบ จำเป็นต้องมีการกำหนดกฎระเบียบโดยเฉพาะการกำหนดการซื้อขายของอ้อย หรือน้ำอ้อยในระบบที่จะเกิดขึ้น และมีการควบคุมการผลิต การกำกับดูแลทั้งอ้อยและน้ำอ้อยในโรงงานเอทานอลทุกประเภท รวมถึงรายรับของระบบ และจัดทำแบบรายงานและรายงานประจำวัน (Daily report) สำหรับการบริหารจัดการต่อไป

ซึ่งจากข้อมูลข้างต้น ได้แสดงถึงแนวโน้มและทิศทางของอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลของไทยในปัจจุบันที่จำเป็นต้องมีการปรับตัว เพื่อแก้ไขปัญหาหาค่าอ้อยและน้ำตาลที่มีการผันผวนได้อย่างยั่งยืน โดยอาศัยอุตสาหกรรมต่อเนื่องจากน้ำตาลทรายที่มีความเกี่ยวข้องกับการนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล ในโรงงานน้ำตาลมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือก รวมไปถึงพลังงานทางเลือก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตเป็นเอทานอล โดยจะส่งผลโดยตรงต่อราคาอ้อยและน้ำตาลให้มีเสถียรภาพอย่างยั่งยืน การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์จากกระบวนการผลิตน้ำตาลเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลมีความสำคัญอย่างมาก เพื่อใช้เป็นแนวทางและต้นแบบในการออกแบบเพื่อใช้ในระดับอุตสาหกรรม

ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบเป็นแหล่งวัตถุดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล โดยหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด และศึกษาในการผลิตในระดับถังหมักขนาด 50 ลิตรและประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล และศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับถังหมักขนาด 5 และ 50 ลิตร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและต้นแบบในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ
2. ประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม

การตรวจเอกสาร

1. เอทานอล (Ethanol)

เอทานอลเป็นของเหลวใส ไม่มีสีจุดไฟติดระเหยง่าย สามารถละลายน้ำและสารอินทรีย์อื่นได้ ให้ค่าพลังงานความร้อน (calorific value) โดยการเผาไหม้ประมาณ 12,800 บีทียูตอปอนด์ มีจุดเดือด 78 องศาเซลเซียส จุดเยือกแข็ง -117.3 องศาเซลเซียส และมีความถ่วงจำเพาะ 0.794 ที่ 60 องศาฟาเรนไฮต์ (สาวิตรี, 2540) มีค่าออกเทนสูงมาก (MacLean and Lave, 2003) จึงสามารถใช้แทนสารตะกั่วที่ผสมในแก๊สโซลีนได้ การที่เชื้อเพลิงถูกเผาไหม้อย่างรวดเร็วส่งผลให้เครื่องยนต์นอกโด่งายแต่ถ้าใช้เชื้อเพลิงที่มีค่าออกเทนสูงการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงจะปั่นป่วนอย่างช้า ๆ โอกาสที่เครื่องยนต์นอกจึงมีน้อยกว่า (Canadian Renewable Fuels Association, n.d.) ทั้งนี้ เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงที่ได้จากการหมักและการกลั่นจากพืชไร่จำพวกแป้งและน้ำตาล เช่น ข้าวโพดข้าวฟ่าง มันฝรั่ง ข้าวสาลี อ้อยผลไม้ และผักต่าง ๆ ที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ แล้วจึงเป็นเชื้อเพลิงที่สามารถผลิตขึ้นมาทดแทนได้ในเวลาอันสั้น

2. การผลิตเอทานอล

การผลิตเอทานอลโดยทั่วไปมีอยู่ 2 วิธี คือ วิธีการสังเคราะห์ทางเคมีและวิธีการหมัก โดยการผลิตด้วยวิธีทางเคมีนั้นทำโดยไฮเดรชัน (hydration) สารเอทีลีน (ethylene) ซึ่งได้จากปิโตรเลียมและก๊าซธรรมชาติ (สาวิตรี, 2540) สำหรับการผลิตเอทานอลโดยวิธีการหมักนั้นอาศัยเอ็นไซม์ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแปลงซับซ้อนตัวอย่างเช่น เมื่อเติมยีสต์ลงในอาหารที่มีซูโครส ยีสต์ผลิตเอ็นไซม์อินเวอร์เทส (invertase) ซึ่งเอ็นไซม์นี้ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนซูโครส ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือกลูโคส และฟรุกโทส จากนั้นกลูโคส และฟรุกโทส จึงถูกเปลี่ยนเป็น 5 เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยเอ็นไซม์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในวิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) โดยเทคโนโลยีการหมักจัดว่าเป็นวิธีเก่าแก่ที่สุดของกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งการหมักดังกล่าวเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยจุลินทรีย์หรือผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์สร้างขึ้น โดยวัตถุดิบที่เลือกใช้ในการหมักเอทานอลนั้นอาจเป็นน้ำตาลที่ได้จากธัญพืชพวกแป้งหรือพืชผลที่ให้น้ำตาล หรือชีวมวลของลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) ที่ได้จากพืชหรือจากของเหลือทิ้ง (ชีวมวลจากไม้หรือผักหญ้าต่าง ๆ) ซึ่งวิธีการนี้ทำให้ได้เชื้อเพลิงที่หมุนเวียนที่สามารถผลิต

ขึ้นมாதแทนได้อยู่ตลอดเวลา (MacLean and Lave, 2003) นอกจากนี้ในการผลิตเอทานอลยังมีสารอื่นที่ถูกผลิตจากการหมักโดยยีสต์ ดังตารางที่ 1 (ชุติมา, 2548)

ตารางที่ 1 สารที่ได้จากการผลิตเอทานอลโดยยีสต์

สารที่ได้จากการผลิตเอทานอลโดยยีสต์	ร้อยละ
เอทานอล (Ethanol)	48.40
คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide)	46.50
แอซีทัลดีไฮด์ (Acetaldehyde)	0.00-0.03
กรดอะซิติก (Acetic acid)	0.05-0.25
กลีเซอรอล (Glycerol)	2.50-3.60
กรดแลคติก (Lactic acid)	0.00-0.20
กรดซัคซินิก (Succinic acid)	0.50-0.77
ฟูเซลอยล์ (Fusel oil)	0.25-0.50
เฟอร์ฟูรัล (Furfural)	Trace (เล็กน้อย)

ที่มา: ชุติมา (2548)

3. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักเอทานอล

3.1 ความเข้มข้นของเอทานอล

เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ยีสต์ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงไม่เพียงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์และการผลิตเอทานอลเท่านั้น แต่ยังส่งผลในการยับยั้งระบบการขนส่งกลูโคสและกรดอะมิโนต่าง ๆ ซึ่งนำไปสู่ความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมและการจัดสรรพลังงานภายในเซลล์ยีสต์ (Santos *et al.*, 2008) โดยเป้าหมายหลักที่จะได้รับผลกระทบจากความเข้มข้นของเอทานอลในปริมาณที่สูงคือเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้อัตราการผลิตเอทานอลและการรอดชีวิต (viability) ลดลง เมื่อมีการสะสมของเอทานอลในน้ำหมัก อย่างไรก็ตามมีรายงานจำนวนมากพบว่า ความสามารถในการทนเอทานอลได้สูงจะเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) (Cot *et al.*, 2007) ปริมาณเออร์โกสเตอรอล (ergosterol) (Aguilera *et al.*, 2006)

ยีสต์หลายสกุลมีความอ่อนแอต่อการยับยั้งด้วยเอทานอลการมีเอทานอลสะสมอยู่ในถังหมักถือว่าเป็นปัญหาหลักอย่างหนึ่งที่ไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Roehr, 2001) ความเข้มข้นของเอ

ทานอลเพียง 1-2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักก็ทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ช้าลงและที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์เกือบหยุดลง (Brown *et al.*, 1981) การเจริญของจุลินทรีย์ถูกยับยั้งด้วยเอทานอลแบบไม่แข่งขัน (non-competitive) ตามสมการ Michaelis-Menten (Aiba *et al.*, 1968) อย่างไรก็ตาม Brown *et al.* (1981) ได้ทำการศึกษาและชี้ให้เห็นว่าผลของการยับยั้งนั้นมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้นไปกว่านั้นถ้ามีการเติมเอทานอลในช่วง log phase ทำให้อัตราการเจริญของยีสต์ลดลงอย่างรวดเร็ว (อาจเป็นผลเนื่องมาจากการสังเคราะห์โปรตีน) ทำให้เซลล์ที่มีชีวิตลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ถูกทำให้เสียสภาพอย่างถาวร

3.2 ความเข้มข้นของน้ำตาล

การใช้น้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 14 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีผลในการยับยั้งการเจริญผลผลิตเอทานอล (yield) ซึ่งมีสาเหตุจากแรงดันออสโมซิสส่งผลกระทบต่อเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดการขาดน้ำและปัญหาทางด้านการแพร่ เรียกการยับยั้งแบบนี้ว่า glucose effect (สาวิตรี, 2549) ซึ่งการใช้น้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงจะมีผลกระทบต่อการลดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในวิถีการหมัก (fermentative pathway) โดยการยับยั้งที่เกิดจากน้ำตาลขึ้นอยู่กับความทนต่อการยับยั้งน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างกันของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ โดยทั่วไปจะพบที่ 150 กรัมต่อลิตร (กลูโคส) ขณะที่บางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีความเข้มข้นน้ำตาลสูง 250 กรัมต่อลิตร หรือสูงกว่า 500 กรัมต่อลิตร (Osho, 2005) อย่างไรก็ตาม ที่ความเข้มข้นน้ำตาลสูงกว่า 500 กรัมต่อลิตร พบว่ามีค่า water activity ต่ำมาก ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์

จากการศึกษาของ Panchal และ Stewart (1980); D'Amore และคณะ (1988) พบว่าแรงดัน ออสโมซิสมีผลต่อกระบวนการหมักของ brewing yeast (*S. cerevisiae*) ในอาหารที่มีความเข้มข้นน้ำตาลต่าง ๆ โดยใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 200, 300 และ 400 กรัมต่อลิตร คือเมื่อกลูโคสความเข้มข้นสูงขึ้นการเจริญและการหมักของ brewing yeast ลดต่ำลง จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอัตราการเจริญ อัตราการหมักและประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลซึ่งดูจากค่าผลผลิตเอทานอลทางทฤษฎี (theoretical ethanol yield) ลดลง เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอลภายในเซลล์ได้รับความเสียหายจึงมีผลในการยับยั้งปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในวิถี Embden-Meyerhof-Parnas อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการเติมลิพิดไม่อิ่มตัว (unsaturated lipids) เช่น กรดลิโนลินิก (linoleic acid) และสารอาหารบางอย่างเช่น เปปตอน-สารสกัดจากยีสต์ (peptone-yeast extract) ลงไปในอาหารสำหรับหมัก มีผลให้การยับยั้งเนื่องจาก

แรงดัน ออสโมซิสลดน้อยลง (Leao and van Uden, 1984; Stewart et al., 1984) นั้นหมายความว่าแรงดันออสโมซิสมีผลให้เซลล์ยีสต์ขาดสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญและการรักษาสภาพของเซลล์ทั้งนี้เพราะแรงดันออสโมซิสไปมีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีลักษณะแข็ง (rigid) จึงมีผลกระทบต่อ การนำสารอาหารเข้าไปในเซลล์การเติมลิพิดไม่อิ่มตัวเช่น กรดลิโนลิก จึงไปช่วยเพิ่มสภาพการเป็นของไหล (fluidity) ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้สารอาหารต่าง ๆ สามารถไหลผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีขึ้น และเอทานอลภายในเซลล์สามารถแพร่ออกนอกเซลล์ได้เร็วขึ้น (Panchal, 1990)

3.3 สารอาหารและโคแฟกเตอร์ (cofactor)

สารอาหารบางอย่างอาจมีไม่เพียงพอสำหรับการหมัก ซึ่งรวมถึงแหล่งของไนโตรเจน ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (เช่น แอมโมเนียมไอออน) วิตามิน หรือแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น สังกะสีฟอสฟอรัส ซีลเฟอร์ แมกนีเซียม และแคลเซียม การเติมสารอาหารให้กับยีสต์มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะเมื่อใช้น้ำตาลเริ่มต้นเข้มข้นสูง กว่า 16 เปอร์เซ็นต์ (Rose and Harrison, 1993)

3.4 สภาวะแวดล้อม

1. **พีเอช** การที่เซลล์อยู่ในสภาวะแวดล้อมต่างกัน ค่าพีเอชของโปรโตพลาสซึมภายในเซลล์นั้นไม่เหมือนกัน ยีสต์สามารถรักษาระดับพีเอชภายในเซลล์ได้ค่อนข้างดีเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอชต่างกัน และยีสต์สามารถเจริญได้ค่อนข้างดีที่พีเอชระหว่าง 3.6 - 6.0 แต่พีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ระหว่าง 4.5 - 5.0 (Reed and Nagodawithana, 1991) สำหรับอาหารที่มีบัฟเฟอร์ต่ำ พีเอชเริ่มต้นสำหรับการหมักที่เหมาะสมควรมีค่าประมาณ 5.5 แต่อาหารที่มีบัฟเฟอร์สูงพีเอชที่ไซควรอยู่ในช่วง 4.5 - 4.7 (สาวิตรี, 2540)

2. **อุณหภูมิ** สำหรับยีสต์อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการหมักจะสูงกว่าการเจริญ 5-10 องศาเซลเซียส (สาวิตรี, 2540) ซึ่งยีสต์แต่ละชนิดต้องการช่วงอุณหภูมิในการเจริญที่แตกต่างกัน สวนใหญ่สัมพันธ์กับกระบวนการทางชีวเคมีรวมทั้งเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องยีสต์ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส โดยพบว่าเซลล์ยีสต์ในระยะที่มีการเจริญเกิดการตายได้ถ้านำไปไว้ในอุณหภูมิตั้งแต่ 50-60 องศาเซลเซียส ในเวลาน้อยกว่า 30 นาที (Rose and Harrison, 1971) สำหรับการผลิตยีสต์ขนมปัง (baker's yeast) มักควบคุมอุณหภูมิระหว่างการหมักให้อยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส (Reed and Nagodawithana, 1991)

3. **ออกซิเจน** ในกระบวนการหมักยีสต์ต้องการออกซิเจนสำหรับสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์เพื่อให้โครงสร้างที่เป็นลิพิดมีเสถียรภาพ และเพื่อรักษาสภาพของกระบวนการต่าง ๆ ที่มีอยู่

ทั่วไปในเซลล์อย่างไรก็ตามการให้ออกซิเจนในการหมักนั้นมีผลให้การผลิตเอทานอลลดลงและทำให้ชีวมวลของเซลล์เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นเพราะออกซิเจนส่งเสริมให้เกิด Pasteur effect ในกรณีที่ใช้แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์สำหรับการหมัก มีแบคทีเรียหลายชนิดที่ต้องอยู่ในสภาวะที่ไม่มีอากาศเท่านั้น (strict anaerobes) ถึงจะมีอัตราการผลิตเอทานอลสูงและผลิตชีวมวลของเซลล์ต่ำ การที่ความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรียต่ำจึงทำให้พลังงานที่ใช้ในการเจริญลดลงภายใต้สภาวะที่ไม่มีการให้ออกซิเจน การใช้ ATP 1 โมเลกุลต่อกลูโคสหนึ่งโมลก็เพียงพอ ฉะนั้นการสลายกลูโคสจึงผ่านทาง 14 วิถี Entner-Doudoroff ขณะที่ยีสต์มีการใช้ ATP 2 โมเลกุลการสลายกลูโคสจึงผ่านทางวิถี EmbdenMeyerhof-Parnas (Smart, 2000)

4. การบอนไดออกไซด์ การยับยั้งการเจริญของยีสต์ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจนในที่มีความดันสูงกว่าบรรยากาศการบอนไดออกไซด์ยับยั้งการเจริญและการหมักรุนแรงมากขึ้น เช่นเดียวกับสภาวะที่อาหารมีพีเอชต่ำและความเข้มข้นของเอทานอลสูงดูเหมือนว่าการบอนไดออกไซด์มีผลต่อการยับยั้งปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันเท่านั้น แต่ก็พบว่าคาร์บอนไดออกไซด์มีอิทธิพลต่อองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมบางอย่างของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงสภาพให้ซึมได้ (permeability) และการขนส่งตัวถูกละลาย (สาวิตรี, 2540)

4 จุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลด้วยยีสต์นั้นในระดับอุตสาหกรรมมีกระบวนการผลิตแตกต่างกันไป รวมถึงยีสต์ที่ได้รับความสนใจและถูกเลือกใช้ในการหมัก ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvaum* (carlsbergensis), *Shizosaccharomyces pombe* และ *Kluyveromyces species* (Roehr, 2001) สำหรับแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจและมีการนำมาใช้ในกระบวนการหมัก ได้แก่ *Zymomonas mobilis* (สาวิตรี, 2540) ซึ่งการเลือกใช้จุลินทรีย์ชนิดใดก็ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้สำหรับ *Z. mobilis* และ *S. Cerevisiae* ต่างมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในกระบวนการหมักในระดับอุตสาหกรรม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพื้นฐานของการจัดการกรณีเลือกใช้

การผลิตเอทานอลในระดับโรงงานอุตสาหกรรมนั้นจุลินทรีย์ที่เลือกมาใช้ต้องมีลักษณะเหมาะสมกับกระบวนการและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตและการออกแบบลักษณะของกระบวนการ การผลิตนั้นก็ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ที่ถูกเลือกมาใช้ในกระบวนการหมักด้วยเช่นกัน (Roehr, 2001) ตามทัศนคติของนักวิจัยจุลินทรีย์ที่ดีและมีความเหมาะสมในการผลิตเอทานอลเชื้อเพลิงควรมีลักษณะดังนี้ (สาวิตรี, 2540; Panchal, 1990)

1. ให้ผลผลิตสูง

2. ทนต่อเอทานอล (ethanol tolerance)
3. ทนต่อแรงดันออสโมซิส (osmotolerance)
4. มีความคงตัวภายใต้สภาวะต่าง ๆ ของการหมัก
5. ทนต่อพีเอชต่ำ (acid tolerance)
6. ทนอุณหภูมิสูง (thermotolerance)
7. มีอัตราการหมักเอทานอล (rate of ethanol fermentation) สูง
8. เพิ่มจำนวน (propagation) ได้ง่าย
9. ให้ความรอนในระหว่างการผลิต
10. การแสดงลักษณะตกตะกอนหรือไม่ตกตะกอนขึ้นอยู่กับลักษณะของกระบวนการหมักที่ต้องการ
11. มีกิจกรรมการเป็นฆาต (killer activity)
12. นอกเหนือจากการใช้กลูโคส มีความสามารถในการใช้ไดแซ็กคาไรด์หรือโพลีแซ็กคาไรด์
13. มีความทนทานต่อสารพิษต่าง ๆ

Farrell และคณะ (1998) ได้ทำการทดลองหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยกากน้ำตาลที่ใช้ผ่าน pre-treatment ด้วย Amberlite และการทำให้ปราศจากชีวมวล (non-living biomass) หมักโดย *K. marxianus* IMB3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สามารถเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตทั้งที่อยู่ในรูปของน้ำตาลและซับซ้อนให้เป็นเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิสูงจากการทดลองใช้น้ำตาลเริ่มต้น 16 เปอร์เซ็นต์ บมที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าการหมักเอทานอลในชุดควบคุมการหมัก (control fermentation) ที่ใช้กากน้ำตาลที่ไม่ได้ผ่านการกระทำแต่อย่างใดให้เอทานอลสูงสุดเท่ากับ 5.06 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และมีค่าผลผลิตการหมักสูงสุดเท่ากับ 49 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎีในขณะที่กากน้ำตาลที่ผ่าน pre-treatment ด้วย Amberlite ให้เอทานอลสูงสุดเท่ากับ 7.34 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีค่าผลผลิตการหมักสูงสุดเท่ากับ 71 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎีส่วนกากน้ำตาลที่ทำให้ปราศจากชีวมวลให้เอทานอลสูงสุดเท่ากับ 6.84 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีค่าผลผลิตการหมักสูงสุดเท่ากับ 66 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎีนั้นแสดงว่า pre-treatment กากน้ำตาลก่อนนำมาใช้เป็นขั้นตอนสำหรับหมักช่วยลดพิษ หรือวัสดุที่เป็นตัวยับยั้ง (inhibitory materials) ต่าง ๆ ที่มีอยู่ในกากน้ำตาลจึงทำให้จุลินทรีย์สามารถหมักเอทานอลได้ดีกว่าการใช้กากน้ำตาลที่ไม่ได้ผ่าน pre-treatment

สำหรับกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักมักใช้กากน้ำตาล ผักกาดหวาน อ้อย หรือธัญพืชที่มีน้ำตาลมากกว่าวัตถุดิบอย่างอื่น ซึ่งรูปแบบของ

น้ำตาลนั้นยีสต์สามารถเมแทบอลิซึมได้โดยตรง ทำให้วัตถุดิบเหล่านี้มีต้นทุนในการเตรียมต่ำ ส่วนการโบไฮเดรตชนิดอื่น ได้แก่ แป้งและเซลลูโลส ที่มีราคาถูกกว่าวัตถุดิบที่ให้น้ำตาลโดยตรง ต้องผ่านการไฮโดรไลซ์ให้เป็นน้ำตาลก่อน ยีสต์จึงสามารถนำไปใช้ได้ซึ่งเป็นข้อเสียของวัตถุดิบทั้งสองชนิดนี้ สำหรับประเทศไทยมีโรงงานผลิตเอทานอลจากผลผลิตเกษตรอยู่หลายแห่งวัตถุดิบส่วนใหญ่ที่ใช้คือกากน้ำตาล (สาวิตรี, 2540) โดยกากน้ำตาลมีอยู่ 2 ชนิด ชนิดแรกคือ blackstrap molasses หรือ final molasses คือกากน้ำตาลที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาว มีน้ำตาลอยู่ 50-60 เปอร์เซ็นต์ซึ่งส่วนใหญ่เป็น ซูโครส ชนิดที่สองคือ refinery molasses เป็นกากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์มีน้ำตาลอยู่ 58 เปอร์เซ็นต์ (Paturan, 1969) blackstrap molasses นิยมนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลถึงแม้ว่าในกากน้ำตาลมีสารอาหารหลายอย่างสำหรับการเจริญของยีสต์ (Burrows, 1970) แต่มีแหล่งไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ไม่เพียงพอโดยมีโปรตีนซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนของยีสต์อยู่ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่เพียงพอ สำหรับการเจริญของยีสต์จึงจำเป็นต้องให้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในรูปอนินทรีย์ยูเรีย หรือกรดอะมิโนอิสระรวมทั้งมีการเติมฟอสเฟตและ ซัลเฟตด้วย (Rose and Harrison, 1993)

วัตถุดิบอีกชนิดหนึ่งที่ใช้สำหรับผลิตเอทานอลในต่างประเทศและยังไม่มีผู้ใช้ในประเทศไทยคือน้ำอ้อย ซึ่งได้จากอ้อย (ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Saccharum officinarum* L.) (ปรีชา, 2523) สำหรับประเทศไทยมีการปลูกอ้อยในหลายพื้นที่ ทั้งภาคตะวันออกเฉียงเหนือภาคเหนือและภาคกลาง เนื่องจากประเทศไทยใช้น้ำอ้อย สำหรับผลิตน้ำตาลทรายโดยเป็นผู้ผลิตและส่งออก น้ำตาลรายสำคัญของโลก (นิรนาม, 2539-40) จากการทดลองหมัก เอทานอลจากน้ำอ้อยซึ่งกำจัดเชื้อโดยวิธีต่าง ๆ คือ

