



รายงานสหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยวัตถุดิบน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบ
ด้วยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ

Feasibility Study of Ethanol Production from Multi-feedstock of
Mash Slurry and Raw Sugar by Fed-Batch Fermentation

นางสาวมาริษา ปาละหน่อ

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2562

ชื่อโครงการสหกิจศึกษา การศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยวัตถุดิบน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาล
ดิบด้วยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ

ชื่อ-สกุล นักศึกษา นางสาวมาริษา ปาละหน่อ

คณะ วิศวกรรมศาสตร์ ภาควิชา วิศวกรรมเคมี

ชื่อ-สกุล อาจารย์นิเทศ ผศ.ดร.วัลย์รัตน์ จันทรัมย์พร

ชื่อ-สกุล ผู้นิเทศงาน นางสาววันทนี ภูจิตร

สถานประกอบการ บริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาแนวทางการผลิตเอทานอลด้วยน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบโดยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ ด้วยยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* เพื่อหาปริมาณสารละลายน้ำตาลดิบที่ทำให้ได้ประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์สูงที่สุด ทำการศึกษาโดยใช้น้ำแป้งจากกระบวนการผลิตของบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด ทดลองหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 70 และ 50 โดยปริมาตร หมักร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นร้อยละ 18 และ 30 บริกซ์ ทำการเติมสารละลายน้ำตาลดิบทีละ 200 มิลลิลิตร โดยเริ่มเติมในช่วงเวลาที่ 20 และเติมทุก 4 ชั่วโมงจนปริมาณน้ำหมักรวม 2000 มิลลิลิตร หมักจนกระทั่งปริมาณน้ำตาลกลูโคสในน้ำหมักมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 1.00 โดยมวลต่อปริมาตร วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC จากผลการศึกษาพบว่าการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นร้อยละ 30 บริกซ์ ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 โดยปริมาตร มีประสิทธิภาพการหมักสูงสุดที่ร้อยละ 87.49 ตามด้วยการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นร้อยละ 18 บริกซ์ ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 โดยปริมาตร มีประสิทธิภาพสูงร้อยละ 82.87

คำสำคัญ : เอทานอล การหมักแบบกึ่งกะ การหมักด้วยวัตถุดิบสองชนิด

Cooperative Title: Feasibility Study of Ethanol Production from Multi-feedstock of Mash Slurry and Raw Sugar by Fed-Batch Fermentation

Student intern name: Miss Marisa Palanor

Faculty: Engineering **Department:** Chemical Engineering

Advisor name:

Mentor name: Miss Wantanee Phujit

Company: Sapthip co., ltd.

ABSTRACT

The objectives of this report were to study the ethanol production from mash slurry and raw sugar solution with fed-batch fermentation by *Saccharomyces Cerevisiae* in order to find the amount raw sugar that provided the maximum fermentation efficiency. The mash slurry was collected from the production process of Sapthip co., ltd. The fermentation experiments were conducted at the concentrations of 90, 70, and 50 %v/v of raw sugar and raw sugar solution at the concentrations of 18 and 30 %Brix. The 200 mL raw sugar solution was firstly topped-up after 20 hours of the mash slurry fermentation and then each following 200 mL raw sugar was topped-up every 4 hours until the total volume of fermentation medium was 2000 mL. The fermentation experiments were finished when glucose concentration in the medium analyzed by HPLC technique was less than 1.00 %w/v. It was found that mash slurry ratio at 90 %v/v and raw sugar solution concentration at 30 %Brix provided the highest fermentation efficiency at 87.49% followed by the mash slurry ratio at 50 %v/v and raw sugar solution concentration at 18 %Brix at 82.87% fermentation efficiency.