1. การใช้หมอนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที
2. การต้มเดือดนาน 20 นาที
3. การเติมสารโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ 200 พีพีเอ็ม
4. การนึ่งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 20 นาทีและน้ำอ้อยสดที่ไม่ได้ผ่านการกำจัดเชื้อ

โดยการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Y23 เป็นเวลา 8 วัน ที่อุณหภูมิห้องและที่ 37 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำอ้อยที่ผ่านการเตรียมโดยทั้ง 4 วิธีนั้นลดลงจากปริมาณที่มีอยู่เดิม ส่วนเอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำอ้อย ซึ่งเตรียมโดยวิธีดังกล่าวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาหมัก ทั้งที่อุณหภูมิห้องและที่ 37 องศาเซลเซียส แต่เพิ่มขึ้นช้ากว่าน้ำอ้อยที่ไม่ได้ผ่านการกำจัดเชื้อซึ่งให้เอทานอลสูงในการหมัก 3 วันแรก หลังจากนั้นเอทานอลจะไม่เพิ่มขึ้นอีกการเตรียมน้ำอ้อยทั้งสี่วิธีนั้น วิธีการต้มเดือด

น้ำอ้อยนาน 20 นาทีก่อนนำไปหมักให้เอทานอลสูงกว่าวิธีอื่น และสูงกว่าน้ำอ้อยที่ไม่ได้ผ่านการกำจัดเชื้อ (ศุภนิตยและคณะ, 2536)

เมื่อศึกษาการหมักเอทานอลจากน้ำอ้อยโดยทดลองหมักในถังหมักขนาด 10 ลิตร โดยไม่เติมสารอาหารเลย พบว่าผลิตเอทานอลสูงสุดคือ 10.2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในเวลา 24 ชั่วโมงและน้ำอ้อยที่มีน้ำตาลเริ่มต้น 17.8 เปอร์เซ็นต์ ลดลงเหลือ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับหมักกากน้ำตาลซึ่งเติมสารอาหารในปริมาณที่เหมาะสม คือแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.04 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำอ้อยสามารถหมักเอทานอลได้ดีกว่ากากน้ำตาลและมีน้ำตาลเหลือตกค้างน้อยกว่า (ปราโมทย์และคณะ, 2536)

5. การผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม

เมื่อราคาน้ำตาลในตลาดโลกตกต่ำการใช้ น้ำอ้อยเพื่อผลิตเอทานอลจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ทำให้ผลกำไรมากกว่าใช้ในการผลิตน้ำตาล (Moreira and Goldemberg, 1999) บราซิลเป็นประเทศแรกที่ย้ายเพื่อบ่มที่จะนำเอทานอลมาใช้ทดแทนน้ำมันเบนซิน ทั้งนี้เป็นผลมาจากราคาน้ำตาลในตลาดโลกตกต่ำ ทำให้ในปี ค.ศ. 1975 โดยการนำของ Federal Government ได้ตัดสินใจใช้น้ำอ้อยมาผลิตเป็นเอทานอลเพื่อลดการนำเข้าของปิโตรเลียมทำให้สามารถรักษาดุลทางการค้าของประเทศไว้ได้โดยมี The National Alcohol Programme (NAP) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในนามของ ProAlcool เป็นสถาบันที่ริเริ่มการผลิตเอทานอลเชื้อเพลิงจากอ้อยขึ้นในประเทศบราซิลและในปี ค.ศ. 1975 ประเทศบราซิลสามารถลดเงินตราในการนำเข้าน้ำมันได้ 2.87 พันล้านดอลลาร์สหรัฐฯ (Jose and Goldemberg, 1997; Rosillo-Calle and Luis, 1997) และในปี ค.ศ. 1978 ได้มีการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นเชื้อเพลิงขึ้นในสหรัฐอเมริกาและแคนาดา โดยประเทศเหล่านี้มีการผลิตเอทานอลในปริมาณ

การผลิตเอทานอลในช่วงแรกของประเทศบราซิล สหรัฐอเมริกาและแคนาดา เกิดขึ้นเพราะสภาพทางการเกษตรและสภาวะทางเศรษฐกิจแต่การผลิตในปัจจุบันนั้นเพื่อสภาพแวดล้อมและสภาวะทางเศรษฐกิจโดยมีการนำเทคโนโลยีที่ทันสมัยเข้ามาใช้ในการผลิตมากขึ้น (Wheals *et al.*, 2001) สำหรับมลรัฐฮาวายในประเทศสหรัฐอเมริกานั้นการปลูกอ้อยมีมานานกว่า 150 ปีผลผลิตที่ได้บางส่วนถูกส่งเข้าสู่โรงงานการผลิตเอทานอลโดยมีกระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำอ้อย (Ethanol Production in Hawaii Report, 1994b)

สำหรับประเทศไทยนั้นการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นเชื้อเพลิงเกิดจากแนวพระราชดำริในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ซึ่งขณะนั้นเกิดปัญหาน้ำมันดิบในตลาดโลกมีราคาสูงขึ้นมากงานทดลองผลิตภัณท์เชื้อเพลิงจึงเริ่มขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 2528 เมื่อพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวเสด็จพระราช

ดำเนินตรวจเยี่ยมโครงการสวนพระองค์สวนจิตรลดาและมีพระราชดำริให้ศึกษาต้นทุนการผลิตเอทานอลจากอ้อยเพราะในอนาคตอาจเกิดปัญหาน้ำมันขาดแคลน หรือราคาอ้อยตกต่ำการนำอ้อยมาแปรรูปเป็นเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะแก้ปัญหานี้ได้ในปีพ.ศ. 2533 จึงได้มีการปรับปรุงและพัฒนาการผลิตเอทานอลโดยได้รับการสนับสนุนจาก บริษัท สุราทิพย์ จำกัด ซึ่งวัสดุที่นำมาใช้หมักคือกากน้ำตาลในปีพ.ศ. 2537 โครงการสวนพระองค์สวนจิตรลดา ร่วมกับ บริษัท สุราทิพย์ จำกัด ได้ขยายกำลังการผลิตเอทานอลเพื่อให้มีปริมาณเพียงพอที่จะใช้ผสมกับน้ำมันเบนซินในอัตราสวนเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อเบนซิน เรียกเชื้อเพลิงผสมนี้ว่าแกสโซฮอล์ (gasohol)

วิธีวิจัย

อุปกรณ์และเครื่องมือทดลอง

1. เชื้อจุลินทรีย์

- 1) Angel yeast จากบริษัท Angel Yeast Co., Ltd, ประเทศจีน

2. เครื่องวิเคราะห์ (Analysis equipment) และเครื่องมือเพื่อการทดลอง

- 1) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (Thermo-spectrophotometer model genesys-10 UV, USA)
- 2) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวที่สมรรถนะสูงแยกสารเคมีภายใต้ความดันของเหลว (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) (Shimadzu model SIL-10ADUP, Japan)
- 3) เครื่องวัดค่าเป็นกรดต่าง (pH Meter) (Mettler Toledo, Germany)
- 4) เครื่องกวนสารละลายแบบให้ความร้อน (Hot plate stirrer) (IKA, Germany)
- 5) เครื่องวัดความหวาน (Refractometer) (Erma, Japan)
- 6) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator oven) (Mettmert, Germany)
- 7) ตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า (Incubator shaker) (VISION, Korean)
- 8) ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)
- 9) ตู้ดูดควัน (Fume hood) (Flexlab, Germany)
- 10) เครื่องนึ่งไอน้ำฆ่าเชื้อ (Autoclave) (Tomy, Germany)
- 11) ถังหมักขนาด 5 ลิตร
- 12) ถังหมักขนาด 50 ลิตร

3. เครื่องแก้ว (Glassware)

- 1) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) (Pyrex, Germany)
- 2) กระบอกตวง (Cylinder) (Pyrex, Germany)
- 3) ขวดแก้วปริมาตร (Volumetric flask) (Pyrex, Germany)
- 4) ปีกเกอร์ (Beaker) (Pyrex, Germany)

- 5) หลอดทดลอง (Test tube) (Pyrex, Germany)
- 6) จานเพาะเชื้อ (Petri disk plate) (Pyrex, Germany)
- 7) แท่งแก้วคน (Stirring rod) (Pyrex, Germany)

4. วัตถุดิบ (Raw materials)

- 1) น้ำตาลทรายดิบ (Raw sugar) (ปริมาณความชื้น เท่ากับ 2.12 ± 0.5)

5. สารเคมี (Chemical agents)

- 1) ยูเรีย (Urea, CH_2OHCH_2)
- 2) แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)
- 3) กลูโคส (Glucose)
- 2) ซูโครส (Sucrose)
- 3) สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extracts)
- 4) กรดอะซิติก (Acetic acid, CH_3COOH)
- 5) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH)
- 6) เอทานอล (95% v/v Ethanol, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบ ต่อการผลิตเอทานอลด้วยวิธีทางสถิติ

กำหนดปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบ เท่ากับ ร้อยละ 10, 12, 18, 24, 26 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และแหล่งไนโตรเจน คือ สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ได้แก่ ร้อยละ 0.10, 0.25, 0.60, 1.00 และ 1.15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยสร้างแผนการทดลองแบบ 2^n Factorial ที่ทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลางได้ ดังตารางที่ 2 โดยใช้น้ำกลั่นเพื่อเจือจาง จากนั้น เตรียมสารละลายน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงยีสต์ กำหนดให้สารละลายน้ำตาลทรายดิบมีความเข้มข้น เท่ากับ ร้อยละ 10, 12, 18, 24, 26 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นคนให้ละลาย วัดปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่องวัดความหวาน (Refractometer) เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่กำหนดไว้ นำอาหารเพาะเลี้ยงดังกล่าวทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้น เติมกล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ (10% Inoculum) ลงในอาหาร

เพาะเลี้ยงดังกล่าว นำไปบ่มด้วยเครื่องบ่มแบบเขย่า โดยเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 สิ่งทดลองสำหรับแผนการทดลอง 2 ตัวแปรชนิดกำลังสองแบบหมุน

สิ่งทดลองที่	ตัวแปรรหัส	
	ปัจจัย A	ปัจจัย B
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	-1.414	0
6	1.414	0
7	0	-1.414
8	0	1.414
9	0	0

หมายเหตุ: เฉพาะสิ่งทดลองที่ 9 จะทำซ้ำอีก r ครั้ง ซึ่ง r จะมีค่าน้อยเท่ากับจำนวนปัจจัยที่ศึกษา

ที่มา: อิศรพงษ์ (2545)

ในการศึกษาหาสภาวะของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ มีการศึกษา 2 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบ ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนและวิตามินสำคัญต่อการเจริญ โดยการใช้การวางแผนการทดลอง โดยใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology, RSM) โดยวางแผนการทดลองแบบ central composite design (CCD) ศึกษาผลของตัวแปร 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบที่ ร้อยละ 10, ร้อยละ 12, ร้อยละ 18, ร้อยละ 24 และ ร้อยละ 26 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ได้แก่ ร้อยละ 0.1, ร้อยละ 0.25, ร้อยละ 0.6, ร้อยละ 1.0 และ ร้อยละ 1.15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยสร้างแผนการทดลองแบบ 2^n Factorial ที่ทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลางได้ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แผนการทดลองการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลรวมทั้งหมด และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล

ตัวแปรเข้ารหัส		ปัจจัยที่ศึกษา	
x	y	ความเข้มข้นของน้ำตาล	ความเข้มข้นของสารสกัด
		ทรายดิบ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	จากยีสต์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)
-1	-1	12	0.25
1	-1	24	0.25
-1	1	12	1.0
1	1	24	1.0
-1.414	0	10	0.6
1.414	0	26	0.6
0	-1.414	18	0.1
0	1.414	18	1.15
0	0	18	0.6

ดำเนินการทดลองการผลิตเอทานอลโดยนำสารละลายน้ำตาลทรายดิบที่เตรียมไว้ในฟลักส์ ซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) และน้ำตาลทรายดิบรวมทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 3 จากนั้นถ่ายกล้ำเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ (10% inoculum) เติมนลงในอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ดังกล่าว นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง

2. การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอล

2.1 การศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน

เป็นการออกแบบการวิจัยเพื่อศึกษาผลของชนิดไนโตรเจนต่างๆ และปริมาณ (ร้อยละ) ที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล โดยปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการวิจัย ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบ

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารสกัดยีสต์ซึ่งเป็นสภาวะการทดลองที่สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุด เทียบกับปริมาณไนโตรเจนในยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอทานอลของยีสต์ (หากปริมาณแหล่งไนโตรเจนมากเกินไป จะส่งผลทำให้เป็นการยับยั้งการเจริญของยีสต์ (substrate inhibition) และทำให้การผลิตเอทานอลลดลง หากปริมาณแหล่งไนโตรเจนน้อยเกินไป จะทำให้การเจริญของยีสต์ไม่ดี และทำให้การผลิตเอทานอลลดลงเช่นกัน)

นำสารละลายน้ำตาลทรายดิบที่เตรียมไว้ในพาร์กส์ (เลือกใช้ความเข้มข้นน้ำตาลทรายดิบเริ่มต้น จากการทดลองข้อที่ 1) จากนั้นเติมแหล่งไนโตรเจน 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากยีสต์, ยูเรีย และแอมโมเนียมซัลเฟต จากนั้น ถ่ายกล้ำเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ (10% inoculum) เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ดังกล่าว นำไปปั่นบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง

2.2 การศึกษาการเติมแหล่งแร่ธาตุ

นำสารละลายน้ำตาลทรายดิบที่เตรียมไว้ในพาร์กส์ (เลือกใช้ความเข้มข้นของชนิดและแหล่งไนโตรเจนจากข้อ 2.1) และเติมแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) และมอนอโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.15 และ 0.05 จากนั้น ถ่ายกล้ำเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ (10% inoculum) เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ดังกล่าว นำไปปั่นบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง

2.3 การศึกษาการหมักระดับถังหมักขนาด 5 และ 50 ลิตร

นำสารละลายน้ำตาลทรายดิบที่เตรียมไว้ในพาร์กส์ (เลือกใช้ความเข้มข้นของชนิดและแหล่งไนโตรเจน และการเติมแร่ธาตุ จากข้อ 2.2) จากนั้น ถ่ายกล้ำเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ (10% inoculum) เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ดังกล่าว นำไปหมักในถังหมักขนาด 5 และ 50 ลิตร ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง

3. การวิเคราะห์

- 3.1 การวัดการเจริญ โดยการวัดค่าความขุ่น (Optical density; OD) ที่ 600 นาโนเมตร
- 3.2 การวิเคราะห์เอทานอล ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography
- 3.3 การวิเคราะห์น้ำตาล ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography
- 3.4 การวิเคราะห์กลีเซอรอล ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography

4. การประเมินความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ เพื่อศึกษาต้นทุนการผลิตเปรียบเทียบกับ ผลิตภัณฑ์ทางการค้า

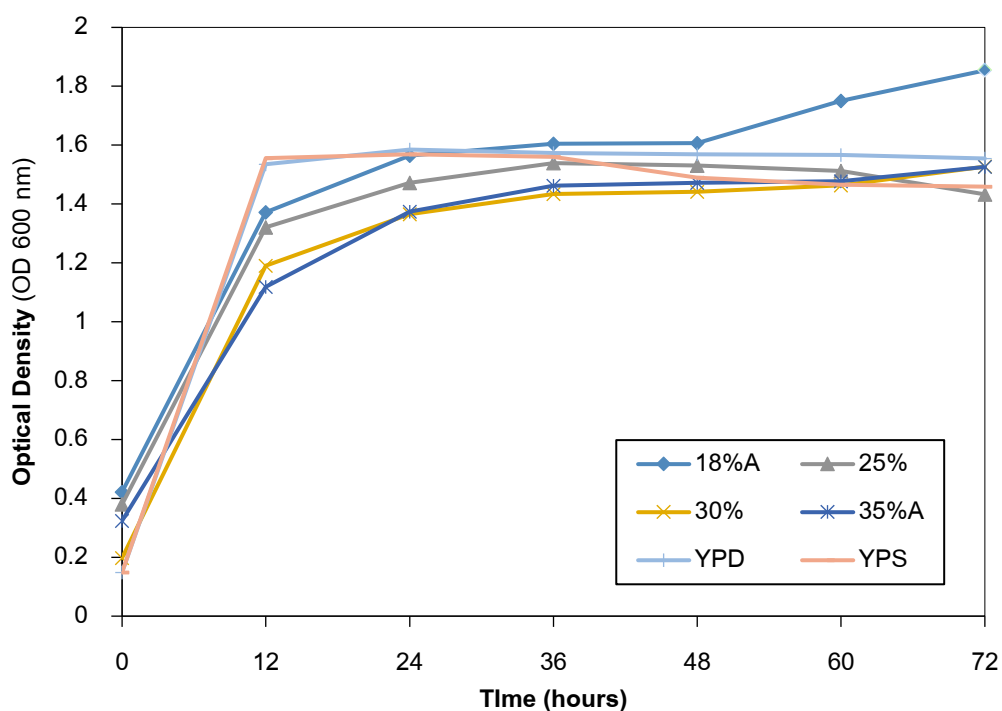
ในการศึกษาค้นคว้าการผลิตเอทานอล ผู้วิจัยได้ทำการจัดประเภทต้นทุนสำหรับการผลิต ซึ่ง
วัตถุประสงค์ของการจัดสรรต้นทุนในการผลิตนั้น เพื่อให้ทราบถึงค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นจริงในการผลิต
สินค้าและสามารถนำมาใช้ในการคำนวณหาราคาขายของผลิตภัณฑ์

ผลและวิจารณ์การทดลอง

3.1 การประเมินการใช้น้ำตาลทรายดิบเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร

3.1.1 ศึกษาอิทธิพลของการเจริญเบื้องต้นของยีสต์ Angle yeast เพื่อประเมินการใช้ในการผลิตเอทานอล

ผลการศึกษาการเจริญโดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical density) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ซึ่งใช้น้ำตาลทรายดิบเป็นอาหารเพาะเลี้ยง โดยใช้น้ำตาลทรายดิบที่มีความเข้มข้นต่างๆ ร้อยละ 18, 25, 30 และ 35 เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์ Angle yeast ซึ่งได้ผลการศึกษาดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบที่มีความเข้มข้นต่างๆที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์

Angle yeast, กำหนดให้ YPD = yeast extract peptone dextrose และ YPS = yeast extract peptone sucrose

จากผลการศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบที่ความเข้มข้นต่างๆ ร้อยละ 18, 25, 30 และ 35 เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Angle yeast* พบว่า ทุกความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบ เชื้อยีสต์สามารถเจริญได้มีลักษณะใกล้เคียงกัน โดยที่ชั่วโมงที่ 24 เชื้อยีสต์มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (ดังภาพที่ 1) และเมื่อผ่านชั่วโมงที่ 24 ไปแล้ว ยีสต์เริ่มมีอัตราการเจริญคงที่ โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบที่ร้อยละ 18 มีแนวโน้มของการเจริญดีที่สุดในช่วงการทดลอง แสดงให้เห็นว่า เชื้อยีสต์ *Angle yeast* สามารถเจริญได้จากการใช้น้ำตาลทรายดิบที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างเดียวได้ รวมถึงสามารถเจริญได้ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงถึงร้อยละ 35 อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบการเจริญของชุดทดลองกับชุดควบคุม ได้แก่ อาหารเพาะเลี้ยงชนิด *yeast extract peptone dextrose (YPD)* และ *yeast extract peptone sucrose (YPS)* ซึ่งเป็นอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สนับสนุนการเจริญของยีสต์ (*Enriched media*) พบว่า อัตราการเจริญของชุดทดลองกับชุดควบคุมมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เมื่อพิจารณาปริมาณเซลล์ (*Viable cell*) ผลได้เอทานอล (*ethanol yield*) และอัตราการผลิตเอทานอล (*ethanol productivity*) ชั่วโมงที่ 72 ซึ่งเป็นชั่วโมงที่มีการผลิตเอทานอลมากที่สุด พบว่าที่ความเข้มข้นน้ำตาลทรายดิบร้อยละ 35 มีปริมาณเซลล์และปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็นและอัตราการผลิตเอทานอล 15.8 cfu/mL และร้อยละ 0.767 กรัมต่อกรัม แสดงดังตารางที่ 4 ขณะที่ความเข้มข้นน้ำตาลทรายดิบร้อยละ 18 มีปริมาณเซลล์ (*Viable cell*) ผลได้เอทานอล (*ethanol yield*) และอัตราการผลิตเอทานอล (*ethanol productivity*) ต่ำสุด มีปริมาณเซลล์และปริมาณเอทานอลเป็น 3.6 cfu/mL, ร้อยละ 0.533 กรัมต่อกรัม และ 0.617 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบสูงจะมีการสร้างกลีเซอรอลในปริมาณที่สูงตามไปด้วย

3.1.2 การหาปริมาณของน้ำตาลทรายดิบ (ร้อยละ) ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ในการผลิตเอทานอล จะทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ ศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบ ได้แก่ ร้อยละ 10, 12, 18, 24 และ 26 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารสกัดจากยีสต์ (*yeast extract*) ได้แก่ ร้อยละ 0.1, 0.25, 0.6, 1.0 และ 1.1.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยสร้างแผนการทดลองแบบ 2^n Factorial ที่ทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลางได้ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 แสดงค่าต่างๆของการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบที่ความเข้มข้นร้อยละ 18, 25, 30 และ 35

NO	pH Initial	pH Final	Initial sugar concentration (g/L)	Residual sugar (g/L)	Ethanol % (g/L)	Ethanol productivity (g/L/h)	Ethano l yield sugar (g/g)	Glycerol % (g/L)	Viable yeast cell ^b
1	4.62	3.42	18	3.723	4.543 ^a	0.617 ^a	0.533	0.317 ^a	3.6 ^b
2	4.60	3.45	25	6.672	4.871 ^a	0.636 ^a	0.532	0.338 ^a	11.8 ^b
3	4.70	3.51	30	10.634	5.405 ^a	0.734 ^a	0.618	0.446 ^a	5.6 ^b
4	4.66	3.51	35	14.386	5.524 ^a	0.747 ^a	0.767	0.534 ^a	15.8 ^b

หมายเหตุ ^a = ที่เวลา 72 ชั่วโมง

^b = ที่ 10^8 CFU/mL ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 5 ผลการทดลองการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาล และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล

ตัวแปรเข้ารหัส		ปัจจัยที่ศึกษา (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)		เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
x	y	ความเข้มข้นของ น้ำตาลทรายดิบ	ความเข้มข้นของ สารสกัดจากยีสต์	
-1	-1	12	0.25	4.718
1	-1	24	0.25	6.989
-1	1	12	1.0	5.108
1	1	24	1.0	7.964
-1.414	0	10	0.6	4.127
1.414	0	26	0.6	7.602
0	-1.414	18	0.1	5.661
0	1.414	18	1.15	6.954
0	0	18	0.6	6.597

จากตารางที่ 2 เป็นผลศึกษาการผลิตเอทานอลตามแผนการวิจัยที่ออกแบบด้วยโปรแกรมทางสถิติ (Central Composite Design; CCD) เมื่อนำข้อมูลจากแผนการทดลองที่ได้มาใช้สร้างสมการถดถอย

กำลังสอง (second order regression analysis) เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษาที่มีต่อร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตรของเอทานอล ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.99 ดังแสดงในตารางที่ 6

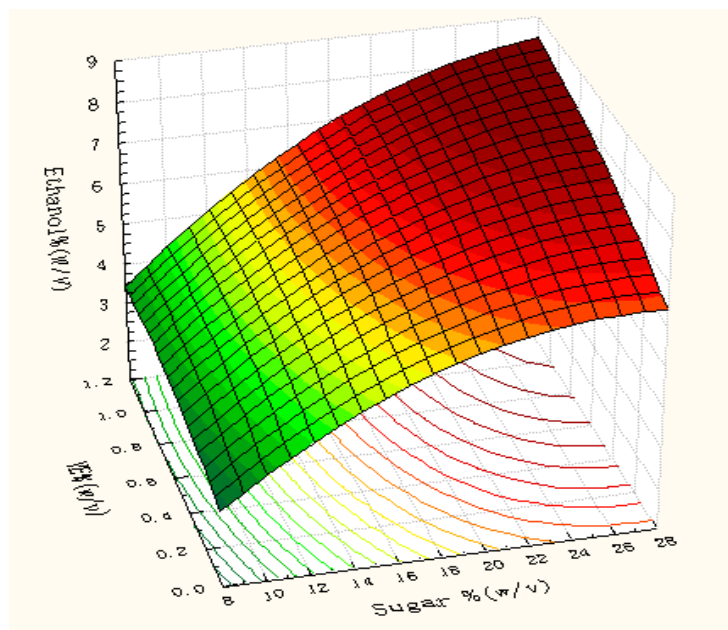
ตารางที่ 6 สมการถดถอยแบบควบคุมสองตัวแปรที่มีต่อร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตรของเอทานอลและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

สมการถดถอยแบบควบคุมสองตัวแปร	R^2
Ethanol = $-0.867804 + 0.543303 \cdot x + 1.02094 \cdot y - 0.0102110 \cdot x \cdot x + 0.1453 \cdot x \cdot y - 0.1250 \cdot y \cdot y$	0.99

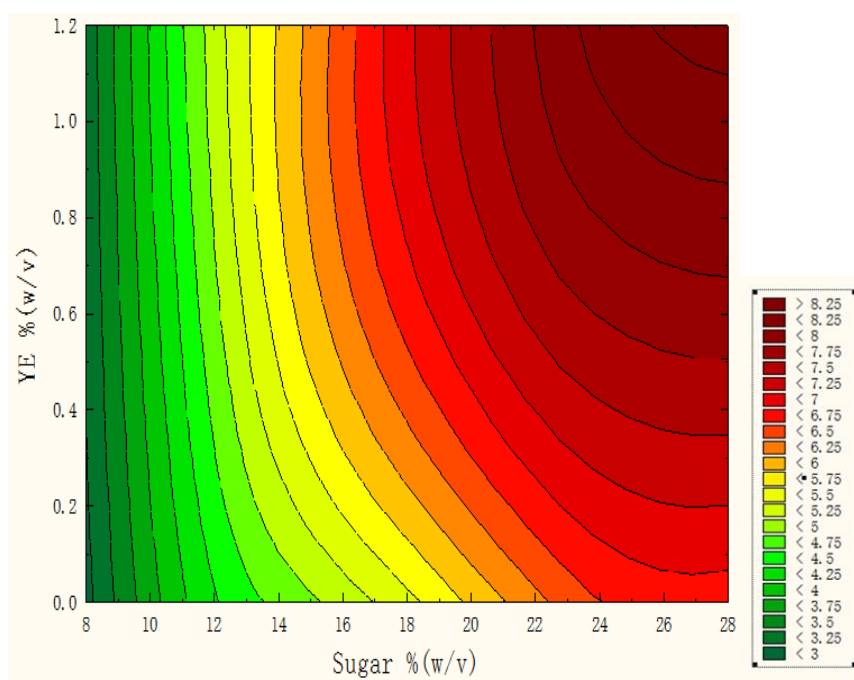
หมายเหตุ x หมายถึง ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

y หมายถึง สารสกัดจากยีสต์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

หลังจากโปรแกรมสร้างสมการถดถอยกำลังสองและทำการประมวลผล โดยใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology, RSM) ด้วยโปรแกรม Statistica จะแสดงสถานะที่เหมาะสมที่สุด (stationary point) ในสถานะที่เหมาะสมของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ในการผลิตเอทานอล โดยใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology, RSM) ด้วยโปรแกรม Statistica เพื่อหาความสัมพันธ์ของตัวแปรทั้ง 2 ปัจจัย แสดงดังภาพที่ 2 จากกราฟสามมิติพบว่าสถานะที่เหมาะสมที่สุดของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ในการผลิตเอทานอล คือชุดการทดลองที่ 4 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบ ร้อยละ 24 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ได้ปริมาณเอทานอลเท่ากับร้อยละ 7.964 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และมีอัตราการผลิตเอทานอล (ethanol productivity) สูงสุด คือ 1.659 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยช่วงแรกชั่วโมงที่ 12 เชื้อยีสต์มีการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วเพื่อในการเจริญของเซลล์และหลังจากนั้นในชั่วโมงที่ 72 น้ำตาลเหลืออยู่ร้อยละ 0.547 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 97.72 ของน้ำตาลที่ถูกใช้ไป แสดงดังภาพที่ 3 และข้อมูลในตารางที่ 7

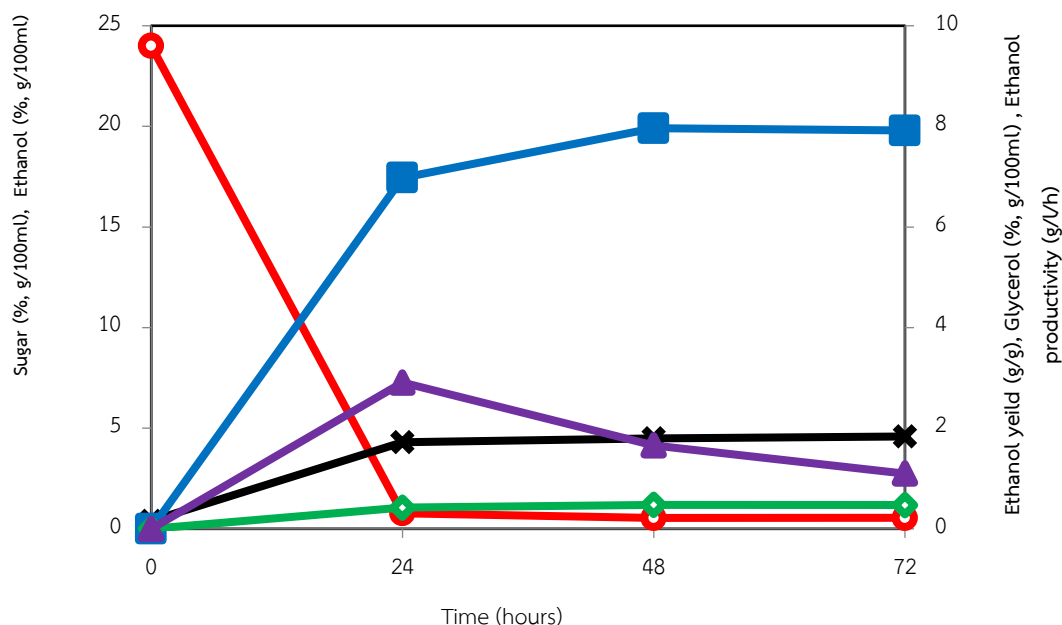


(ก)



(ข)

ภาพที่ 2 กราฟพื้นผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบและสารสกัดจากยีสต์ต่อการผลิตเอทานอล



ภาพที่ 3 การผลิตเอทานอลที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 5.0 และอัตราการเขย่า 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

สัญลักษณ์ ● ;sugar concentration (% g/100ml), ■ ;ethanol concentration (% g/100ml), ◆ ; ethanol yield (g/g), ▲ ; ethanol productivity (g/L/h) และ ×; glycerol (% g/100ml)

จากข้อมูลในตารางที่ 7 ผลพลอยได้ (by-product) ที่ได้ คือกลีเซอรอลที่เซลล์ยีสต์สร้างมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของอาหารน้ำตาลทรายดิบที่ใช้ โดยที่ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 10 มีปริมาณกลีเซอรอลร้อยละ 0.24 ขณะที่ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 26 มีปริมาณกลีเซอรอลสูงถึงร้อยละ 0.442 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกลีเซอรอล เนื่องจากความเครียดภายในเซลล์จากแรงดันออสโมติกที่สูงขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้

ตารางที่ 7 ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีน้ำตาลทรายดิบและสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เป็นองค์ประกอบ

Sr. no	pH _{Initial}	pH _{Final}	Initial sugar concentration % (g/L)	Residual sugar % (g/L)	Ethanol % (g/L), 48 h	Ethanol productivity (g/L/h), 48 h	Ethanol yield sugar (g/g)	Glycerol % (g/L)
1	5.28	2.94	12	0.096	4.718	0.983	0.503	0.307
2	5.00	3.07	24	0.843	6.989	1.456	0.430	0.499
3	5.29	3.94	12	0.177	5.108	1.064	0.538	0.247
4	5.24	3.87	24	0.547	7.964	1.659	0.473	0.459
5	5.23	3.66	10	0.142	4.127	0.860	0.539	0.240
6	5.09	3.70	26	0.785	7.602	1.584	0.359	0.442
7	5.00	2.70	18	1.184	5.661	1.293	0.464	0.442
8	5.23	3.87	18	0.216	6.954	0.237	0.521	0.406
9	5.12	3.63	18	0.311	6.597	0.311	0.508	0.367

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบโดยใช้ยีสต์ทางการค้าที่มีการใช้ผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมภายใต้ยี่ห้อ Angle yeast ในระดับฟาร์กส์ โดยศึกษาสภาวะของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล สามารถสรุปผลได้ว่าการศึกษาการเจริญของยีสต์ Angle yeast ในสารละลายน้ำตาลทรายดิบที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน พบว่ายีสต์ดังกล่าวสามารถเจริญได้และสร้างเอทานอลได้สูงสุดร้อยละ 5.524 น้ำหนักต่อปริมาตร โดยใช้ระยะเวลาการหมักที่ 72 ชั่วโมง และมีอัตราการผลิตเอทานอล (ethanol productivity) สูงสุด ที่ 0.617 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยออกแบบการทดลอง โดยใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology, RSM) โดยวางแผนการทดลองแบบ central composite design (CCD) ศึกษาผลของตัวแปร 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบ และสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) โดยสร้างแผนการทดลองแบบ 2^n Factorial พบว่าที่ชุดการทดลองที่ 4 ความเข้มข้นน้ำตาลทรายดิบร้อยละ 24 และสารสกัดจากยีสต์ร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นชุดการทดลองที่มีการผลิตเอทานอลสูงสุดคือร้อยละ 7.964 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่ชั่วโมงของการหมักที่ 48 อัตราการผลิตเอทานอล (ethanol productivity) สูงสุด คือ 1.659 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.99 ในส่วนของกลีเซอรอล ซึ่งเป็นผลพลอยได้ (by-product) จากกระบวนการผลิตเอทานอล พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายดิบสูง จะทำให้ได้ปริมาณของกลีเซอรอล

ที่สูงตามไปด้วย เนื่องจากเกิดสภาวะเครียด (stress) ภายในเซลล์จากแรงดันออสโมติกที่สูงขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้

เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Angle yeast* ในอาหารเพาะเลี้ยง 2 ชนิด คือในอาหารสารละลายน้ำตาลทรายดิบที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจน และมีแหล่งไนโตรเจน (สารสกัดยีสต์) ซึ่งให้เห็นว่าในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจน เชื้อยีสต์สามารถเจริญและเกิดกระบวนการหมักที่รวดเร็ว รวมถึงให้เอทานอลปริมาณสูงกว่าในอาหารที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารอาหารเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ช่วยให้เชื้อยีสต์มีการเจริญและเกิดกระบวนการผลิตเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามตามแผนการทดลองยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาแหล่งไนโตรเจนจากแหล่งอื่นเพื่อใช้ทดแทนสารสกัดจากยีสต์ เพื่อให้มีการหมักเอทานอลที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนและประหยัดพลังงานในการนำไปประยุกต์ใช้จริงในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

3.2 การศึกษาหาชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจนในการผลิตเอทานอลในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร

จากผลการศึกษาหาปริมาณน้ำตาลทรายดิบเริ่มต้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก) ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตรได้ปริมาณสูงสุด คือ ปริมาณน้ำตาลทรายดิบที่ความเข้มข้นร้อยละ 24 และปริมาณสารสกัดจากยีสต์ที่เหมาะสมร้อยละ 1 จากนั้น ผู้วิจัยจึงศึกษาหาชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอล ได้แก่ สารสกัดยีสต์ (Yeast extracts), ยูเรีย (Urea) และแอมโมเนียมซัลเฟต $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ โดยออกแบบมาทั้งหมด 7 สภาวะการทดลอง แสดงดังตารางที่ 8 โดยแหล่งไนโตรเจนมีความจำเป็นต่อการผลิตเอทานอลโดยยีสต์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างและสลาย (Metabolism) ของยีสต์ แต่อย่างไรก็ตาม ในการคัดเลือกแหล่งไนโตรเจนเพื่อการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมนั้น จำเป็นต้องคำนึงถึงมูลค่าของแหล่งไนโตรเจนที่เลือกใช้ด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 8 แสดงสภาวะการศึกษาหาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำตาลทรายดิบ ความเข้มข้นร้อยละ 24

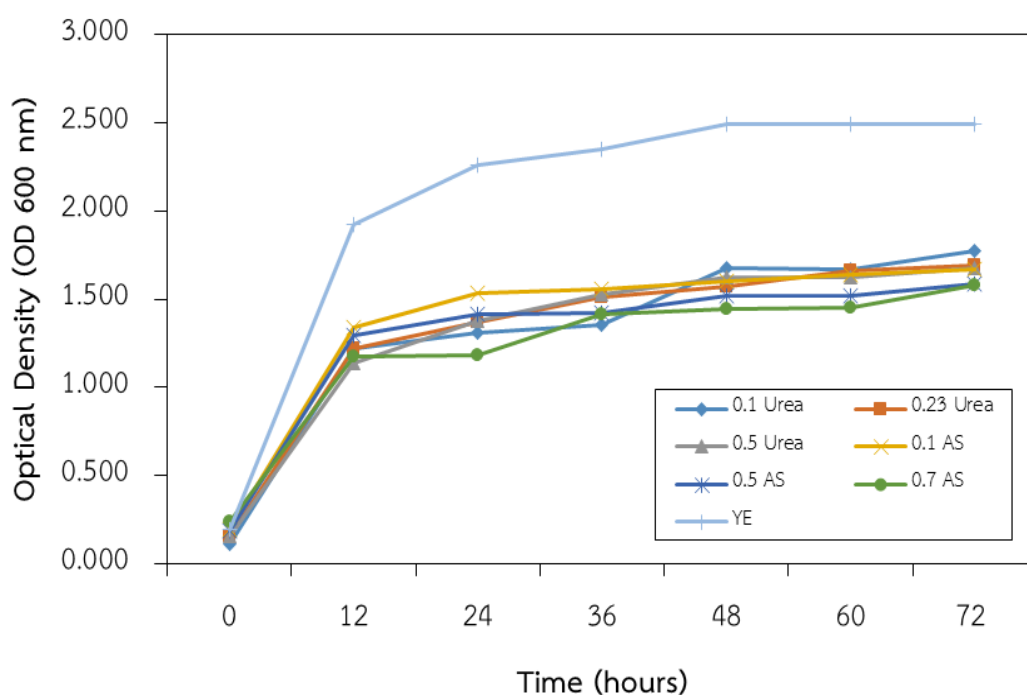
สภาวะที่	ปริมาณน้ำตาล	แหล่งไนโตรเจน	
		ชนิด	ปริมาณ (ร้อยละ)
1	24% Raw sugar	Urea	0.05
2			0.23
3			0.4
4		$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.1
5			0.5
6			0.7
7		Yeast extract	1.0

หมายเหตุ การทดลองข้างต้นเป็นการทดลองในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะ 34 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที

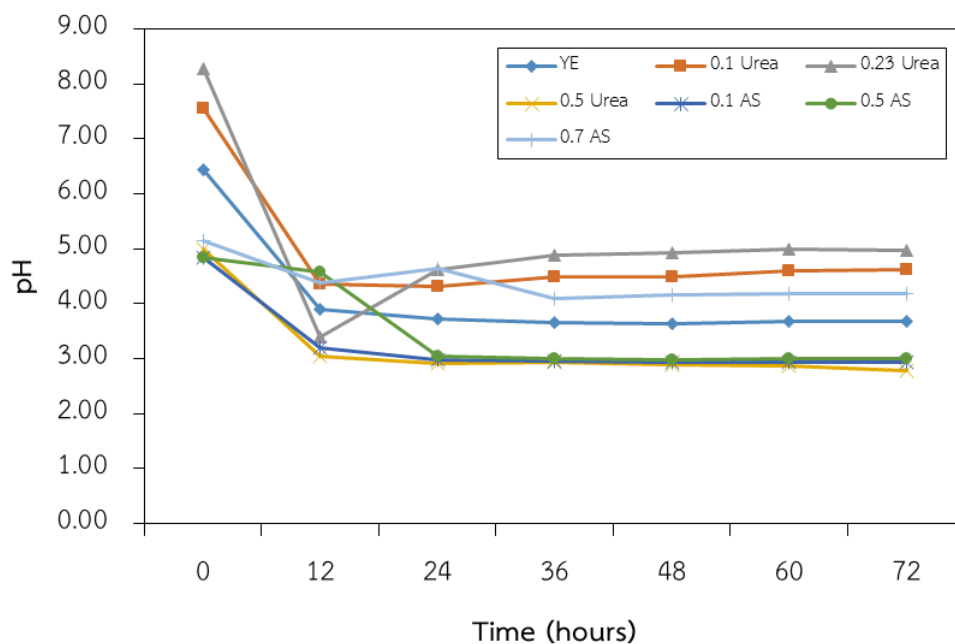
จากตารางที่ 8 เป็นการออกแบบการวิจัยเพื่อศึกษาผลของชนิดไนโตรเจนต่างๆ และปริมาณ (ร้อยละ) ที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล โดยปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการวิจัยแสดงดังตารางที่ 8 นั้น ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารสกัดยีสต์ซึ่งเป็นสภาวะการทดลองที่สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุด เทียบกับปริมาณไนโตรเจนในยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอทานอลของยีสต์ (หากปริมาณแหล่งไนโตรเจนมากเกินไป จะส่งผลทำให้เป็นการยับยั้งการเจริญของยีสต์ (substrate inhibition) และทำให้การผลิตเอทานอลลดลง หากปริมาณแหล่งไนโตรเจนน้อยเกินไป จะทำให้การเจริญของยีสต์ไม่ดี และทำให้การผลิตเอทานอลลดลงเช่นกัน) จากนั้น ศึกษาการผลิตเอทานอลของยีสต์ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที และเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง โดยศึกษาค่าความขุ่น, ค่าความเป็นกรดต่าง, ปริมาณเอทานอล และปริมาณกลีเซอรอล แสดงดังภาพที่ 4, 5, 6 และ 7 ตามลำดับ

จากภาพที่ 4 แสดงค่าความขุ่นของน้ำหมักที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอล โดยเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของไนโตรเจนต่างๆ เปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน จากผลการทดลอง พบว่า ค่าความขุ่นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (จาก $OD_{600}=0.2$ เป็น $OD_{600}=1.5$) ในระยะเวลา 0-12 ชั่วโมงแรกของการหมัก เนื่องจากการเจริญเติบโตของยีสต์ที่เพิ่มสูงขึ้น (ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นตามการเจริญ ส่งผลทำให้ค่าความขุ่นของน้ำหมักเพิ่มขึ้น) ซึ่งสามารถเป็นสิ่งบ่งชี้ได้ว่า ยีสต์สามารถเจริญได้ในสภาวะการทดลองทั้งหมด (สามารถใช้น้ำตาลซูโครสในการเจริญได้) จากนั้น ที่เวลาการหมักหลังจาก 24 ชั่วโมง พบว่า ค่าความขุ่นมีแนวโน้มคงที่จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาการหมัก (72 ชั่วโมง) นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาถึงปริมาณค่าความขุ่นในแต่ละการทดลอง พบว่า ที่สภาวะการทดลองการใช้สารสกัดยีสต์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 (สภาวะการทดลองที่ 7, ตารางที่ 8) แสดงค่าความขุ่นสูงสุด ซึ่งหมายถึง การเจริญของยีสต์ในสภาวะดังกล่าวมีการเจริญที่เร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการทดลองอื่น ซึ่งมีค่าความขุ่นไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาของการหมัก จากภาพที่ 5 แสดงค่าความเป็นกรดต่างของน้ำหมักที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างกระบวนการหมัก จากผลการทดลอง พบว่า ที่ระยะเวลาก่อนการหมัก (0 ชั่วโมง) ค่าความเป็นกรดต่าง มีค่าแตกต่างกันซึ่งอยู่ในช่วง 5-8 ทั้งนี้ เนื่องจากแหล่งไนโตรเจนที่มีปริมาณแตกต่างกันในแต่ละสภาวะการทดลอง อย่างไรก็ตาม หลังจาก 12 ชั่วโมงของการหมัก พบว่า ค่าความเป็นกรดต่างของน้ำหมักทุกสภาวะการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 4-5 ซึ่งอยู่ในสภาวะกรดเล็กน้อย เนื่องจากการกระบวนการผลิตเอทานอลของยีสต์นั่นเอง

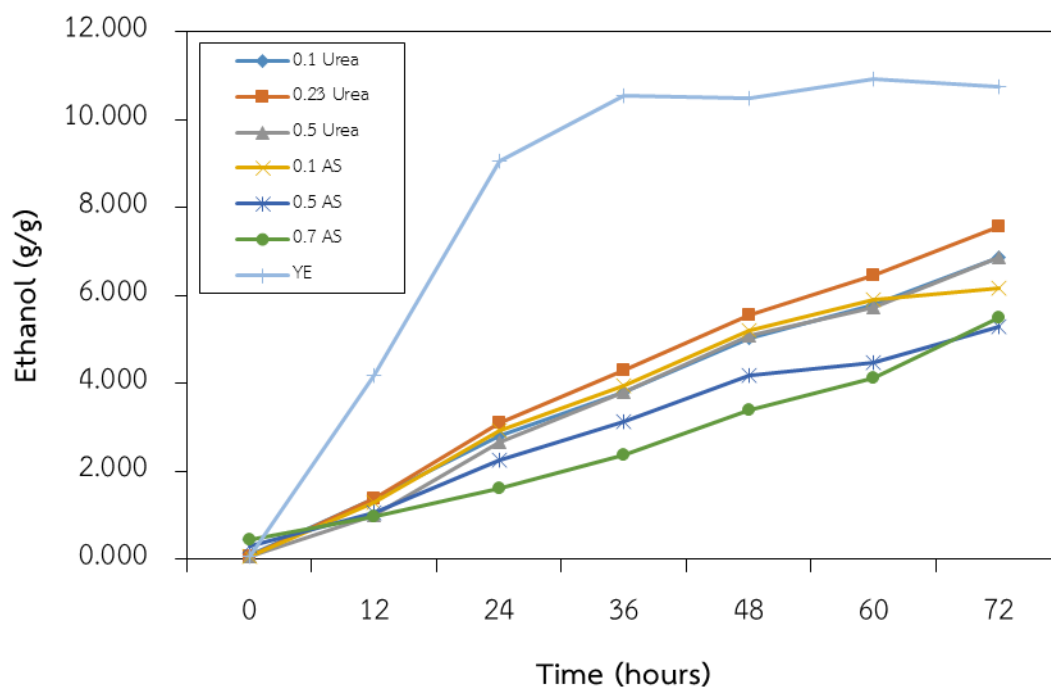
นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น รวมทั้งปริมาณกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักเช่นกัน ด้วยวิธี HPLC เนื่องจากเอทานอลที่เป็นผลิตภัณฑ์หลักที่สามารถถูกผลิตจากกระบวนการหมักของยีสต์จากซัสเตรตหรือแหล่งคาร์บอนแล้วนั้น กลีเซอรอลก็สามารถถูกผลิตในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลได้ด้วยเช่นกัน กล่าวคือ หากปริมาณกลีเซอรอลสูง แสดงว่ายีสต์เปลี่ยนวัตถุดิบให้กลายเป็นกลีเซอรอลมากกว่าการผลิตเป็นเอทานอล โดยปริมาณเอทานอลและกลีเซอรอลที่ถูกผลิตขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก แสดงดังภาพที่ 6 และ 7 ตามลำดับ