Keywords: Ethanol, Fed-batch Fermentation, Multi-feedstock

กิตติกรรมประกาศ

โครงการสหกิจศึกษานี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือของอาจารย์นิเทศโครงการสหกิจศึกษา ผศ.ดร.วัลย์รัตน์ จันทระอำพร ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย ขอขอบคุณวันทนี ภูจิตร วิศวกรผู้นิเทศงาน สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านในการทำวิจัย ขอขอบคุณบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด สำหรับโอกาสและความช่วยเหลือที่มอบให้ในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณพี่ในแผนกวางแผนและพัฒนากระบวนการผลิต พี่ในห้องปฏิบัติการ พี่แผนกทรัพยากรบุคคล และพี่ในบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด ที่คอยให้ความรู้ให้คำแนะนำ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาโครงการสหกิจศึกษา นอกจากนี้ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่เป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงการสหกิจศึกษานี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณบิดามารดา และครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนคอยช่วยเหลือและให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมา

มาริษา ปาละหน่อ



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	I
ABSTRACT	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูปภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.4 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	5
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1.1 แอลกอฮอล์	6
2.1.2 เอทานอล	7
2.1.3 การผลิตแอลกอฮอล์	8
2.1.4 ประเภทของการหมัก.....	14
2.1.5 กระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ.....	18
2.1.6 ยีสต์ <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	22
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	29
3.1 วิธีการทดลอง.....	29
3.1.1 การเตรียมแหล่งคาร์บอนและการทดลองหมัก.....	29
3.1.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำแป้ง	29
3.1.3 การวิเคราะห์น้ำ Spent Wash.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 การหาผลได้และประสิทธิภาพการหมัก.....	38
3.1.5 การประเมินราคา.....	41
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	43
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	53
5.1 สรุปผลการทดลอง	53
5.2 ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	55
ประวัติผู้เขียน.....	57



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1.1 การใช้ การผลิต และการนำเข้าพลังงานขั้นต้นของประเทศไทย	1
ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของวัตถุดิบเอทานอลทั่วไป (%wt).....	12
ตารางที่ 2.2 ปริมาณเอทานอลที่เกิดจากการผลิตโดยใช้วัตถุดิบทางธรรมชาติ	13
ตารางที่ 2.3 ต้นทุนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่าง ๆ	13
ตารางที่ 2.4 ขนาดโรงงานผลิตเอทานอลในไทย	14
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นต่ำ (18 %Brix)	43
ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นสูง (30 %Brix)	45
ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ Spent Wash	48
ตารางที่ 4.4 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ 18 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว.....	49
ตารางที่ 4.5 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ 18 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว.....	50
ตารางที่ 4.6 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ 18 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว.....	50
ตารางที่ 4.7 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง 30 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว.....	51
ตารางที่ 4.8 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง 30 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว.....	51
ตารางที่ 4.9 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง 30 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว.....	51

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1.1 อัตราการใช้พลังงานทดแทนของประเทศไทยในปี 2557-2561	2
ภาพที่ 1.2 สถิติราคามันสำปะหลังเส้น พ.ศ.2558-2562	3
ภาพที่ 1.3 สถิติราคาน้ำตาลทรายดิบ พ.ศ.2558-2562	4
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของแอลกอฮอล์	6
ภาพที่ 2.2 กระบวนการอินโดเรค ไฮเดรชันเอธิลีน (เอสเตอร์ิฟิเคชัน-ไฮโดรไลซิส)	9
ภาพที่ 2.3 กระบวนการไคเรค ไฮเดรชันเอธิลีน	11
ภาพที่ 2.4 แผนภาพกระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ	18
ภาพที่ 2.5 มันสำปะหลังเส้นสั้น	19
ภาพที่ 2.6 หัวมันสำปะหลังสด	20
ภาพที่ 2.7 ภาพการทำงานของโมเลกุลาร์ชิฟ	22
ภาพที่ 2.8 ลักษณะเซลล์ <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	23
ภาพที่ 2.9 แผนภาพการเจริญเติบโตของยีสต์ต่อเวลา	24
ภาพที่ 2.10 ปฏิกริยาเมทาบอลิซึมจากการหมักด้วยยีสต์ <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	26
ภาพที่ 3.1 รูปจำลองฮิโมซิโตมิเตอร์	31
ภาพที่ 4.1 ปริมาณเชื้อยีสต์ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา ในการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นต่ำ (18 %Brix)	45
ภาพที่ 4.2 ปริมาณเชื้อยีสต์ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา ในการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นสูง (30 %Brix)	48