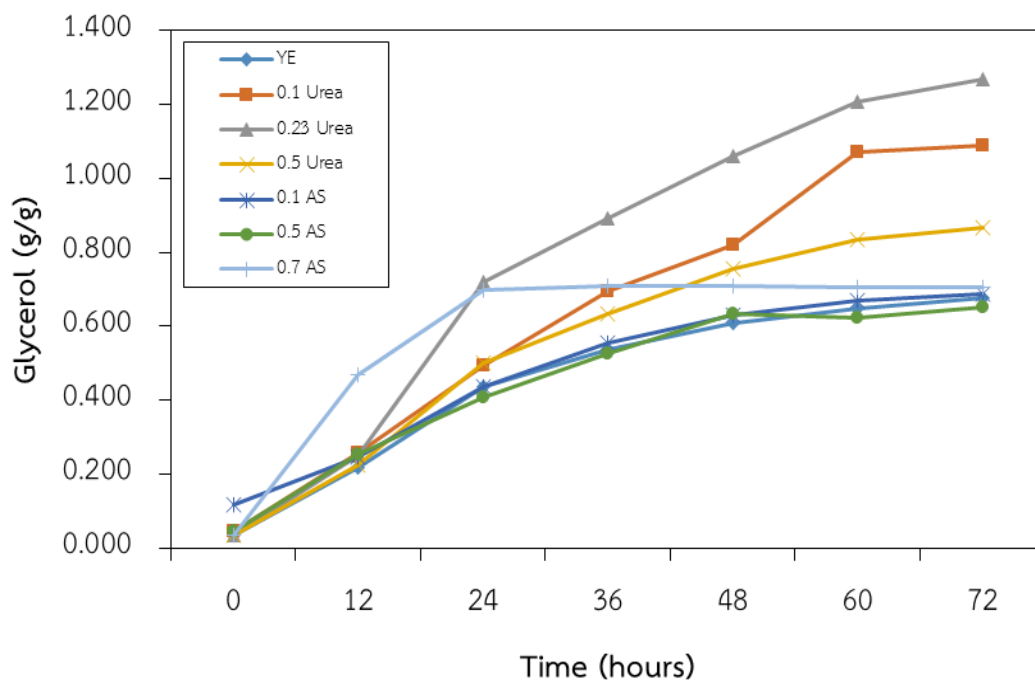
ภาพที่ 4 กราฟแสดงค่าความขุ่นที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)



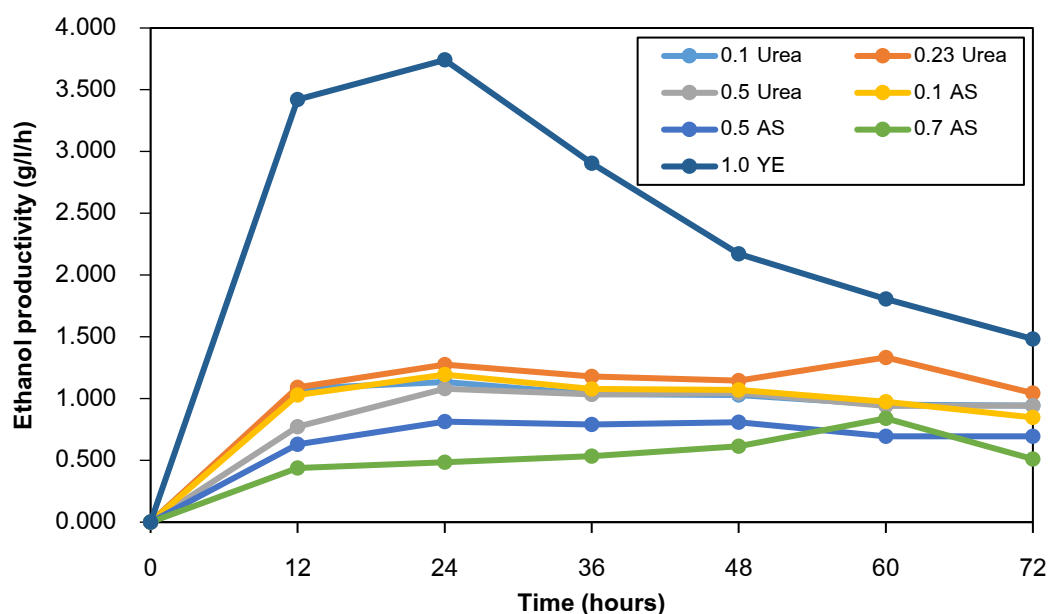
ภาพที่ 5 กราฟแสดงค่าความเป็นกรดต่างที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)



ภาพที่ 6 กราฟแสดงปริมาณเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)



ภาพที่ 7 กราฟแสดงปริมาณกลีเซอรอลที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต, YE คือ สารสกัดจากยีสต์)



ภาพที่ 8 กราฟแสดงค่าอัตราการผลิตเอทานอลต่อเวลา (Productivity) ที่ 72 ชั่วโมง ของแต่ละสภาวะการศึกษาหาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นร้อยละ 24

จากภาพที่ 6 แสดงปริมาณเอทานอลที่ถูกผลิตขึ้นในระหว่างกระบวนการ จากผลการทดลองพบว่า สภาวะการทดลองที่ 7 ที่ใช้สารสกัดจากยีสต์ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีการผลิตเอทานอลมากที่สุด โดยใช้เวลา 72 ชั่วโมง มีการผลิตเอทานอลมากถึงร้อยละ 10.75 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เนื่องจากสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจนรวมทั้งเป็นแหล่งอาหารที่มีความสมบูรณ์ต่อการเจริญของยีสต์ ส่งผลทำให้การเจริญยีสต์เจริญได้อย่างรวดเร็ว (เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการทดลองอื่น) อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากยีสต์ ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมได้ เนื่องจากข้อจำกัดทางด้านราคาของสารสกัดจากยีสต์ที่มีราคาสูง ทั้งนี้ผู้วิจัยต้องการแสดงใช้สภาวะการทดลองดังกล่าวเป็นสภาวะทดลองเพื่อเป็นเกณฑ์เปรียบเทียบกับสภาวะทดลองที่ใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น โดยเมื่อพิจารณาสภาวะที่ 1-3 เป็นสภาวะที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน จากผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นของยูเรียร้อยละ 0.23 มีการผลิตเอทานอลที่สูงสุด เท่ากับร้อยละ 7.57 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในขณะที่สภาวะที่ใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.5 มีการผลิตเอทานอลสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 5.29 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

นอกจากนี้ จากภาพที่ 7 แสดงปริมาณของกลีเซอรอลที่ถูกผลิตขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก จากผลการทดลอง พบว่า การใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน มีแนวโน้มในการผลิตกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นตามปริมาณของยูเรีย ที่ 72 ชั่วโมง พบปริมาณกลีเซอรอล เท่ากับ ร้อยละ 0.6-1.2 น้ำหนักโดยปริมาตร ในขณะที่การใช้แอมโมเนียมซัลเฟต พบปริมาณกลีเซอรอล เท่ากับ ร้อยละ 0.6-0.7 น้ำหนักโดยปริมาตร ในส่วนของการสารสกัดจากยีสต์ พบปริมาณกลีเซอรอล ประมาณ ร้อยละ 0.7 น้ำหนักโดยปริมาตร อย่างไรก็ตาม ปริมาณกลีเซอรอลที่ถูกผลิตขึ้นในทุกสภาวะการทดลองนั้น ยังคงอยู่ในระดับที่ต่ำ สาเหตุสำคัญที่ผู้วิจัยต้องศึกษาปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลนั้น เนื่องจากปริมาณของแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญของยีสต์ และการเจริญของยีสต์มีผลต่อการผลิตเอทานอล กล่าวคือ หากปริมาณของแหล่งไนโตรเจนมากเกินไป จะส่งผลทำให้การของยีสต์ต่ำหรือไม่สามารถเจริญได้ เนื่องจากแรงดันออสโมติกที่สูงขึ้นไป (ในกรณีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนสูงเกินไป) เกิดการยับยั้งหรือเป็นพิษต่อเซลล์ยีสต์ ทำให้กิจกรรมการดูดซึมไนโตรเจนของเซลล์ลดลง และหากปริมาณน้อยเกินไป ก็จะไม่ส่งเสริมการเจริญของยีสต์และผลิตเอทานอลได้น้อยลงเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ตามทฤษฎีกลไกการผลิตเอทานอลของยีสต์ ที่ต้องเปลี่ยนแหล่งคาร์บอน (ในงานวิจัยนี้ คือ น้ำตาลซูโครส) ให้กลายเป็นเซลล์ยีสต์ร้อยละ 50 และกลายเป็นเอทานอลร้อยละ 50 แล้วนั้น การประเมินสภาวะที่สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดไม่สามารถพิจารณาเพียงอัตราการเจริญเติบโตของยีสต์เพียงอย่างเดียว เนื่องจากหากยีสต์เจริญได้ดี (ค่าความขุ่นสูงสุด) อาจจะ

เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นเซลล์ยีสต์มากกว่าการผลิตเอทานอล ดังนั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นร่วมกันผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นในระหว่างการกระบวนการหมักด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ การใช้ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.23 ยังพบอัตราการผลิตเอทานอล หรือ Productivity (ปริมาณเอทานอลต่อเวลา) สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการทดลองอื่น โดยอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงของทุกสภาวะการทดลองแสดงดังภาพที่ 8 จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองที่มา โดยการใช้สารสกัดยีสต์ (สภาวะการทดลองที่ 7) แสดงอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการทดลองอื่นๆ โดยสภาวะการทดลองที่ 1-3 และ 4-6 ที่ใช้ยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ มีแนวโน้มของอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงใกล้เคียงกัน

ดังนั้น จากผลการทดลองดังกล่าว เมื่อเปรียบเทียบสภาวะทดลองทุกสภาวะ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล พบว่า สภาวะที่ใช้ยูเรีย ความเข้มข้นร้อยละ 0.23 สามารถผลิตเอทานอลได้ เท่ากับร้อยละ 7.572 น้ำหนักต่อปริมาตร และสภาวะที่ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถผลิตเอทานอล เท่ากับร้อยละ 5.291 น้ำหนักต่อปริมาตร โดยสภาวะดังกล่าวถูกเลือกใช้ในการทดลองต่อไป

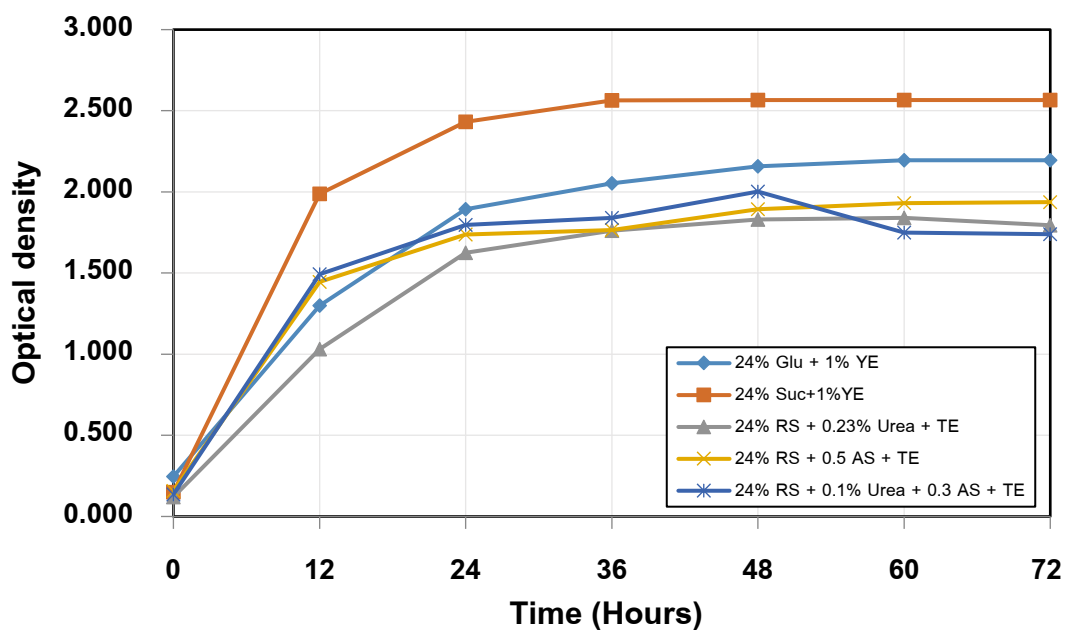
3.3 การศึกษาการเติมแร่ธาตุ (Trace elements) ต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร

ผู้วิจัยเลือกสภาวะที่เหมาะสม 2 สภาวะ จากแหล่งไนโตรเจน 2 แหล่ง ได้แก่ ยูเรีย (Urea) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.23 และแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.5 จากนั้น ศึกษาผลของการเติมแร่ธาตุต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร ได้แก่ การเติมแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) และมอนอโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 0.15 และ 0.05 ตามลำดับ และผู้วิจัยได้ศึกษาการใช้แหล่งยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกัน โดยเปรียบเทียบผลของชนิดแหล่งคาร์บอน (น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส) เพื่อใช้เป็นสภาวะทดลองเพื่อเปรียบเทียบ โดยสภาวะของการศึกษาผลของแร่ธาตุต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้แหล่งไนโตรเจนต่างๆ แสดงดังตารางที่ 9

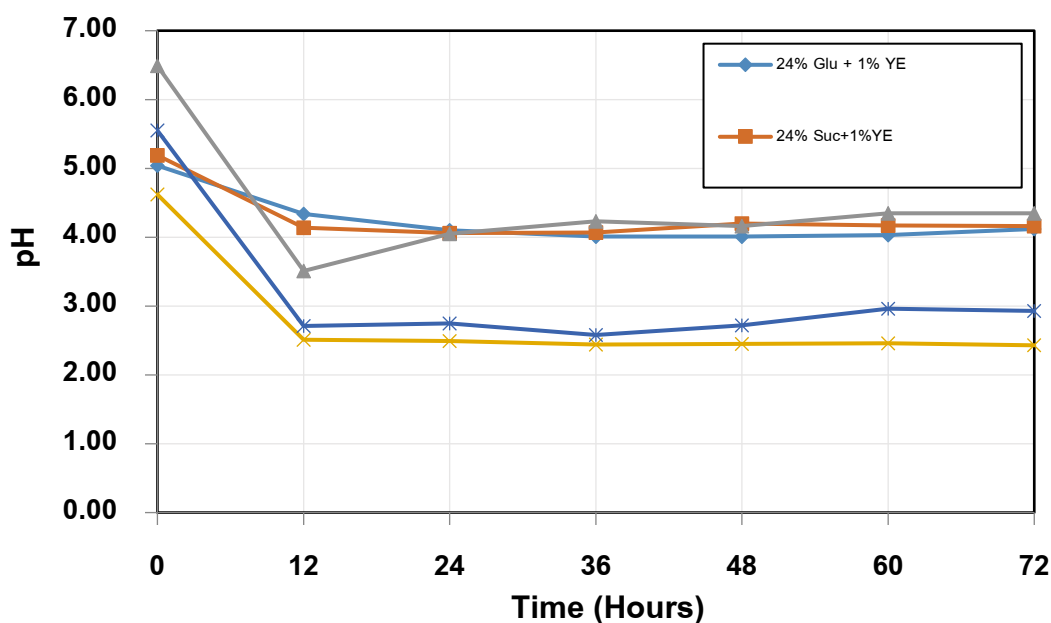
ตารางที่ 9 การศึกษาผลของแร่ธาตุต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้แหล่งไนโตรเจนต่างๆ

ที่	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	แร่ธาตุ
1	24% Glucose	1.0% Yeast extracts	0.15% $MgSO_4$ + 0.05% KH_2PO_4
2	24% Sucrose	1.0% Yeast extracts	0.15% $MgSO_4$ + 0.05% KH_2PO_4
3	24% Raw sugar	0.23% Urea	0.15% $MgSO_4$ + 0.05% KH_2PO_4
4	24% Raw sugar	0.5% $(NH_4)_2SO_4$	0.15% $MgSO_4$ + 0.05% KH_2PO_4
5	24% Raw sugar	0.1% Urea + 0.3% $(NH_4)_2SO_4$	0.15% $MgSO_4$ + 0.05% KH_2PO_4

หมายเหตุ การทดลองข้างต้นเป็นการทดลองในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะ 34 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที



ภาพที่ 9 ค่าความขุ่นที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส) กำหนดให้ Glu คือ น้ำตาลกลูโคส, YE คือ Yeast Extract, RS คือ น้ำตาลทรายดิบ, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต และ TE คือ Trace element

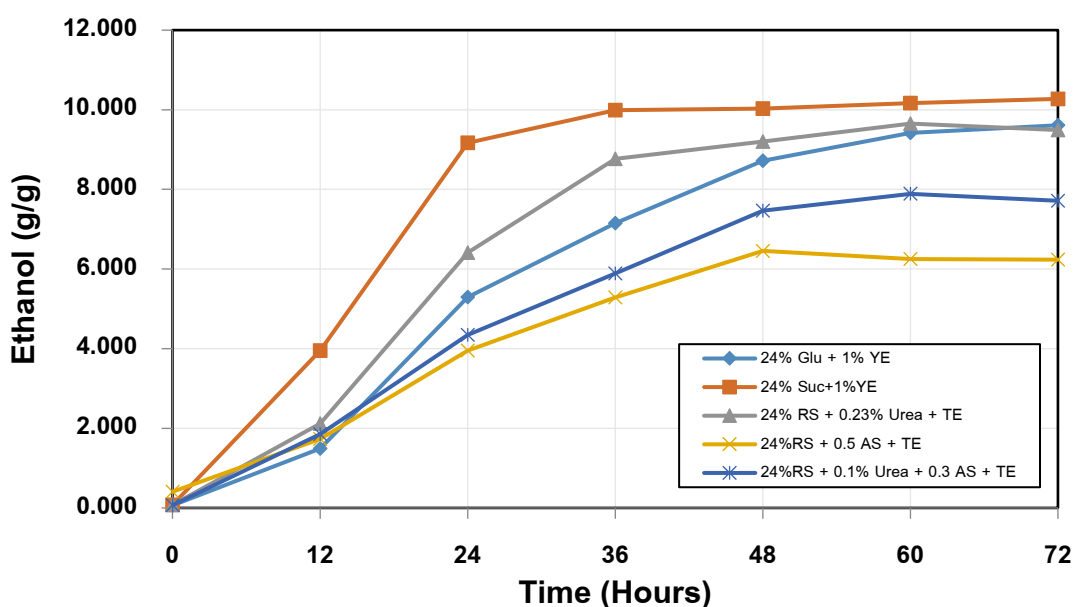


ภาพที่ 10 ค่าความเป็นกรดต่างเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส) กำหนดให้ Glu คือ น้ำตาลกลูโคส, YE คือ Yeast Extract, RS คือ น้ำตาลทรายดิบ, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต และ TE คือ Trace element

จากภาพที่ 9 แสดงค่าความชุ่มของน้ำหมักที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างกระบวนการหมัก (0-72 ชั่วโมง) จากผลการทดลอง พบว่า ในทุกสภาวะการทดลอง ค่าความชุ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก แสดงให้เห็นว่า ยีสต์สามารถเจริญได้ในทุกสภาวะการทดลอง และเมื่อเปรียบเทียบค่าความชุ่มแต่ละสภาวะการทดลอง พบว่า สภาวะที่ 2 คือ การใช้น้ำตาลซูโครสร่วมกับสารสกัดยีสต์และเติมแร่ธาตุแสดงค่าความชุ่มสูงสุด แสดงถึงการเจริญของยีสต์สูงสุด (ค่าความชุ่มมีค่าประมาณ 2.5 ที่เวลา 24-72 ชั่วโมง) เนื่องจากสารสกัดยีสต์ซึ่งประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์เมื่อเปรียบเทียบกับยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟต ในขณะที่เมื่อพิจารณาค่าความชุ่มของชุดการทดลองอื่น มีค่าความชุ่มไม่แตกต่างกัน (ค่าความชุ่มมีค่าประมาณ 2.0 ที่เวลา 24-72 ชั่วโมง) จากนั้น ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างในระหว่างกระบวนการหมัก แสดงดังภาพที่ 10 พบว่า ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น มีความแตกต่างกันในแต่ละสภาวะการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมา (ภาพที่ 5) โดยความเข้มข้นและชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น อย่างไรก็ตาม หลังจากผ่านกระบวนการหมักมากกว่า 12 ชั่วโมง พบว่า ค่าความเป็นกรดต่างลดลง และมีค่าประมาณ 4 และมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก สาเหตุดังกล่าว เนื่องจากการผลิตผลิตภัณฑ์จากยีสต์ในระหว่างกระบวนการหมัก

จากนั้น ศึกษาปริมาณเอทานอลที่ถูกผลิตขึ้นในสภาวะต่างๆ แสดงดังภาพที่ 11 พบว่า การผลิตเอทานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นจาก 0 ถึง 36 ชั่วโมง โดยเริ่มคงที่ที่ประมาณ 48 ชั่วโมงเป็นต้นไป และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล พบว่า สภาวะการทดลองที่ 2 คือ การใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนและการใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน แสดงสภาวะที่มีการผลิตเอทานอลได้สูงสุด โดยสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดที่ร้อยละ 10.27 น้ำหนักโดยปริมาตรที่เวลาการหมัก 72 ชั่วโมง และคงที่จนสิ้นสุดการหมัก เนื่องจากการใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่เป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์สามารถส่งเสริมการเจริญของยีสต์และช่วยให้ยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองค่าความชุ่มที่เพิ่มขึ้นในภาพที่ 9 ในขณะที่สภาวะการทดลองที่ 3 และ 4 ซึ่งเป็นสภาวะที่ต้องการศึกษา คือ การศึกษาเปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอล ซึ่งศึกษาการใช้ยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยสภาวะการทดลองที่ 3 และ 4 ประกอบด้วย ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.23 และแอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น ร้อยละ 0.5 ร่วมกับการผสมแร่ธาตุ ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่า ที่สภาวะการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนร่วมกับการใช้แร่ธาตุสามารถผลิตเอทานอลได้สูง โดยสามารถผลิตได้ สูงสุดที่ร้อยละ 9.65 น้ำหนักโดยปริมาตร ที่เวลาการหมัก 60 ชั่วโมง ในขณะที่การใช้

แอมโมเนียมซัลเฟต และการใช้ยูเรียร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟตนั้น สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดได้เพียงร้อยละ 6.4 และ 7.8 น้ำหนักโดยปริมาตรเท่านั้น ตามลำดับ Rose และ Harrison (1993) รายงานว่า ในการผลิตเอทานอลภายใต้สภาวะที่มีปริมาณแหล่งคาร์บอนสูงมากกว่าร้อยละ 16 การเติมสารอาหารหรือแร่ธาตุให้กับยีสต์มีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากยีสต์จำเป็นต้องนำแร่ธาตุไปใช้เพื่อการรักษาความคงตัวของเซลล์ แร่ธาตุดังกล่าวมีความสำคัญในแง่การเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ซึ่งช่วยกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาหรืออยู่ในสภาวะที่เสถียร และมีความสำคัญต่อระบบการขนส่งอาหารเข้าสู่เซลล์ Smart และคณะ (2000) ศึกษาว่าแมกนีเซียมและแคลเซียมจะช่วยทำให้อัตราการผลิตเอทานอลสูงขึ้น

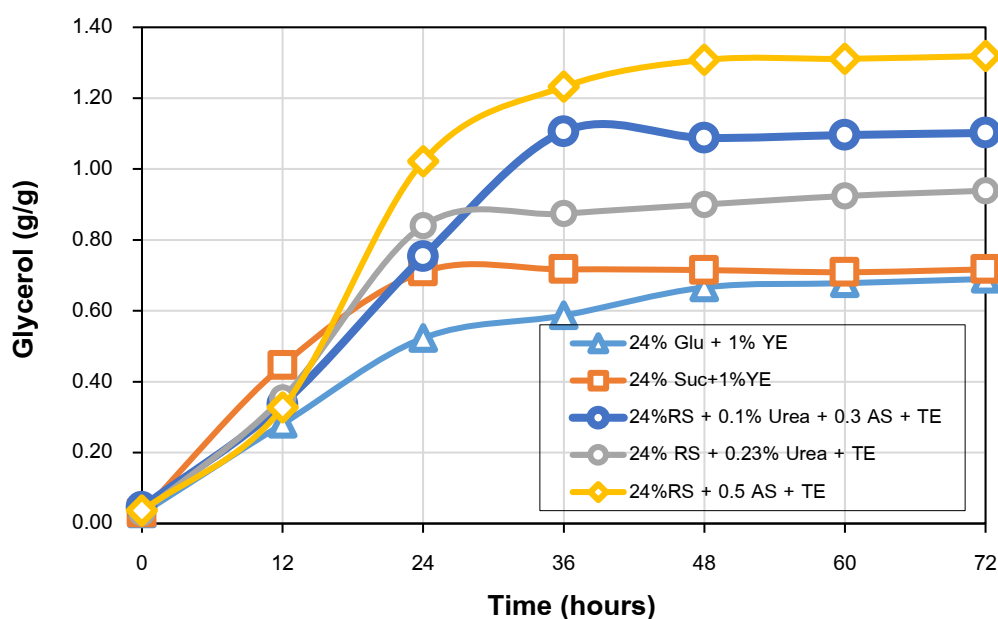


ภาพที่ 11 ปริมาณเอทานอลเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส) กำหนดให้ Glu คือ น้ำตาลกลูโคส, YE คือ Yeast Extract, RS คือ น้ำตาลทรายดิบ, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต และ TE คือ Trace element

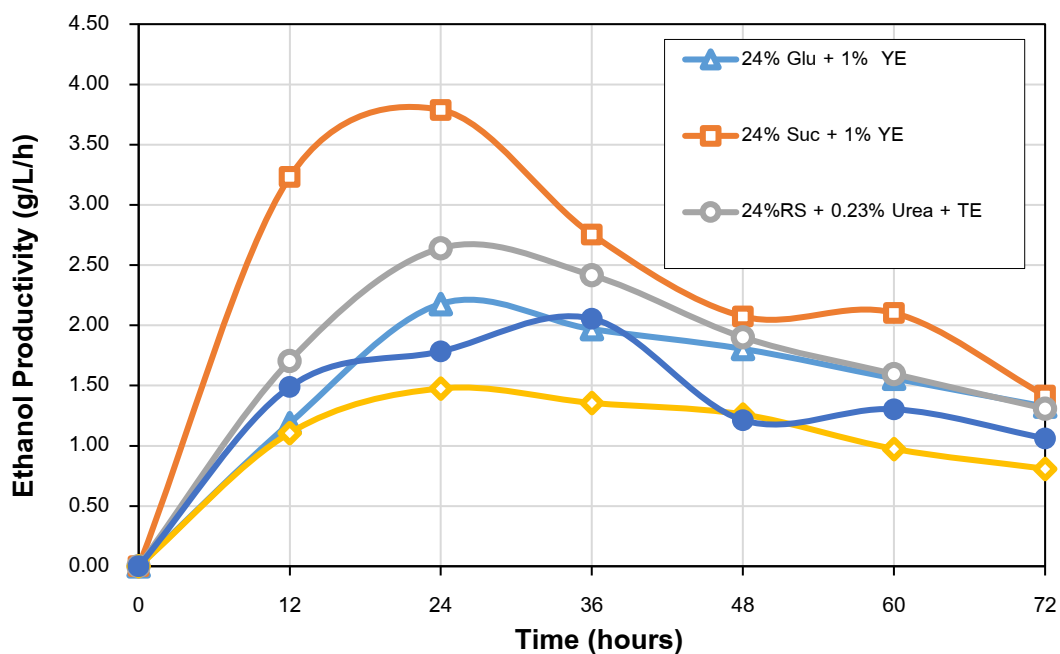
อย่างไรก็ตาม ในสภาวะการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับแร่ธาตุ และการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับยูเรีย เพื่อผลิตเอทานอล (ภาพที่ 9-12) พบว่า การเจริญ (ประเมินจากค่าความขุ่นใน

ภาพที่ 9) ไม่แตกต่างกับสภาวะการทดลองอื่นๆ แต่มีการผลิตเอทานอล เท่ากับ 6.4 และ 7.8 กรัมเอทานอลต่อกรัมซับสเตรต ตามลำดับ แต่พบการผลิตกลีเซอรอลในปริมาณสูงมากเช่นเดียวกัน (ประมาณร้อยละ 1.2) เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการทดลองอื่น แสดงดังภาพที่ 12 สาเหตุ เนื่องจากการเติมการเติมแร่ธาตุร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต และการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับยูเรียส่งเสริมกระบวนการสร้างกลีเซอรอลมากกว่าการผลิตเอทานอล อีกทั้งเป็นการเหนี่ยวนำให้ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสในกลายเป็นกลีเซอรอลมากกว่าเอทานอล นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาถึงอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมง แสดงดังภาพที่ 13 พบว่า อัตราการผลิตเอทานอลของสภาวะที่ 2 คือ การใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน (ความเข้มข้นร้อยละ 24) ร่วมกับการใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน แสดงสภาวะที่มีอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงสูงสุดซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมา และเมื่อพิจารณาถึงสภาวะการทดลองที่ 3-5 ที่ศึกษาผลของการเติมแร่ธาตุต่อการผลิตเอทานอลที่ใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ พบว่า สภาวะที่ 3 คือ การใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน (ความเข้มข้นร้อยละ 24) ร่วมกับการใช้ยูเรีย ความเข้มข้นร้อยละ 0.23 เป็นแหล่งไนโตรเจน แสดงอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงสูงสุด นอกจากนี้ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเติมแร่ธาตุร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต และการใช้แหล่งไนโตรเจน 2 ชนิดร่วมกัน คือ การใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับยูเรียนั้น ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการใช้ผลิตเอทานอล

ดังนั้น จากผลการทดลองการศึกษาการเติมแร่ธาตุต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับฟรังก์ 500 มิลลิลิตรนั้น สภาวะที่ใช้ยูเรีย ความเข้มข้นร้อยละ 0.23 แสดงการผลิตเอทานอลสูงสุด โดยใช้สภาวะดังกล่าวในการศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตรต่อไป



ภาพที่ 12 ปริมาณกลีเซอรอลเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส) กำหนดให้ Glu คือ น้ำตาลกลูโคส, YE คือ Yeast Extract, RS คือ น้ำตาลทรายดิบ, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต และ TE คือ Trace element



ภาพที่ 13 ค่าอัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส) กำหนดให้ Glu คือ น้ำตาลกลูโคส, YE คือ Yeast Extract, RS คือ น้ำตาลทรายดิบ, AS คือ แอมโมเนียมซัลเฟต และ TE คือ Trace element

3.4 การศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร

จากตารางที่ 10 แสดงสภาวะต่างๆที่ผู้วิจัยออกแบบ เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร เป็นระยะเวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่น ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณเอทานอล และปริมาณกลีเซอรอลในระหว่างกระบวนการหมัก และใช้ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยออกแบบการทดลองทั้งหมด 4 การทดลอง ได้แก่ ในการทดลองที่ 1 และ 2 เป็นศึกษาผลของการเติมและไม่เติมอากาศ ตามลำดับ ในระหว่างกระบวนการหมักโดยใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นสารสกัดยีสต์และไม่เติมแหล่งแร่ธาตุอื่น เนื่องจากสารสกัดยีสต์แสดงผลเชิงบวกต่อการผลิตเอทานอล โดยมีแนวโน้มส่งเสริมการผลิตเอทานอลสูง (เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แหล่งไนโตรเจนอื่น) เพราะสารสกัดยีสต์เป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ต่อการเจริญของยีสต์ ในขณะที่แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น (ยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟต) จำเป็นต้องมีการเติมแร่ธาตุเพื่อช่วยให้มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น และใช้การทดลองที่ 1 และ 2 เป็นชุดการทดลองเพื่อใช้เปรียบเทียบ จากนั้น ผู้วิจัยได้ออกแบบการทดลองชุดที่ 3 และ 4 คือ การใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ 0.23) และเติมแร่ธาตุ (สภาวะดังกล่าว คัดเลือกจากการศึกษาในการทดลองที่ผ่านมา) แสดงสภาวะที่มีการผลิตเอทานอลได้สูงสุดและมีการผลิตผลพลอยได้ที่ไม่ต้องการ (กลีเซอรอล) ต่ำ โดยในการศึกษาระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ศึกษาการเติมและไม่เติมอากาศในช่วง 12 ชั่วโมงของการหมัก โดยจุดประสงค์ของการเติมอากาศ เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญของยีสต์ในช่วงแรก (0-12 ชั่วโมงแรก) ให้มีปริมาณเซลล์ยีสต์มากพอในการผลิตเอทานอล และหยุดการให้อากาศเมื่อเวลาการหมักมากกว่า 12 ชั่วโมง เพราะจะทำให้การหมักได้เซลล์ยีสต์มากกว่าการผลิตเอทานอล (สาเหตุจากสภาวะในการเจริญเหมาะสมต่อการเจริญมากกว่าผลิตเอทานอล)

ตารางที่ 10 แสดงสภาวะการทดลองเพื่อการศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร

สภาวะที่	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	แหล่งแร่ธาตุ	การเติมอากาศ
1	24% Raw sugar	1% Yeast Extracts	-	เติมอากาศ*
2	24% Raw sugar	1% Yeast Extracts	-	ไม่เติมอากาศ
3	24% Raw sugar	0.23% Urea	0.15% $MgSO_4$ + 0.05% KH_2PO_4	เติมอากาศ*
4*	24% Raw sugar	0.23% Urea	0.15% $MgSO_4$ + 0.05% KH_2PO_4	ไม่เติมอากาศ

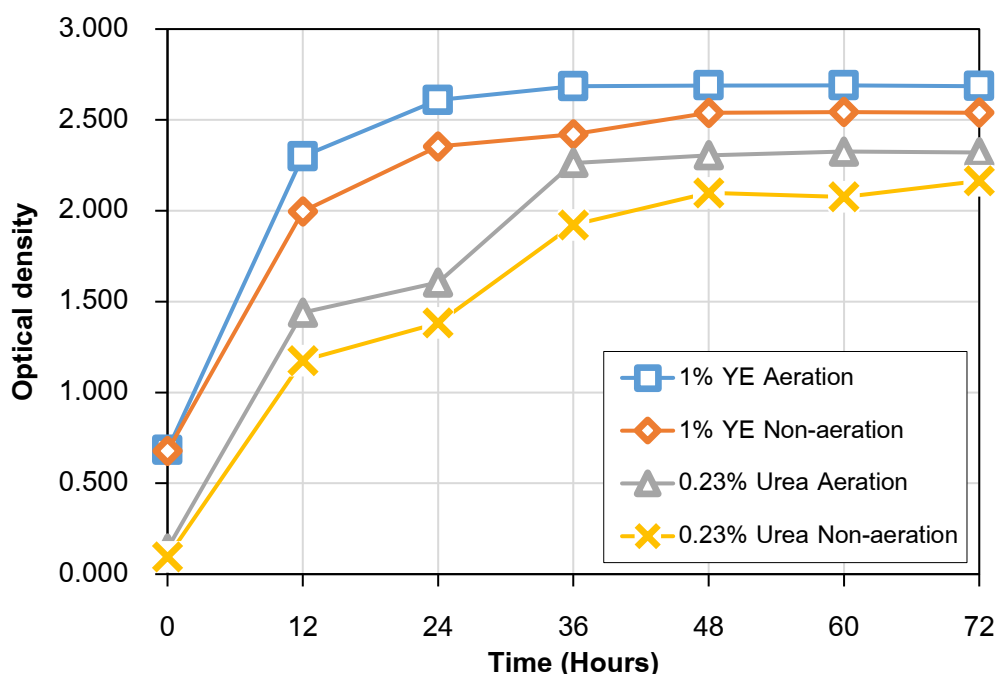
หมายเหตุ กำหนดให้: * ให้อากาศ 12 ชั่วโมงแรก, ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 14, 15, 16 และ 17 แสดงค่าความชื้น, ค่าความเป็นกรดต่าง, ปริมาณเอทานอล และปริมาณกลีเซอรอล ตามลำดับ ที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างกระบวนการหมักของทุกสภาวะการทดลอง จากผลการทดลอง พบว่า ค่าความชื้นซึ่งแสดงถึงการเจริญของยีสต์ (ภาพที่ 14) ของการหมักแบบให้อากาศ (ในชุดการทดลองที่ 1 และ 4) มีการเจริญที่ดีกว่าแบบไม่ให้อากาศเล็กน้อย เนื่องจากยีสต์จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศเพื่อการเจริญ (Aerobe microorganism) การให้อากาศจะมีก๊าซออกซิเจนเพิ่มขึ้นซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ส่งผลทำให้ค่าความชื้นของการทดลองแบบให้อากาศมีค่าความชื้นที่สูงกว่าแบบไม่ให้อากาศ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาอัตราการเพิ่มขึ้นของค่าความชื้นของทุกสภาวะ พบว่า ค่าความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 12 ชั่วโมงแรกของการหมักทั้งในชุดการทดลองแบบการเติมและไม่เติมอากาศและมีค่าไม่แตกต่างกัน ในขณะที่เมื่อพิจารณาถึงค่าความเป็นกรดต่างที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมัก แสดงดังภาพที่ 15 พบว่า ในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ที่ใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น ประมาณ 5.2 ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 3 และ 4 ที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน มีความเป็นกรดต่างเริ่มต้น ประมาณ 7.0 อย่างไรก็ตาม ค่าความเป็นกรดต่างของชุดการทดลองทั้งหมด มีแนวโน้มลดลงเป็นประมาณ 4 และคงที่ตลอดระยะเวลา ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดต่างปกติของการหมักเอทานอล

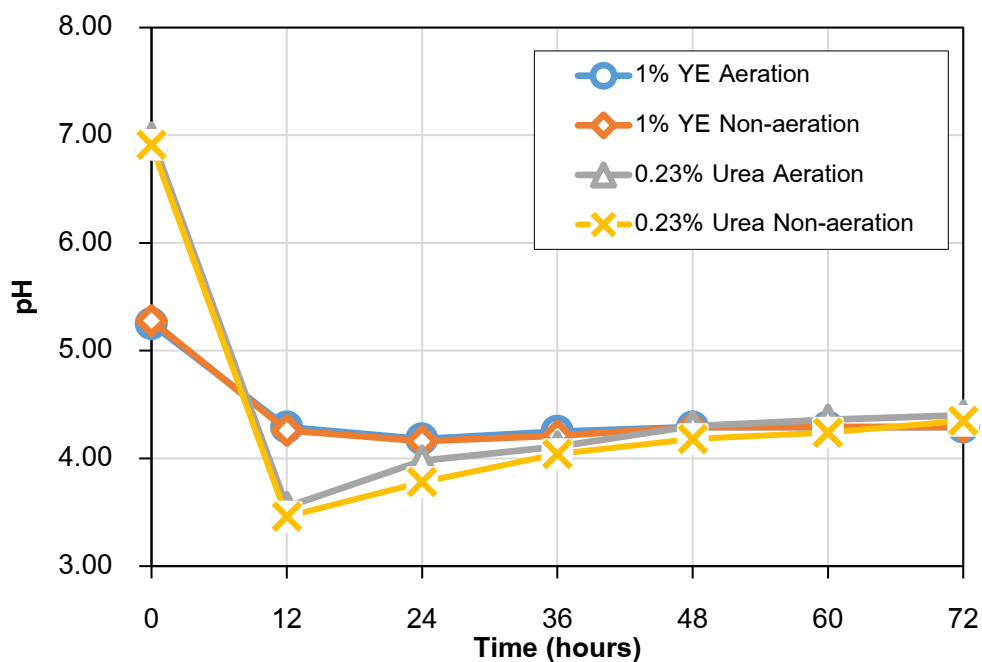
เมื่อพิจารณาถึงปริมาณเอทานอลที่ถูกผลิตขึ้นแสดงดังภาพที่ 16 พบว่า การหมักแบบไม่เติมอากาศสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 10.94 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่เวลา 60 ชั่วโมง ในขณะที่การหมักแบบเติมอากาศจะสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด เท่ากับร้อยละ 10.89 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในทำนองเดียวเมื่อพิจารณาถึงปริมาณกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักดังกล่าว พบว่า ปริมาณกลีเซอรอลมีแนวโน้มเหมือนปริมาณเอทานอล คือ การหมักแบบไม่เติมอากาศมีการผลิตกลีเซอรอลมากกว่าการหมักแบบเติมอากาศ จากผลการทดลองดังกล่าว สาเหตุสำคัญ คือ ปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการเจริญของยีสต์ ซึ่งจะส่งเสริมทำให้ยีสต์ใช้อาหารที่มีอยู่เพื่อสร้างเซลล์ยีสต์ และมีค่าความชื้นเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 9) ซึ่งทำให้แหล่งคาร์บอน (น้ำตาลซูโครส) กลายเป็นเซลล์ยีสต์ มากกว่าถูกผลิตเป็นเอทานอล ทำให้ปริมาณเอทานอลแบบให้อากาศมีค่าน้อยกว่า

จากผลการทดลองดังกล่าว สามารถสรุปได้ว่า การใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 24 ร่วมกับการเติมยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.23 และเติมแร่ธาตุ สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณที่มากกว่า 7.0 กรัมเอทานอลต่อกรัมซับสเตรต ในขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างของการหมักจะประมาณ 4 ตลอดระยะเวลาการหมัก โดยปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ คือ การเติมอากาศ

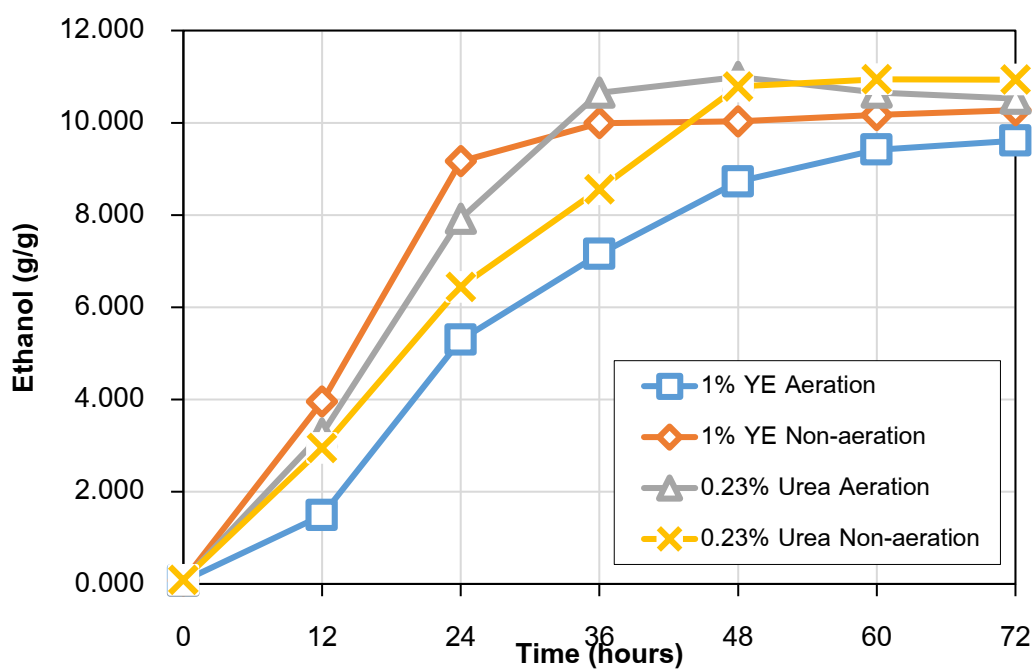
ที่ 12 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง โดยการเติมอากาศส่งเสริมให้ยีสต์มีการเจริญสูง แต่พบว่าการผลิตเอทานอลน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่เติมอากาศ ที่แสดงการเจริญของยีสต์น้อยกว่า แต่มีการผลิตเอทานอลได้มากกว่า ทั้งนี้ เนื่องจากทฤษฎีการผลิตเอทานอลของยีสต์เกี่ยวกับข้อจำกัดการเปลี่ยนแหล่งคาร์บอน (ในกรณีนี้คือน้ำตาลซูโครส) ให้กลายเป็นเซลล์ยีสต์หรือเอทานอล นอกจากนี้ หากพิจารณาถึงการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม การเติมอากาศจัดเป็นต้นทุนอย่างหนึ่งของการผลิต ดังนั้น การไม่เติมอากาศและแสดงความสามารถในการผลิตเอทานอลได้สูงภายในเวลา 36 ชั่วโมง ก็จะสามารถประหยัดราคาต้นทุนการผลิตได้ และเหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้สภาวะดังกล่าวในระดับอุตสาหกรรม



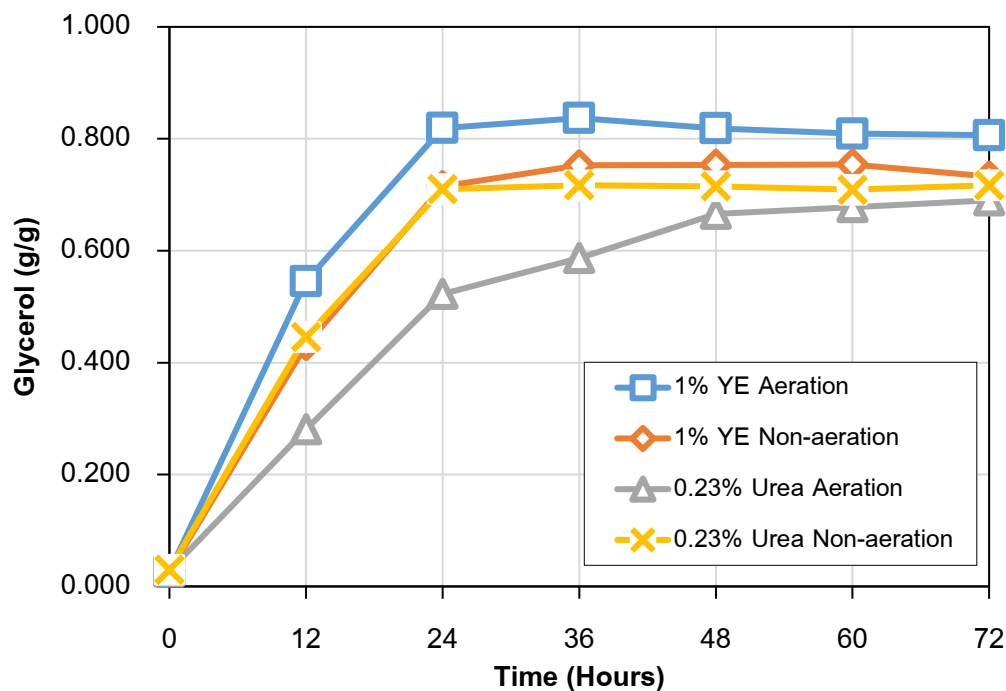
ภาพที่ 14 แสดงค่าความขุ่น (optical density) ของการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)