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

จำนวนประชากรในประเทศไทยมีการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง อ้างอิงจากรายงานสถานการณ์พลังงานไทยปี 2561 (กรมพัฒนาพลังงานทดแทน และอนุรักษ์พลังงาน, 2561) ทำให้การใช้ การผลิต และการนำเข้าพลังงานเกือบทุกประเภทเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะจากแหล่งน้ำมันสำเร็จรูปและไฟฟ้าซึ่งเป็นพลังงานหลัก ทั้งนี้การใช้พลังงานของประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ดังแสดงในตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 1.1 การใช้ การผลิต และการนำเข้าพลังงานขั้นต้นของประเทศไทย
(กรมพัฒนาพลังงานทดแทน และอนุรักษ์พลังงาน, 2561)

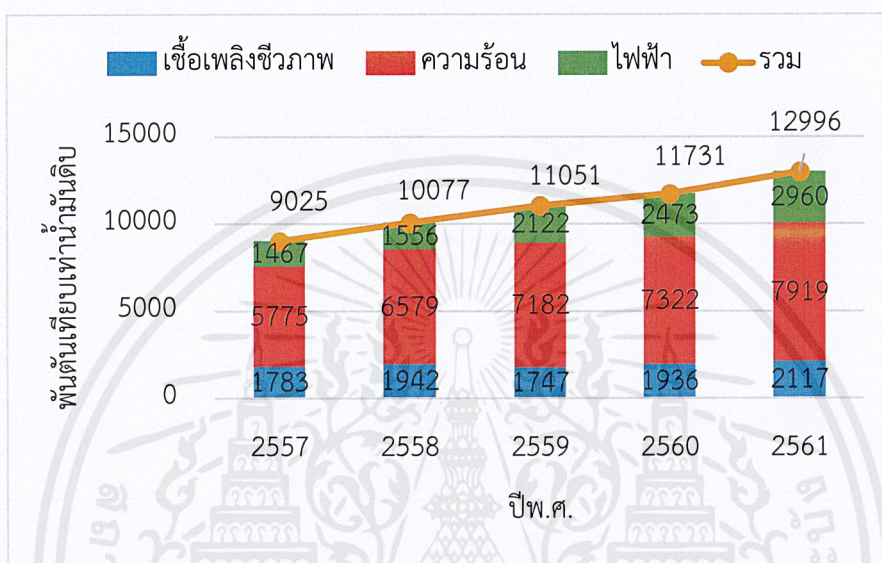
หน่วย: พันบาร์เรลเทียบเท่าน้ำมันดิบต่อวัน

	2556	2557	2558	2559	2560
การใช้	1994	2038	2069	2096	2120
การผลิต	1063	1058	1015	1018	972
การนำเข้า (สุทธิ)	1130	1171	1251	1275	1427
การนำเข้า/การใช้ (%)	57	57	60	61	67
อัตราการเปลี่ยนแปลง					
การใช้	1.7	2.2	1.5	1.3	1.1
การผลิต	0.4	-0.5	-4.0	0.3	-4.6
การนำเข้า (สุทธิ)	4.2	3.6	6.8	1.9	12.0
GDP (%)	7.2	0.9	2.8	3.2	3.9

รัฐบาลมีนโยบายการพัฒนาพลังงานทดแทน ที่มีเป้าหมายให้มีการใช้พลังงานทดแทนเพิ่มขึ้นในทุกภาคส่วนของสังคม เพื่อลดการใช้พลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล และลดการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) เนื่องจากการพัฒนาพลังงานทดแทนของประเทศไทยในปัจจุบัน จะใช้พลังงานที่ผลิตภายในประเทศเป็นหลัก ประกอบด้วย แสงอาทิตย์ ลม พลังน้ำขนาดเล็ก พลังน้ำขนาดใหญ่ ชีวมวล ก๊าซชีวภาพ ขยะ และเชื้อเพลิงชีวภาพ (เอทานอลและไบโอดีเซล) การใช้พลังงานทดแทนดังกล่าว จะใช้ในรูปแบบของไฟฟ้า ความร้อน และเชื้อเพลิงชีวภาพ