ภาพที่ 15 แสดงค่าความเป็นกรดต่างของการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)



ภาพที่ 16 แสดงปริมาณเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)

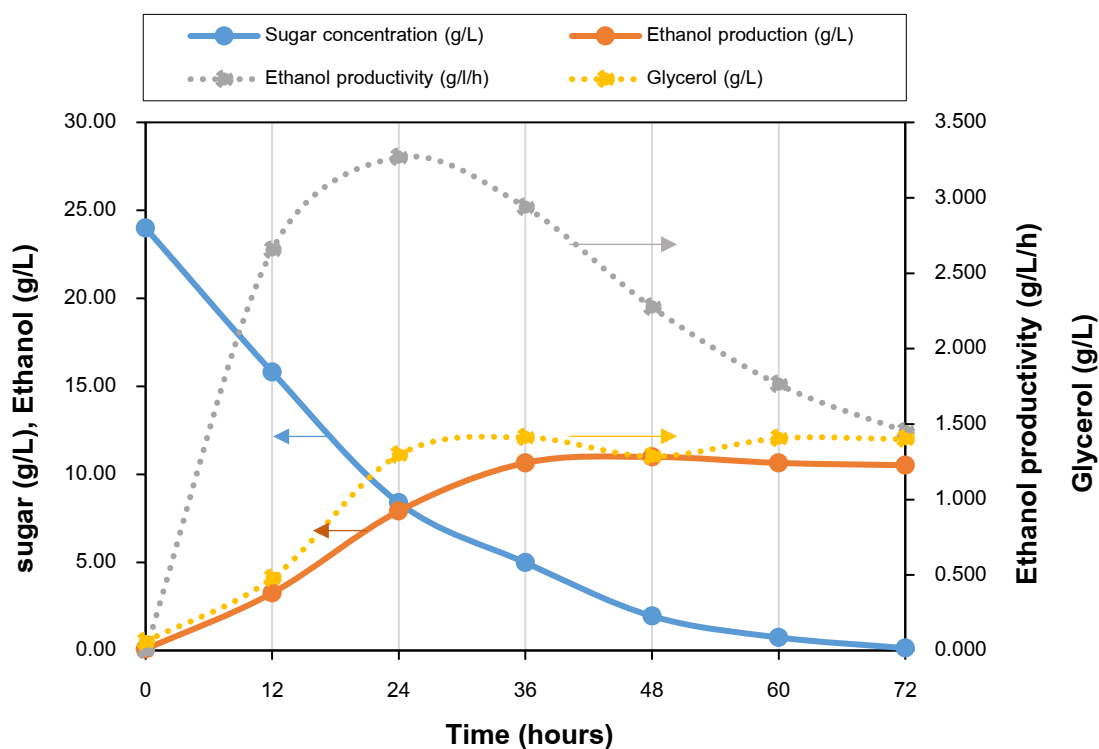


ภาพที่ 17 แสดงปริมาณกลีเซอรอลที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร (กำหนดให้ YE = Yeast extracts, Aeration = ให้อากาศ และ Non-aeration = ไม่ให้อากาศ)

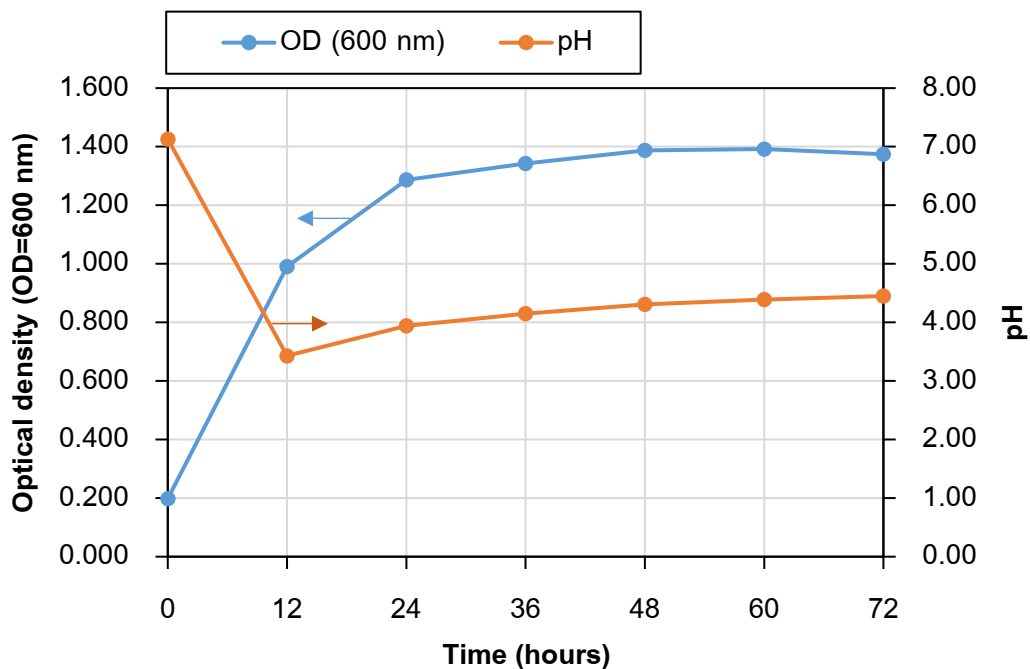
3.5 การศึกษาการผลิตเอทานอลจากสภาวะที่เหมาะสมในถังหมักระดับ 50 ลิตร

จากการศึกษาหาสภาวะการทดลองที่สามารถผลิตเอทานอลจากการหมักด้วย Angle yeast จากน้ำตาลทรายดิบ จากผลการทดลองจากสภาวะการหมักด้วยถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า สภาวะที่เหมาะสมกับการผลิตเอทานอล คือ ภายใต้อุณหภูมิความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, ยูเรีย ร้อยละ 0.23, เติมแร่ธาตุ และไม่เติมอากาศ โดยสามารถผลิตเอทานอลได้ มากถึงร้อยละ 9.99 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่เวลา 36 ชั่วโมง ดังนั้น ในการทดลองลำดับต่อไป ผู้วิจัยจึงศึกษาการหมักเอทานอลในระดับถังหมักขนาด 50 ลิตร (Working volume เท่ากับ 30 ลิตร) โดยผลการทดลองการศึกษาปริมาณน้ำตาล, ปริมาณเอทานอล, อัตราการผลิตเอทานอลและปริมาณกลีเซอรอล แสดงดังภาพที่ 18 และค่าความขุ่นและค่าความเป็นกรดต่าง แสดงดังภาพที่ 19 ทั้งนี้ ในการศึกษาการผลิตในระดับถังหมักใหญ่ (ขนาด 50 ลิตร) เพื่อใช้เป็นข้อมูลเกี่ยวกับการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบที่สามารถประยุกต์ใช้ได้จริง จากผลการทดลอง พบว่า แนวโน้มของค่าความขุ่นและค่าความเป็นกรดต่าง มีแนวโน้มเดียวกันกับการทดลองในถังหมักระดับ 5 ลิตร โดยค่าความขุ่นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเริ่มคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก ในขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น มี

ค่าประมาณ 7 และลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อระยะเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้น ค่าความเป็นกรดต่างจะเริ่มคงที่ประมาณ 4 ตลอดระยะเวลาการหมัก ในส่วนของปริมาณเอทานอลที่ถูกผลิตขึ้น พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้ เท่ากับ ร้อยละ 10.935 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่เวลา 36 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการหมักในถังหมักระดับ 5 ลิตร จากผลการทดลองดังกล่าว สามารถสรุปได้ว่า สภาวะการหมักเอทานอลดังกล่าว สามารถใช้น้ำตาลทรายดิบเป็นแหล่งคาร์บอนหรือวัตถุดิบในการผลิตได้จริง แต่จำเป็นต้องเติมสารแหล่งไนโตรเจนและแร่ธาตุ เพื่อช่วยในการเจริญและการผลิตของเอทานอลของยีสต์ ซึ่งการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาดใหญ่ ขนาด 50 ลิตร สามารถยืนยันได้ว่า น้ำตาลทรายดิบสามารถประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อเอทานอลได้



ภาพที่ 18 กราฟแสดงการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, Urea ร้อยละ 0.23, เติม Trace element, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 19 กราฟแสดงค่าความขุ่นและค่าความเป็นกรดต่างที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะต่างๆ (ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 24, Urea ร้อยละ 0.23, เติม Trace element, อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส)

3.6 การประเมินความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ เพื่อศึกษาต้นทุนการผลิตเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า

จากผลการทดลองการศึกษากาหมักเอทานอลในถังหมักระดับ 50 ลิตร (working volume เท่ากับ 30 ลิตร) พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้มากถึง ร้อยละ 10.935 น้ำหนักต่อปริมาตร กล่าวคือ ในน้ำหมัก 100 มิลลิตร สามารถผลิตเอทานอลได้ 10.935 กรัมเอทานอล ถ้าหมักในถังหมักระดับ 50 ลิตร (Working volume เท่ากับ 30 ลิตร) จะสามารถผลิตเอทานอลได้มากถึง 3,280.5 กรัมเอทานอล (แสดงดังตารางที่ 11 ซึ่งเป็นปริมาณผลิตภัณฑ์ที่สามารถถูกผลิตขึ้นจากการหมักระดับถึงหมัก 50 ลิตร เพื่อใช้ในการพิจารณาต้นทุนการผลิตต่อไป

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบกำลังการผลิต

กำลังการผลิต (ลิตร)	ผลผลิต (กรัม)
30.00	3,280.5
1.00	109.35

3.6.1 ค่าใช้จ่ายในการผลิต

ในการศึกษาค้นคว้าการผลิตเอทานอล ผู้วิจัยได้ทำการจัดประเภทต้นทุนสำหรับการผลิต ซึ่งวัตถุประสงค์ของการจัดสรรต้นทุนในการผลิตนั้น เพื่อให้ทราบถึงค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นจริงในการผลิตสินค้าและสามารถนำมาใช้ในการคำนวณหาราคาขายของผลิตภัณฑ์ รวมถึงให้งานวิจัยนี้สามารถแสดงถึงความเป็นไปได้และมีศักยภาพอีกด้วย โดยต้นทุนการผลิตประกอบด้วย วัตถุดิบทางตรงและค่าใช้จ่ายในการขาย โดยวัตถุดิบทางตรง (Direct Material) ประกอบด้วยวัตถุดิบและราคาต่อหน่วยแสดงดังตารางที่ 12 จากตารางที่ 12 วัตถุดิบสำคัญในการผลิตเอทานอล ได้แก่ น้ำตาลทรายดิบ, หัวเชื้อยีสต์, ยูเรีย และแร่ธาตุ วัตถุดิบทางตรงที่ใช้ในการผลิตทั้งหมดนี้ จะนำไปผลิตเป็นเอทานอลจำหน่ายในปริมาณ 1 ลิตร ดังนั้นวัตถุดิบทางตรงที่ใช้ในการผลิตเอทานอล ขึ้นอยู่กับน้ำตาลทรายดิบ ณ ขณะทำการผลิต ดังตารางที่ 13 นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาปัจจัยของต้นทุนราคาน้ำตาลต่อการผลิตเอทานอล โดยศึกษาในช่วงราคา 10 – 25 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นช่วงของราคาซื้อขายน้ำตาลทรายดิบในท้องตลาดในช่วงระยะเวลา 10 ปี (ค.ศ. 2006 – 2016) โดยแบ่งเป็น 4 ช่วง ได้แก่ 10, 15, 20 และ 25 บาท

ตารางที่ 11 ราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตต่อหน่วย

รายการ	จำนวน (กรัม)	ราคาต่อหน่วย (บาท)
Raw sugar	1,000	10, 15, 20, 25
Angel yeast	500	770
Urea GR	500	1,883
Magnesium sulphate heptahydrate	1,000	1,541
Potassium dihydrogen phosphate	1,000	2,108

จากตารางที่ 13 แสดงราคาต่อหน่วยของวัตถุดิบ เพื่อการผลิตในถังหมักขนาด 50 ลิตร (Working volume 30 ลิตร) นอกจากนี้ แรงงานทางตรง (Direct labor) ในตลอดระยะเวลาการผลิตมีการจ้างแรงงานทั้งหมด 1 คน มีอัตราค่าแรงทั้งหมด เท่ากับ 8,000 บาทต่อเดือน ต้นทุนในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ ประกอบด้วย ต้นทุนที่ระบุไว้ในตารางที่ 13 เป็นการคำนวณกำลังการผลิตที่ 30 ลิตร ได้เอทานอลเท่ากับ 3,280.5 กรัม นอกจากนี้ ต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 50 ลิตร (Working volume = 30 ลิตร) โดยใช้ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ราคาต่างๆ แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 13 ราคาวัตถุดิบต่อในถังหมักขนาด 50 ลิตร (Working volume 30 ลิตร)

รายการ	จำนวน (กรัม)	ราคา/หน่วย (บาท)	ราคา/ กรัม	หน่วยที่ใช้/ 30 ลิตร	ราคา/การ ผลิต 30 ลิตร
Raw sugar	1,000	10	0.01	7,200	72
		15	0.0015	7,200	108
		20	0.02	7,200	144
		25	0.03	7,200	216
Angel yeast	500	770	1.54	35	53.90
Urea GR	500	1,883	3.77	69	260.13
Magnesium sulphateheptahydrate	1,000	1,541	1.54	35	53.90
Potassium dihydrogen phosphate	1,000	2,108	2.11	15	31.65

หมายเหตุ ราคาต่อหน่วยอ้างอิงจากราคาขายในท้องตลาด
ราคาต่อกรัม คือ ราคาต่อหน่วยหารด้วยจำนวน
หน่วยที่ใช้/30ลิตร คือ จำนวนของวัตถุดิบที่ใช้จริงในถังหมัก

ตารางที่ 14 ต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 50 ลิตร (Working volume = 30 ลิตร) โดยใช้ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ราคาต่างๆ

ระดับการผลิต	ราคาต้นทุนน้ำตาลทรายดิบ (บาท)	ราคาต้นทุนทั้งหมด (บาท)
	10	471.58
ถังหมักขนาด 50 ลิตร	15	507.58
(Working volume = 30 ลิตร)	20	543.58
	25	615.58

3.6.2. ค่าใช้จ่ายในการขาย

ค่าใช้จ่ายในการขายเป็นค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นเพื่อส่งเสริมให้บุคลากรที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลเห็นศักยภาพของการใช้น้ำตาลทรายดิบเป็นแหล่งผลิตเอทานอลที่สามารถขยายฐานการสร้างผลิตภัณฑ์ได้มากยิ่งขึ้น และสามารถช่วยรักษาเสถียรภาพของราคาอ้อยและน้ำตาลได้ โดยประชาสัมพันธ์ผ่านทางบริษัท ไทย ซูการ์ มิลเลอร์ จำกัด ซึ่งเป็นตัวกลางระหว่างภาครัฐ ชาวไร่ และโรงงานน้ำตาลโดยค่าประชาสัมพันธ์ประกอบด้วย การจัดทำสื่อโฆษณาออนไลน์ ผ่านทางเว็บไซต์ของมหาวิทยาลัยและการจัดทำเอกสารในการประชาสัมพันธ์ มีค่าใช้จ่ายทั้งหมด เท่ากับ 500,000 บาท

3.6.3. การคำนวณหาจุดคุ้มทุน (Break Even Point)

การคำนวณหาจุดคุ้มทุนของการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในช่วงระดับราคาต่างๆ มีรายละเอียดในการคำนวณดังนี้

1. รายจ่ายทั้งหมด (Total Cost) คือต้นทุน ประกอบด้วย รายจ่ายคงที่ (Fixed Cost) ได้แก่ ค่าโฆษณา ค่าแรงงาน และรายจ่ายผันแปรต่อชิ้นสินค้า (Variable Cost) ได้แก่ ค่าวัตถุดิบ นำมาหารเฉลี่ยต่อชิ้นสินค้า แล้วคูณด้วยจำนวนชิ้นที่ผลิต

2. รายรับทั้งหมด (Total Revenue) คือ ปริมาณสินค้าที่ขาย (Quantity) คูณด้วยราคา (Price)

การคำนวณหาจุดคุ้มทุน ณ ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ระดับต่างๆ มีวิธีการคำนวณ ดังนี้

- 3.1 การคำนวณหาจุดคุ้มทุนในการผลิตเอทานอล ณ ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ 10 บาท มีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 471.58 บาท ต่อการผลิตทั้งหมด 30 ลิตร ถ้าผลิต 1 ลิตร จะมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 15.72 บาท ประกอบด้วย

$$\text{รายจ่ายคงที่ } 8,000 + 500,000 = 508,000$$

$$\text{รายจ่ายผันแปร} = 15.72$$

ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร สามารถคำนวณหาจุดคุ้มทุนได้ดังนี้

$$QP = \text{รายจ่ายคงที่} + \text{รายจ่ายผันแปร}$$

$$50,000 \times P = (8,000 + 500,000) + 15.72 (50,000)$$

$$50,000P = 1,294,000$$

$$P = 25.88$$

(กำหนดให้ Q คือ ปริมาณสินค้าที่ขาย และ P คือ ราคา)

ดังนั้น ณ ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 10 บาท เมื่อคำนวณหาจุดคุ้มทุนแล้ว ทำให้ทราบว่า ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร จะต้องตั้งราคาขาย เท่ากับ 25.88 บาท ต่อลิตร ถึงจะคุ้มทุน (ผลกำไรร้อยละ 20 ของจุดคุ้มทุน)

- 3.2 การคำนวณหาจุดคุ้มทุนในการผลิตเอทานอล ณ ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ 15 บาท มีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 543.58 บาท ต่อการผลิตทั้งหมด 30 ลิตร ถ้าผลิต 1 ลิตร จะมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 18.12 บาท ประกอบด้วย

$$\text{รายจ่ายคงที่ } 8,000 + 500,000 = 508,000$$

$$\text{รายจ่ายผันแปร} = 16.92$$

ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร สามารถคำนวณหาจุดคุ้มทุนได้ดังนี้

$$QP = \text{รายจ่ายคงที่} + \text{รายจ่ายผันแปร}$$

$$50,000 \times P = (8,000 + 500,000) + 16.92 (50,000)$$

$$50,000P = 1,354,000$$

$$P = 27.08$$

(กำหนดให้ Q คือ ปริมาณสินค้าที่ขาย และ P คือ ราคา)

ดังนั้น ณ ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 15 บาท เมื่อคำนวณหาจุดคุ้มทุนแล้ว ทำให้ทราบว่า ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร จะต้องตั้งราคาขาย เท่ากับ 27.08 บาท ต่อลิตร ถึงจะคุ้มทุน (ผลกำไรร้อยละ 20 ของจุดคุ้มทุน)

- 3.3 การคำนวณหาจุดคุ้มทุนในการผลิตเอทานอล ณ ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ 20 บาท มีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 543.58 บาท ต่อการผลิตทั้งหมด 30 ลิตร ถ้าผลิต 1 ลิตร จะมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 18.12 บาท ประกอบด้วย

$$\text{รายจ่ายคงที่ } 8,000 + 500,000 = 508,000$$

$$\text{รายจ่ายผันแปร} = 18.12$$

ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร สามารถคำนวณหาจุดคุ้มทุนได้ดังนี้

$$QP = \text{รายจ่ายคงที่} + \text{รายจ่ายผันแปร}$$

$$50,000 \times P = (8,000 + 500,000) + 18.12 (50,000)$$

$$50,000P = 1,414,000$$

$$P = 28.28$$

(กำหนดให้ Q คือ ปริมาณสินค้าที่ขาย และ P คือ ราคา)

ณ ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 20 บาท เมื่อคำนวณหาจุดคุ้มทุนแล้ว ทำให้ทราบว่า ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร จะต้องตั้งราคาขาย เท่ากับ 28.28 บาทต่อลิตร ถึงจะคุ้มทุน (ผลกำไรร้อยละ 20 ของจุดคุ้มทุน)

- 3.4 การคำนวณหาจุดคุ้มทุนในการผลิตเอทานอล ณ ราคาน้ำตาลทรายดิบที่ 25 บาท มีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 615.58 บาท ต่อการผลิตทั้งหมด 30 ลิตร ถ้าผลิต 1 ลิตร จะมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 20.52 บาท

ประกอบด้วย

$$\text{รายจ่ายคงที่ } 8,000 + 500,000 = 508,000$$

$$\text{รายจ่ายผันแปร} = 20.52$$

ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร สามารถคำนวณหาจุดคุ้มทุนได้ดังนี้

$$QP = \text{รายจ่ายคงที่} + \text{รายจ่ายผันแปร}$$

$$50,000 \times P = (8,000 + 500,000) + 20.52 (50,000)$$

$$50,000P = 1,534,000$$

$$P = 30.68$$

(กำหนดให้ Q คือ ปริมาณสินค้าที่ขาย และ P คือ ราคา)

ณ ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 25 บาท เมื่อคำนวณหาจุดคุ้มทุนแล้ว ทำให้ทราบว่า ถ้าผลิตเอทานอลจำนวน 50,000 ลิตร จะต้องตั้งราคาขาย เท่ากับ 30.68 บาทต่อลิตร ถึงจะคุ้มทุน (ผลกำไรร้อยละ 20 ของจุดคุ้มทุน)

เมื่อทราบจุดคุ้มทุนแล้ว ทำให้ผู้วิจัยสามารถประเมินความน่าลงทุนในธุรกิจได้ โดยดูลักษณะของจำนวนสินค้าที่ต้องขาย และราคาสินค้าที่ทำให้เกิดจุดคุ้มทุน ควรตระหนักว่าจุดคุ้มทุนนี้เป็นเพียงจุดที่เท่าทุนหรือเสมอตัวเท่านั้น ดังนั้นเมื่อทราบจุดคุ้มทุนแล้ว ต้องขายสินค้าให้มากกว่า หรือตั้งราคาให้สูงกว่าที่คำนวณเพื่อให้เกิดกำไรในการขาย

1. ผลตอบแทน

4.1 ผลตอบแทนจากการผลิตเอทานอล ที่ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 10 บาท

$$\begin{aligned}\text{รายได้} &= \text{ปริมาณผลผลิต} \times \text{ราคาผลผลิต} \\ &= 50,000 \times 31.06 \\ &= 1,553,000 \text{ บาท}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{รายได้สุทธิ} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนผันแปรทั้งหมด} \\ &= 1,553,000 - 786,000 \\ &= 767,000 \text{ บาท}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{กำไรขั้นต้น} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนเหนือการขาย} \\ &= 1,553,000 - 794,000 \\ &= 759,000 \text{ บาท}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{กำไรสุทธิ} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนทั้งหมด} \\ &= 1,553,000 - 1,294,000 \\ &= 259,000 \text{ บาท}\end{aligned}$$

4.2 ผลตอบแทนจากการผลิตเอทานอล ที่ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 15 บาท

$$\begin{aligned}\text{รายได้} &= \text{ปริมาณผลผลิต} \times \text{ราคาผลผลิต} \\ &= 50,000 \times 32.50 \\ &= 1,625,000 \text{ บาท}\end{aligned}$$

$$\text{รายได้สุทธิ} = \text{รายได้} - \text{ต้นทุนผันแปรทั้งหมด}$$

$$\begin{aligned}
 &= 1,625,000 - 846,000 \\
 &= 779,000 \text{ บาท} \\
 \text{กำไรขั้นต้น} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนเนื่องการขาย} \\
 &= 1,625,000 - 854,000 \\
 &= 771,000 \text{ บาท} \\
 \text{กำไรสุทธิ} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนทั้งหมด} \\
 &= 1,625,000 - 1,354,000 \\
 &= 271,000 \text{ บาท}
 \end{aligned}$$