ในปี 2561 ประเทศไทยมีการใช้พลังงานทดแทน 12,996 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ เพิ่มขึ้นจากปีก่อน ร้อยละ 10.8 และคิดเป็นร้อยละ 15.48 ของการใช้พลังงานขั้นสุดท้าย ส่งผลให้การนำเข้าพลังงานลดลง คิดเป็นมูลค่า 214,434 ล้านบาท ลดการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 39.86 ล้านตัน

ภาพที่ 1.1 แสดงให้เห็นว่า พลังงานทดแทนที่ใช้ในประเทศไทยมีการใช้รูปความร้อนมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ไฟฟ้า และเชื้อเพลิงชีวภาพ (เอทานอลและไบโอดีเซล) ตามลำดับ



ภาพที่ 1.1 อัตราการใช้พลังงานทดแทนของประเทศไทยในปี 2557-2561
(ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561)

การใช้น้ำมันเบนซินทำให้เกิดปัญหามลภาวะต่าง ๆ โดยเฉพาะมลภาวะทางอากาศ (Sadaf, 2559) ก่อให้เกิดอนุภาคฝุ่นละอองขนาดเล็ก สามารถสะสมในร่างกายของมนุษย์เป็นสาเหตุของปัญหาสุขภาพ เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจก ทำให้ภาวะโลกร้อนรุนแรงมากขึ้น ก๊าซพิษเช่นไนโตรเจนออกไซด์ (NO_x) ซัลเฟอร์ออกไซด์ (SO_x) และสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย หรือที่เรียกกันทั่วไปว่าสาร VOCs สามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีเกิดเป็นสารมลพิษทางอากาศทุติยภูมิ

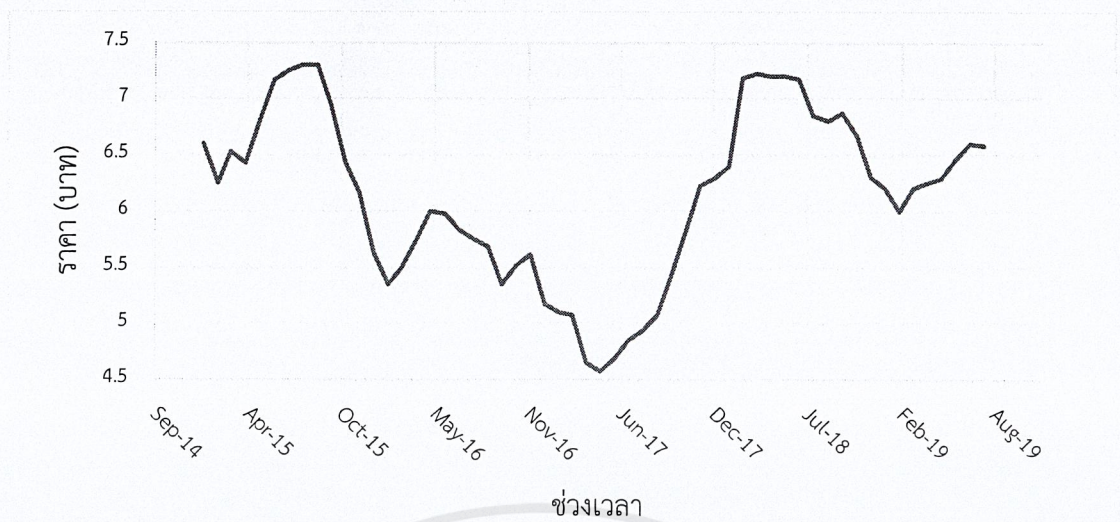
ก๊าซโซฮอลล์ เกิดจากการผสมเอทานอลกับน้ำมันเบนซิน สามารถลดการเกิดฝุ่นละออง PM (Storey et al., 2553) ช่วยลดการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซไนโตรเจนออกไซด์ (He et al., 2545) และลดการปล่อยสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายได้ (Muñoz et al., 2559) นอกจากนี้ การผลิตเอทานอลใช้วัตถุดิบพืชผลจากการเกษตร ซึ่งเป็นอาชีพหลักของประชากรไทย (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2562) จึงเป็นการช่วยเหลือเกษตรกรไทย และลดมลภาวะทางอากาศได้

กระบวนการผลิตเอทานอลของบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด จ.ลพบุรี เริ่มจากการเตรียมวัตถุดิบ โดยนำมันสำปะหลังเส้นมาบด ผสมกับน้ำให้เป็นน้ำแป้ง เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพื่อเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลเดกซ์ทริน เติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เปลี่ยนน้ำตาลเดกซ์ทรินเป็นน้ำตาลกลูโคส พร้อมกับเติมยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* แล้วหมักเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 10-12 โดยปริมาตร น้ำหมักที่ได้จะถูกไปเก็บไว้ในถังเปียร์ เพื่อนำเข้าสู่กระบวนการกลั่น และเข้ากระบวนการแยกน้ำ เพื่อให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ 99.5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับผสมในน้ำมันเชื้อเพลิง

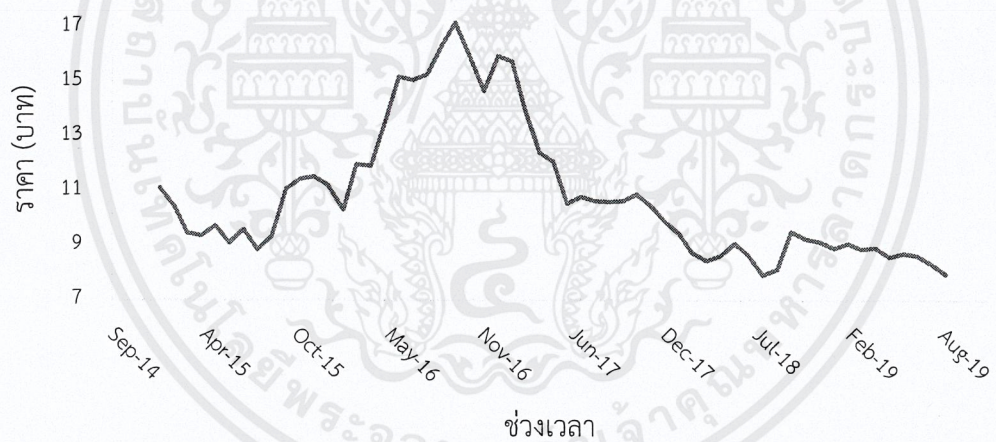
ในกระบวนการผลิตเอทานอลโดยการหมัก ต้นทุนการผลิตส่วนมากมาจากต้นทุนด้านวัตถุดิบ (Mistry, 2534) โดยต้นทุนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังมาจากต้นทุนด้านวัตถุดิบมากถึง ร้อยละ 60 ถึง 75 เมื่อราคามันสำปะหลังเปลี่ยนแปลง จะส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิตเอทานอล ความผันผวนของราคามันสำปะหลัง ขึ้นกับอุปสงค์และอุปทานของตลาด หากมีผลผลิตมันสำปะหลังออกสู่ตลาดน้อยเนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น การลดลงของพื้นที่เพาะปลูก หรือการเปลี่ยนแปลงของสภาพดินฟ้าอากาศ เช่น ในสถานะที่มีฝนตกชุกจนเป็นเหตุให้ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังทั่วประเทศลดลง ส่งผลทำให้ราคาซื้อขายมันสำปะหลังเพิ่มสูงขึ้น และมันสำปะหลังเป็นสินค้าส่งออกหลักของประเทศไทย โดยประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกมันสำปะหลังอันดับ 1 ของโลก คิดเป็นสัดส่วนมากถึงร้อยละ 70 (สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามการทุจริตแห่งชาติ (ป.ป.ช.), 2553) ทำให้ราคามันสำปะหลังเปลี่ยนแปลงตามอุปสงค์ของตลาดโลก ทั้งนี้หลังจากปีพ.ศ. 2560 ราคามันสำปะหลังมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นมาตลอด