4.3 ผลตอบแทนจากการผลิตเอทานอล ที่ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 20 บาท

$$\begin{aligned}
 \text{รายได้} &= \text{ปริมาณผลผลิต} \times \text{ราคาผลผลิต} \\
 &= 50,000 \times 33.94 \\
 &= 1,697,000 \text{ บาท} \\
 \text{รายได้สุทธิ} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนผันแปรทั้งหมด} \\
 &= 1,697,000 - 906,000 \\
 &= 791,000 \text{ บาท} \\
 \text{กำไรขั้นต้น} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนเนื่องการขาย} \\
 &= 1,697,000 - 914,000 \\
 &= 783,000 \text{ บาท} \\
 \text{กำไรสุทธิ} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนทั้งหมด} \\
 &= 1,697,000 - 1,414,000 \\
 &= 283,000 \text{ บาท}
 \end{aligned}$$

4.4 ผลตอบแทนจากการผลิตเอทานอล ที่ระดับราคาน้ำตาลทรายดิบ 25 บาท

$$\begin{aligned}
 \text{รายได้} &= \text{ปริมาณผลผลิต} \times \text{ราคาผลผลิต} \\
 &= 50,000 \times 36.82 \\
 &= 1,841,000 \text{ บาท} \\
 \text{รายได้สุทธิ} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนผันแปรทั้งหมด} \\
 &= 1,841,000 - 1,026,000
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= 815,000 \text{ บาท} \\ \text{กำไรขั้นต้น} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนเหนือการขาย} \\ &= 1,841,000 - 1,034,000 \\ &= 807,000 \text{ บาท} \\ \text{กำไรสุทธิ} &= \text{รายได้} - \text{ต้นทุนทั้งหมด} \\ &= 1,841,000 - 1,534,000 \\ &= 307,000 \text{ บาท} \end{aligned}$$

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาและประเมินศักยภาพของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล โดยประกอบด้วยการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล ในระดับฟาส์กปริมาตร 500 มิลลิลิตร และศึกษาการผลิตในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อใช้ประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของน้ำตาลทรายดิบ จากผลการทดลอง พบว่า ที่สภาวะการใช้น้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 24 ร่วมกับการเติมยูเรียความเข้มข้น 0.23 เป็นแหล่งไนโตรเจนและเติมแหล่งแร่ธาตุ โดยสามารถผลิตได้ สูงสุดที่ร้อยละ 9.6 น้ำหนักต่อปริมาตร (ที่เวลาการหมัก 60 ชั่วโมง) จากนั้น ศึกษาการหมักระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยเปรียบเทียบการเติมและไม่เติมอากาศ จากผลการทดลอง พบว่า มีการผลิตเอทานอลของทั้งแบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ มีค่าปริมาณเอทานอลที่ถูกผลิตขึ้นไม่แตกต่างกัน (โดยแบบเติมอากาศมีค่าปริมาณเอทานอลมากกว่าเล็กน้อย) หลังจากระยะเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ประมวลร้อยละ 10.94 กรัมเอทานอลต่อกรัมซัสเตรต และคงที่จนถึง 60 ชั่วโมง ดังนั้น จากผลการทดลองดังกล่าว สภาวะน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 24 ร่วมกับการเติมยูเรียความเข้มข้น 0.23 เป็นแหล่งไนโตรเจนและเติมแหล่งแร่ธาตุและไม่เติมอากาศ ที่ เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการใช้ในการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร และเพื่อใช้ประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม จากผลการทดลอง พบว่า การผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 50 ลิตร สามารถผลิตเอทานอลได้มากถึง 10.99 กรัมเอทานอลต่อกรัมซัสเตรต ที่เวลา 36 ชั่วโมง จากนั้น ศึกษาและประเมินราคาต้นทุนของการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 50 ลิตร (Working volume เท่ากับ 30 ลิตร) โดยศึกษาปัจจัยของราคาน้ำตาลทรายดิบใน 4 ช่วง ได้แก่ 10, 15, 20 และ 25 บาท ต่อจุดคຸ້ມทุนในการผลิต โดยต้องขายในราคา จึงจะคຸ້ມทุน เท่ากับ 25.88, 27.08, 28.28 และ 30.68 บาท ตามลำดับ จากการผลการทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่า น้ำตาลทรายดิบหรือน้ำตาลซูโครสสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ โดยปัจจัยสำคัญของการผลิต คือ การเลือกสภาวะที่เหมาะสม และเลือกใช้วัตถุดิบที่จำเป็นต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ ซึ่งมีผลต่อราคาต้นทุนในการผลิตเช่นเดียวกัน ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสามารถใช้เป็นต้นแบบหรือทางแนวทางในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ และสามารถต่อยอดพัฒนาการผลิตในระดับอุตสาหกรรมในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- ชุดิมา ศรีจั่ว. 2548. การผลิตเอทานอลเชื้อเพลิงจากน้ำอ้อยโดยยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูง. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 202 หน้า.
- นฤมล โตอ่อน. (2549). ยีสต์สายพันธุ์ทนร้อนและการประยุกต์ใช้ในการผลิตเอทานอล.
วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 102 หน้า.
- สาวิตรี ลิ้มทอง. 2549. ยีสต์ : ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 611 หน้า.
- Acebal, C., M.P. Castillon and P. Estrada. 1986. Enhanced cellulase production
from *Trichoderma reesei* QM 9414 on physically treated wheat straw. **Applied
Microbiology and Biotechnology**. 218-223.
- Arrizon, J. and A. Gschaedler. 2002. Increasing fermentation efficiency at high sugar
concentrations by supplementing an additional source the tequila
fermentation process. **Canadian Journal of Microbiology (Ottawa)**. 48: 965-
970.
- Bafrcova, P., Smogrovicova, D., Slavikova, I., Patkova, J., & Domeny, Z. 1999 .
Improvement of very high gravity ethanol fermentation by media
supplementation using *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology**. 21: 337-
341.
- Boonsawang, P., Y. Subkaree and T. Srinorakutara. 2012. Ethanol production from palm
pressed fiber by prehydrolysis prior to simultaneous saccharification and
fermentation (SSF). **Biomass Bioenergy**. 40: 127-132.
- Canadian Renewable Fuels Association, n.d. **Ethanol and the Canadian Economy**.
Source: www.greenfuels.org/ethaecon.html, September 14, 2015.
- MacLean, H.L. and L.B. Lave. 2003. Evaluation Automobile Fuel/Propulsion System
Technologies. **Progress in Energy and Combustion Science**. 29: 1-69

- Murphy, J.D. and K. McCarthy. 2005. Ethanol production from energy crops and wastes for use as a transport fuel in Ireland. **Applied Energy**. 82: 148–166.
- Nagodawithana, T.W., C. Castellano and K.H. Steinkraus. 1976. Influence of the Rate of Ethanol Production and Accumulation on the Viability of *Saccharomyces cerevisiae*.
- Pereira, F.B., M.R. Guimaraes, J.A. Teixeira and L. Domingues. 2010. Optimization of low-cost medium for very high gravity ethanol fermentations by *Saccharomyces cerevisiae* using statistical experimental designs. **Bioresource Technology**. 101: 7856-7863.
- Perez, C. and R. Briones. 1995. Simultaneous production of ethanol and kraft pulp from pine (*pinus radiata*) using steam explosion. **Bioresource Technology**. 98: 411-420.
- Reddy, L.V.A. 2005. Rapid and enhanced production of ethanol in very high gravity (VHG) sugar fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Role of finger millet, **Process Biochemistry**. 32: 432-441.
- Rose, A.H. and Harrison, J.S. 1970. *Yeast Technology*. Vol.3. London: Academic Press.
- Smart, K. 2000. *Brewing yeast fermentation performance*. 2nd ed. Oxford: Oxford Bookes University.
- Roukas, T. 1996. Ethanol production from non-sterilized molasses by free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells using fed-batch culture. **J. Food**. 26: 165-173
- Santos J, et al. 2008 Ethanol tolerance of sugar transport and the rectification of stuck wine fermentations. **Microbiology** 154(Pt 2): 422-30

ภาคผนวก

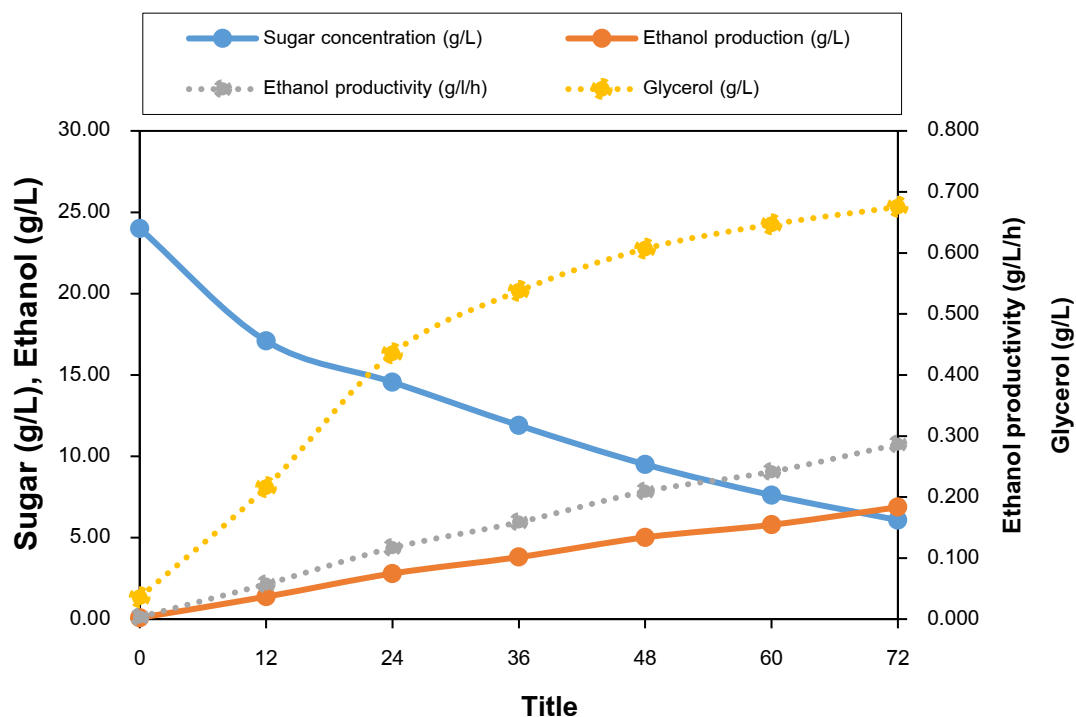
ภาคผนวกที่ 1

ผลการศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน
ต่อการผลิตเอทานอลในระดับฟาส์ก 500 มิลลิตร

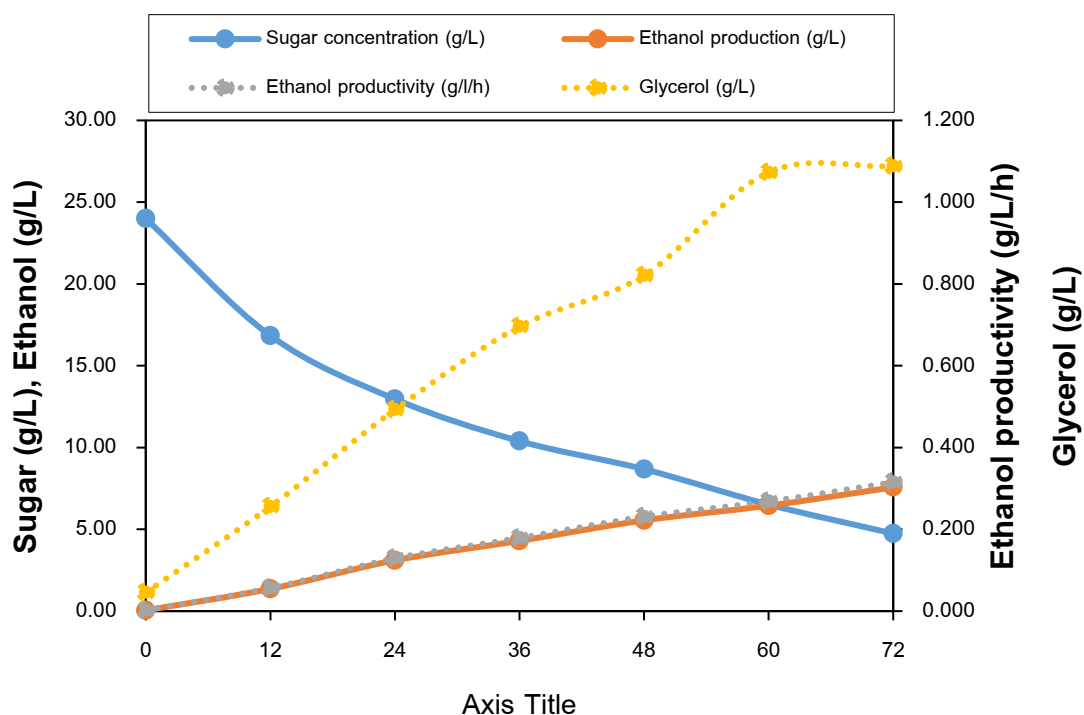
ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอล

เวลา	สภาวะการทดลอง (ทุกสภาวะใช้ปริมาณน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นร้อยละ 24)						
	0.1% Urea	0.23% Urea	0.5% Urea	0.1% AS	0.5% AS	0.7% AS	1.0% YE
Optical density (OD 600)							
0	0.108	0.156	0.160	0.195	0.190	0.241	0.193
12	1.219	1.223	1.140	1.339	1.294	1.176	1.925
24	1.312	1.369	1.378	1.535	1.417	1.184	2.262
36	1.356	1.509	1.526	1.554	1.425	1.412	2.352
48	1.676	1.574	1.625	1.599	1.516	1.446	2.495
60	1.669	1.663	1.623	1.638	1.517	1.449	2.493
72	1.774	1.695	1.678	1.668	1.589	1.581	2.489
pH							
0	6.43	7.55	8.27	4.99	4.85	4.85	5.14
12	3.89	4.37	3.40	3.04	3.20	4.57	4.38
24	3.72	4.32	4.62	2.92	2.98	3.05	4.64
36	3.66	4.48	4.88	2.93	2.95	3.01	4.10
48	3.64	4.48	4.92	2.89	2.94	2.98	4.17
60	3.69	4.60	4.99	2.86	2.93	3.00	4.18
72	3.68	4.63	4.98	2.79	2.93	3.00	4.18
Ethanol (g/g)							
0	0.080	0.049	0.060	0.064	0.297	0.453	0.071
12	1.376	1.362	0.986	1.299	1.053	0.978	4.177
24	2.802	3.108	2.652	2.930	2.249	1.617	9.050
36	3.809	4.299	3.787	3.941	3.139	2.376	10.531
48	5.022	5.552	5.074	5.208	4.176	3.404	10.494
60	5.795	6.450	5.711	5.909	4.465	4.131	10.908
72	6.875	7.572	6.854	6.161	5.291	5.495	10.753
Glycerol (w/v)							
0	0.036	0.046	0.033	0.033	0.118	0.046	0.033
12	0.216	0.256	0.249	0.225	0.247	0.253	0.468
24	0.435	0.493	0.720	0.501	0.435	0.408	0.698
36	0.538	0.696	0.891	0.635	0.555	0.524	0.708
48	0.607	0.821	1.062	0.756	0.630	0.632	0.709
60	0.647	1.073	1.207	0.834	0.671	0.622	0.704
72	0.675	1.088	1.268	0.868	0.687	0.651	0.707

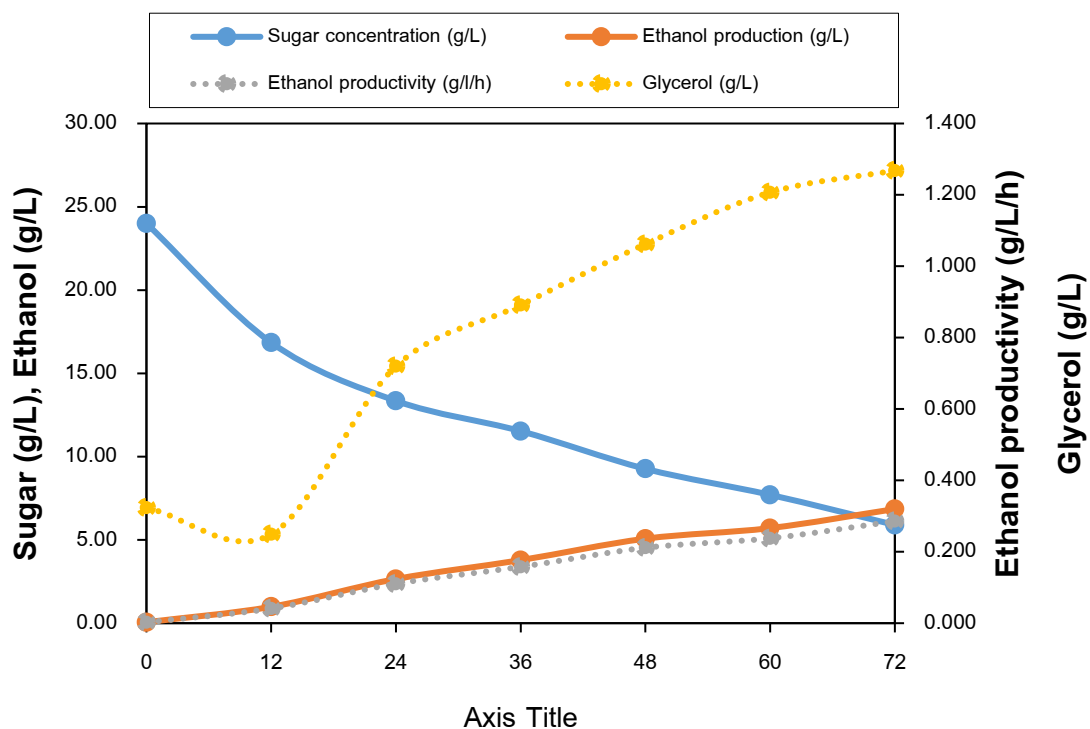
หมายเหตุ กำหนดให้ AS คือ Ammonium sulfate และ YE คือ Yeast extract



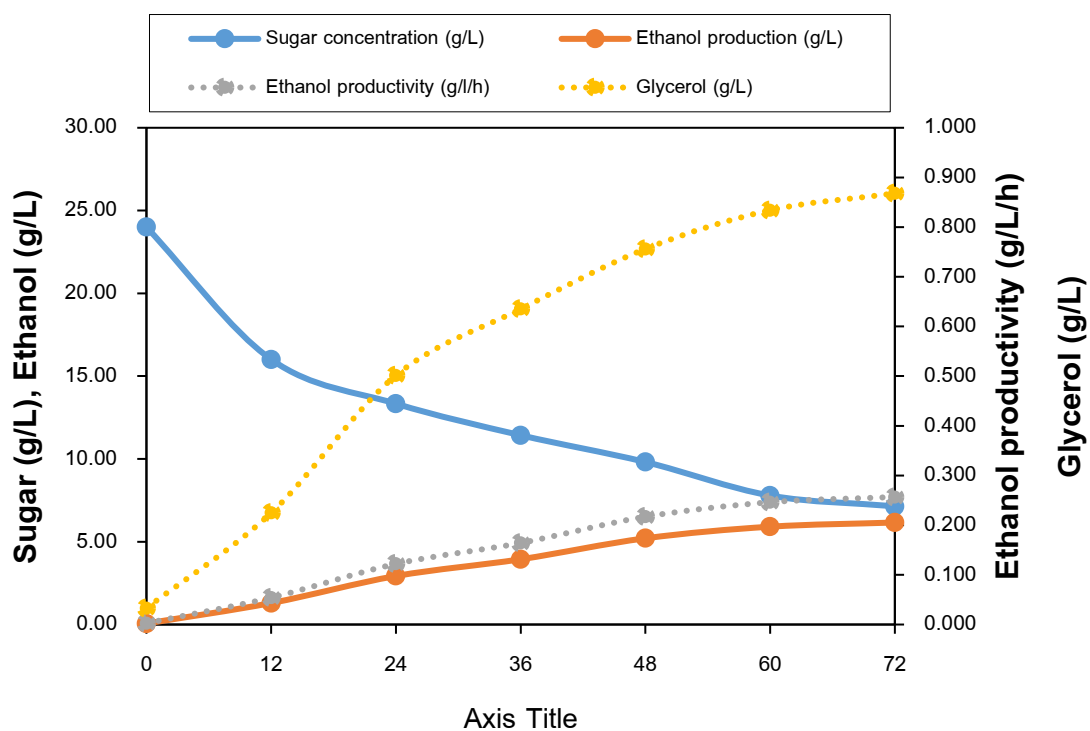
ภาพที่ 1 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)



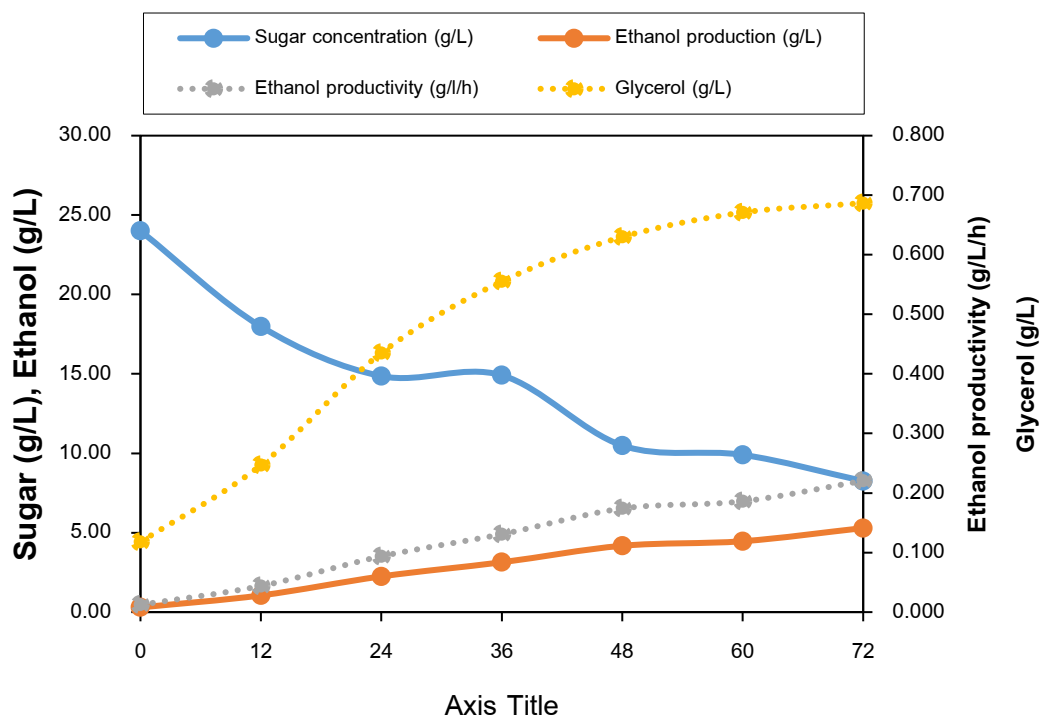
ภาพที่ 2 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.23 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)



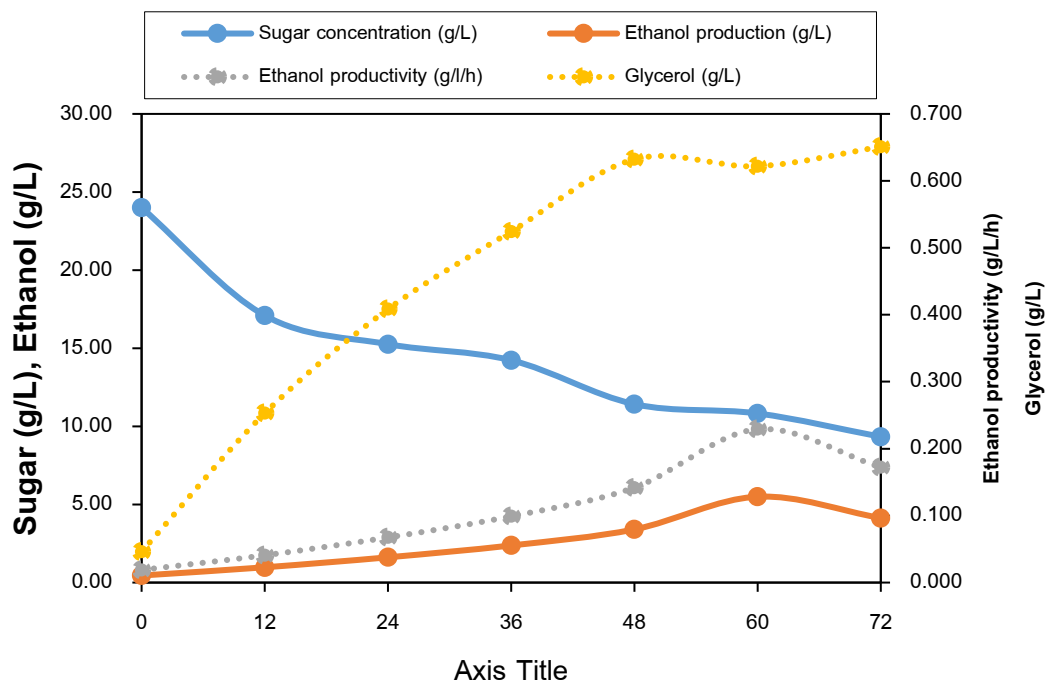
ภาพที่ 3 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้ยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)



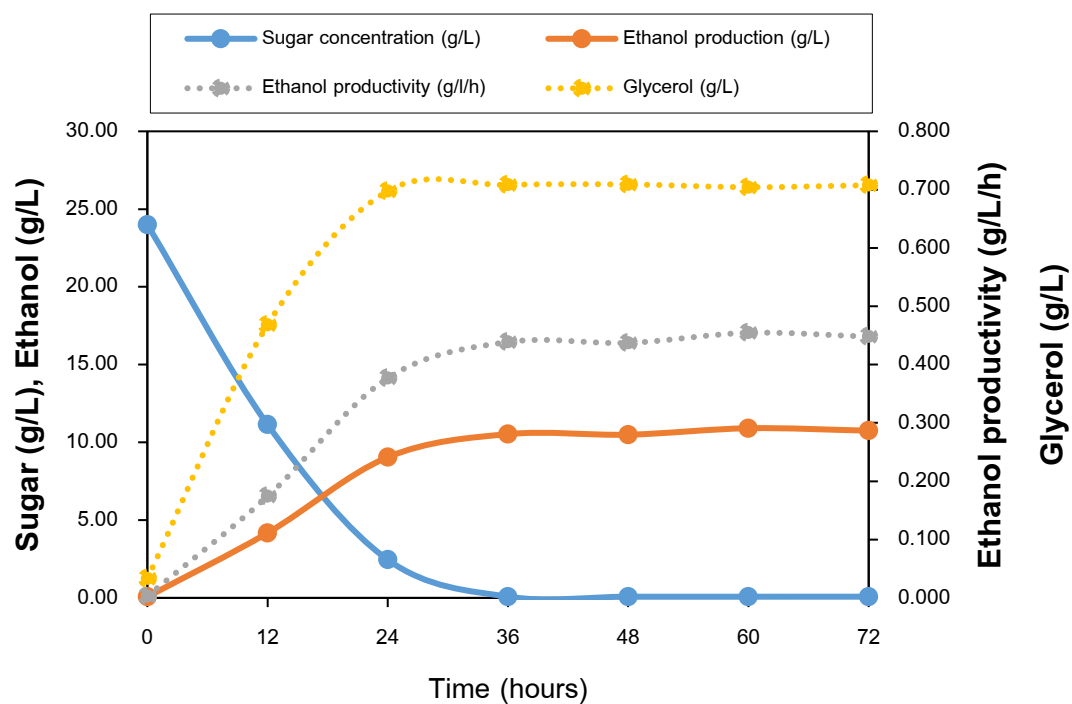
ภาพที่ 4 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)



ภาพที่ 5 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหมักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาส์ก 500 มิลลิลิตร)



ภาพที่ 6 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.7 โดยน้ำหมักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาส์ก 500 มิลลิลิตร)



ภาพที่ 7 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 24 โดยใช้สารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร)

ภาคผนวกที่ 2

ผลการศึกษาการเติมแร่ธาตุร่วมกับแหล่งไนโตรเจน
ต่อการผลิตเอทานอลในระดับฟาส์ก 500 มิลลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 2 การศึกษาการเติมแร่ธาตุ (Trace element) และปริมาณและชนิดของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับฟาสก์ 500 มิลลิลิตร

เวลา	สภาวะการทดลองที่				
	24% Glu + 1% YE	24% Su + 1% YE	24% RS + 0.23% Urea + TE	24%RS +0.5% AS+TE	24%RS+0.1%Urea +0.3%AS+TE
Optical density (OD 600)					
0	0.246	0.149	0.120	0.158	0.136
12	1.299	1.988	1.032	1.445	1.493
24	1.893	2.432	1.625	1.738	1.796
36	2.053	2.564	1.761	1.764	1.839
48	2.158	2.565	1.831	1.894	2.002
60	2.194	2.566	1.840	1.931	1.750
72	2.195	2.565	1.794	1.937	1.739
pH					
0	5.04	5.19	6.49	4.62	5.55
12	4.34	4.14	3.51	2.51	2.71
24	4.10	4.06	4.05	2.49	2.75
36	4.01	4.07	4.23	2.44	2.58
48	4.01	4.20	4.16	2.45	2.72
60	4.03	4.17	4.35	2.46	2.96
72	4.12	4.16	4.35	2.43	2.93
Ethanol (g/g)					
0	0.063	0.075	0.075	0.406	0.067
12	1.489	3.953	2.121	1.734	1.852
24	5.292	9.166	6.410	3.948	4.348
36	7.151	9.991	8.771	5.287	5.889
48	8.723	10.030	9.199	6.456	7.467
60	9.416	10.167	9.653	6.254	7.888
72	9.611	10.274	9.491	6.232	7.713
Glycerol (w/v)					
0	0.028	0.030	0.030	0.036	0.046
12	0.281	0.446	0.354	0.327	0.337
24	0.523	0.710	0.840	1.022	0.753
36	0.587	0.717	0.874	1.232	1.106
48	0.666	0.715	0.900	1.308	1.088
60	0.678	0.709	0.924	1.311	1.096
72	0.690	0.717	0.939	1.319	1.102

หมายเหตุ กำหนดให้ AS คือ Ammonium sulfate, YE คือ Yeast extract และ TE คือ Trace element

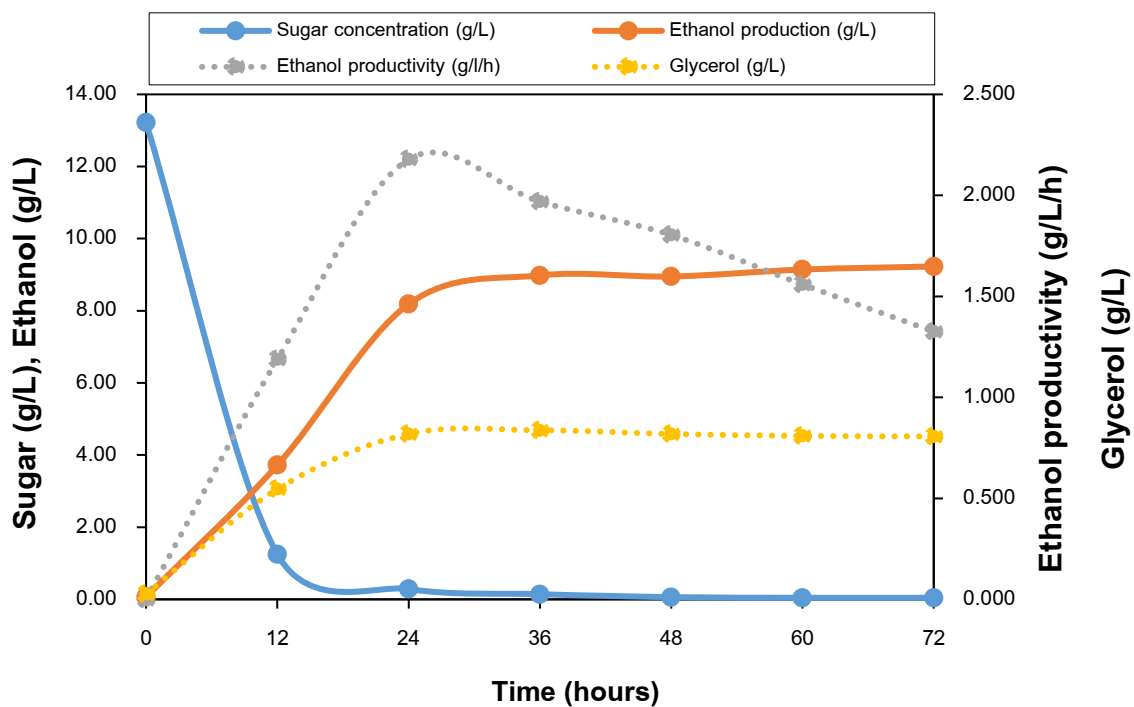
ภาคผนวกที่ 3

ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร

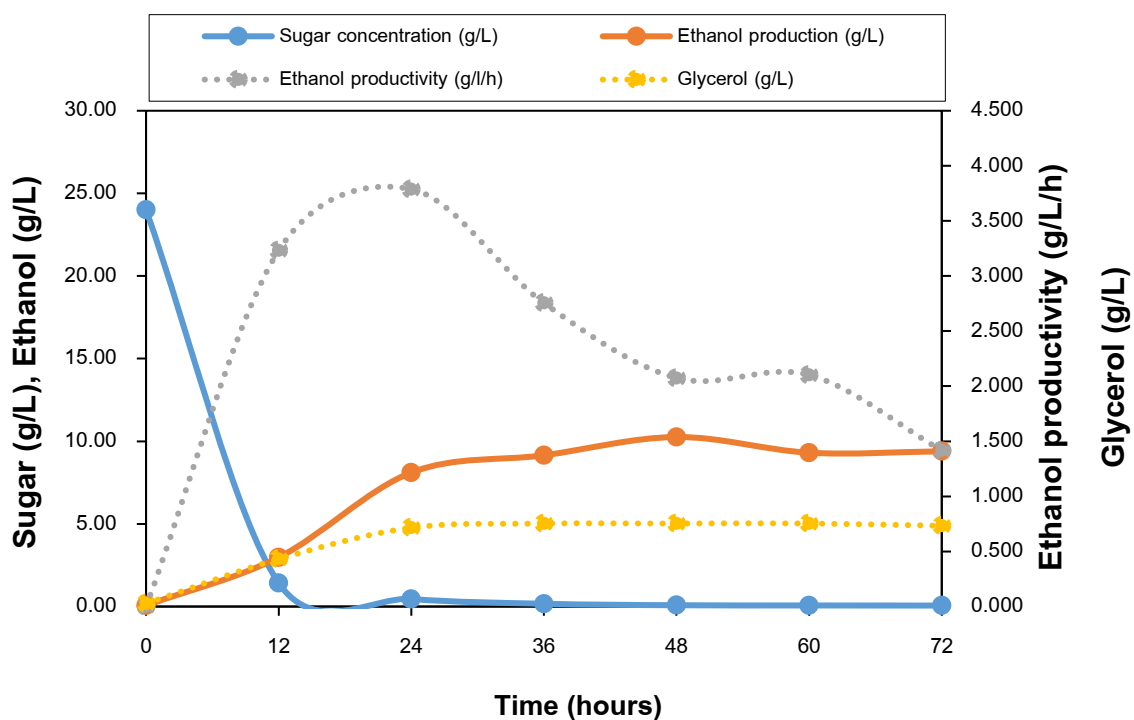
ตารางภาคผนวกที่ 3 การศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร (น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น ร้อยละ 24)

เวลา	สภาวะการทดลองที่			
	1% YE, Aeration	1%YE, Non-Aeration	0.23% Urea + TE + Aeration	0.23% Urea + TE + Non-Aeration
Optical density (OD 600)				
0	0.684	0.678	0.141	0.094
12	2.299	1.996	1.439	1.175
24	2.609	2.354	1.605	1.382
36	2.685	2.421	2.263	1.922
48	2.689	2.539	2.305	2.098
60	2.690	2.543	2.326	2.076
72	2.686	2.540	2.321	2.164
pH				
0	5.25	5.28	6.98	6.91
12	4.29	4.26	3.55	3.46
24	4.18	4.16	3.98	3.78
36	4.25	4.21	4.11	4.04
48	4.29	4.29	4.30	4.18
60	4.29	4.29	4.36	4.24
72	4.29	4.29	4.40	4.35
Ethanol (g/g)				
0	0.063	0.075	0.075	0.089
12	1.489	3.953	3.259	2.945
24	5.292	9.166	7.918	6.440
36	7.151	9.991	10.651	8.558
48	8.723	10.030	10.893	10.786
60	9.416	10.167	10.654	10.942
72	9.611	10.274	10.521	10.935
Glycerol (w/v)				
0	0.028	0.030	0.028	0.030
12	0.281	0.446	0.281	0.446
24	0.523	0.710	0.523	0.710
36	0.587	0.717	0.587	0.717
48	0.666	0.715	0.666	0.715
60	0.678	0.709	0.678	0.709
72	0.690	0.717	0.690	0.717

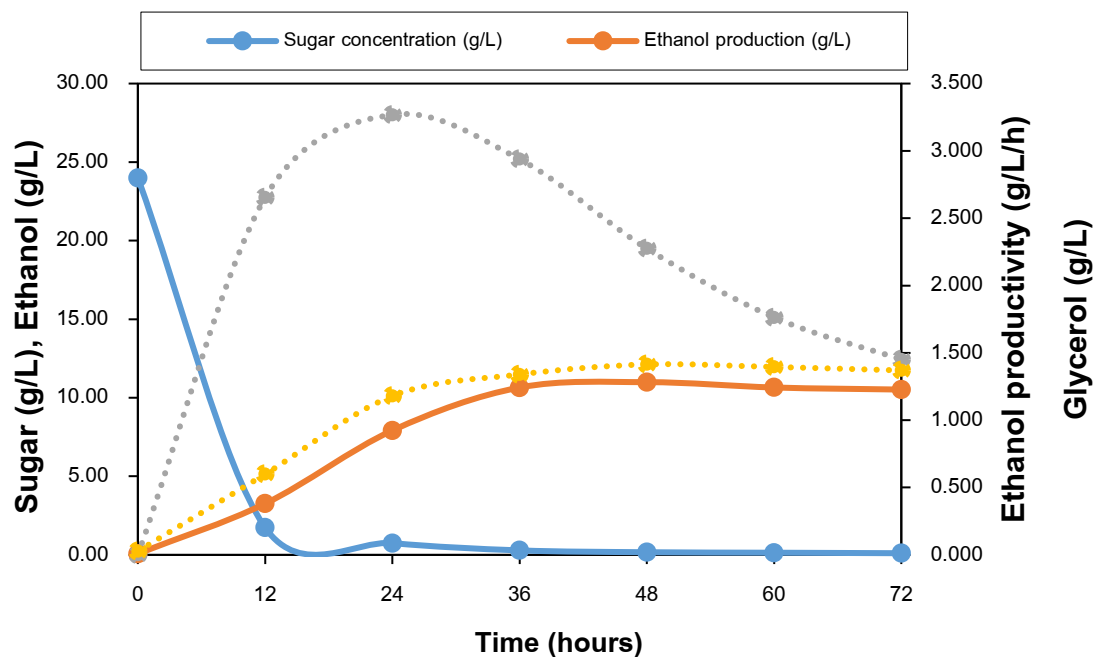
หมายเหตุ กำหนดให้ YE คือ Yeast extract และ TE คือ Trace element



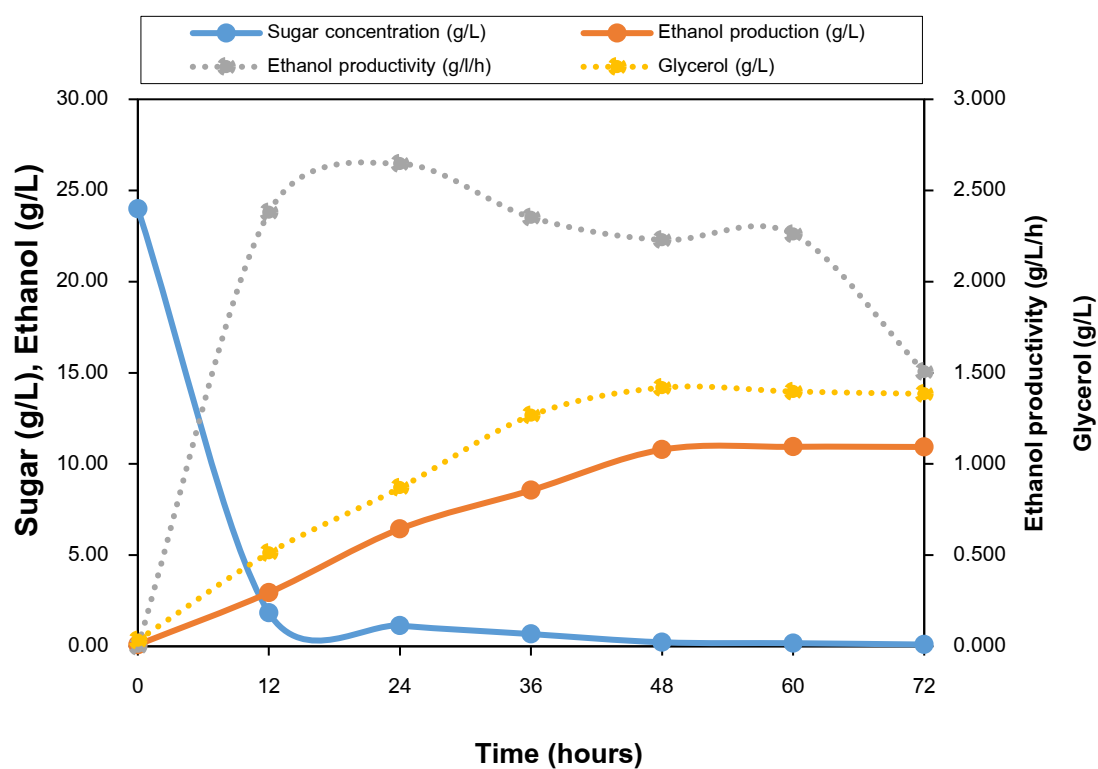
ภาพที่ 8 การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น ร้อยละ 24 และสารสกัดยีสต์ร้อยละ 1 และเติมอากาศ



ภาพที่ 9 การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น ร้อยละ 24 และสารสกัดยีสต์ร้อยละ 1 และไม่เติมอากาศ



ภาพที่ 10 การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น ร้อยละ 24 และ ยูเรียร้อยละ 0.23 และเติมอากาศ



ภาพที่ 11 การผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 5 ลิตร ที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น ร้อยละ 24 และ ยูเรียร้อยละ 0.23 และไม่เติมอากาศ

ภาคผนวกที่ 4

ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 50 ลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 4 การศึกษาการผลิตเอทานอลในถังหมักระดับ 50 ลิตร

Optical density (OD 600)	
0	0.198
12	0.900
24	1.287
36	1.343
48	1.387
60	1.392
72	1.374
pH	
0	7.13
12	3.43
24	3.94
36	4.15
48	4.31
60	4.39
72	4.45
Ethanol	
0	0.075
12	3.259
24	7.918
36	10.652
48	10.993
60	10.654
72	10.521
Glycerol	
0	0.059
12	0.479
24	1.296
36	1.415
48	1.285
60	1.405
72	1.400

หมายเหตุ กำหนดให้ YE คือ Yeast extract และ TE คือ Trace element

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้
และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

1. ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์โครงการ	ผลการดำเนินงานตามวัตถุประสงค์
1. ศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล และศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในระดับถังหมัก 5 และ 50 ลิตร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ	1. ทราบถึงปริมาณของน้ำตาลทรายดิบเริ่มต้น (ความเข้มข้นเริ่มต้น) แหล่งไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ และทราบถึงการเพิ่มขนาดการผลิตในถังหมัก 5 และ 50 ลิตร ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่า น้ำตาลทรายดิบสามารถนำมาผลิตเอทานอลได้จริง
2. ประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของน้ำตาลทรายดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม	2. ทราบถึงราคาค้นทุน และจุดคุ้มทุนในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบ โดยเปรียบเทียบกับการผลิตในถังหมัก 50 ลิตร

2. ตารางเปรียบเทียบกิจกรรมที่วางแผนไว้และกิจกรรมที่ดำเนินการมา และผลการดำเนินการ

แผนกิจกรรม	ระยะเวลา (เดือน ที่)	ผลการดำเนินการ
1. ศึกษาการผลิตเอทานอลจาก น้ำตาลทรายดิบของจุลินทรีย์	เดือนที่ 1-2	1. ทราบถึงรูปแบบการผลิตเอทานอล และปัจจัยสำคัญในการผลิตเอทานอลจากแหล่งคาร์บอนต่างๆ ซึ่งทำให้สามารถออกแบบการทดลอง เพื่อ ศึกษาการใช้น้ำตาลทรายดิบเป็น แหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตเอทานอลได้
2. ศึกษา แหล่ง และ ปริมาณ ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิต เอทานอลให้ระดับพลาส์ก 500 มิลลิลิตร	เดือนที่ 4-6	2. ทราบถึงชนิดของแหล่งและปริมาณ ไนโตรเจนว่ามีผลต่อการผลิตเอทานอล ซึ่งการเลือกใช้นิตและเลือกใช้ ปริมาณแหล่งไนโตรเจน ต้องมีความ เหมาะสม
3. ศึกษาการผลิตเอทานอลระดับถึง หมักขนาด 5 ลิตร	เดือนที่ 7-8	3. ทราบถึงสภาวะที่ศึกษาในระดับพ ลาส์กที่ศึกษาได้ สามารถผลิตได้จริง ในระดับถึงหมัก
4. ศึกษาการผลิตเอทานอลระดับถึง หมักขนาด 50 ลิตร	เดือนที่ 8-10	4. ทราบถึงสภาวะที่ศึกษาทั้งหมด สามารถผลิตเอทานอลได้จริงในระดับ ถึงหมัก 50 ลิตร และสามารถผลิตเอ ทานอลได้ในปริมาณสูง
5. การ ประเมินศักยภาพทาง เศรษฐศาสตร์ในการใช้น้ำตาล ทรายดิบในการใช้ผลิตเอทานอล	เดือนที่ 10-12	5. ใช้ผลการผลิตเอทานอลในถึงหมัก ระดับ 50 ลิตร เป็นข้อมูลพื้นฐานใน ประเมินต้นทุนในการผลิต และ จุดคุ้มทุน
6. สรุปและจัดทำรายงาน	เดือนที่ 12	6. สามารถจัดทำรายงานรูปเล่มเสร็จสิ้น ตามระยะเวลาที่วางแผนไว้