น้ำตาลโลกยังคงมีปริมาณมาก เนื่องจากกำลังการผลิตน้ำตาลมากขึ้น ทำให้ราคาน้ำตาลในตลาดโลกลดลง (ฐานเศรษฐกิจ, 2562) การใช้น้ำตาลดิบเป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอล ไม่มีกระบวนการขั้นตอนเตรียมวัตถุดิบที่ซับซ้อน ไม่ต้องการการบำบัดและการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาล สามารถประหยัดต้นทุนการผลิตเอทานอลด้านกระบวนการผลิตได้

ภาพที่ 1.2 และ 1.3 แสดงสถิติราคามันสำปะหลังเส้นและราคาน้ำตาลดิบ ตามลำดับ



ภาพที่ 1.2 สถิติราคามันสำปะหลังเส้น พ.ศ.2558-2562
(ที่มา: มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย, 2562)



ภาพที่ 1.3 สถิติราคาน้ำตาลทรายดิบ พ.ศ.2558-2562

(ที่มา: International Sugar Organization; Thomson Reuters Datastream;
World Bank., 2562)

การทดลองนี้ศึกษาการหมักเอทานอลโดยใช้วัตถุดิบสองชนิด ได้แก่ น้ำแป้งจากกระบวนการผลิตเอทานอลบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด หมักร่วมกับสารละลายน้ำตาลทรายดิบ เพื่อหาอัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบในการหมักที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพการหมักสูงสุด ทดลองโดยใช้การหมักแบบกึ่งกะ เพื่อลดผลการยับยั้งการเติบโตของยีสต์เนื่องจากความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงเกินไป และสามารถทำได้ในกระบวนการผลิตจริงของบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด และทำให้ได้ผลได้เอทานอลสูงขึ้น ผลจากการศึกษานี้สามารถชี้ให้เห็นแนวทางในการเพิ่มความหลากหลายของตัววัตถุดิบของกระบวนการผลิตเอทานอล เพื่อรองรับความผันผวนของราคาวัตถุดิบซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และตอบสนองนโยบายและแผนการพัฒนาพลังงานทดแทนของประเทศไทย ช่วยสนับสนุนเกษตรกรที่ปลูกพืชชนิดอื่นนอกจากมันสำปะหลังเส้น และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการหมักเพื่อใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์มากที่สุด

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาแนวทางการหมักเอทานอลโดยใช้วัตถุดิบเดิมหมักร่วมกับน้ำตาลดิบ โดยใช้การหมักแบบกึ่งกะ ด้วยยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae*

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนน้ำตาลดิบ และความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลดิบ ต่อประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 การทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับน้ำตาลดิบด้วยการหมักแบบกึ่งกะ ด้วยยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.6 กรัมต่อลิตร

1.3.2 ใช้น้ำแป้งจากกระบวนการผลิตบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด ในการทดลองหมัก โดยมีปริมาตรน้ำแป้งเริ่มต้นในการหมักที่อัตราส่วนร้อยละ 90 70 และ 50 โดยปริมาตร ของน้ำหมักรวม

1.3.3 เติมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 18 %Brix และ 30 %Brix หลังจากชั่วโมงที่ 20 และ เติมสารละลายน้ำตาลดิบทุก 4 ชั่วโมง จนปริมาตรรวมสุดท้ายของน้ำหมักมีค่า 2000 มิลลิลิตร

1.3.4 วิเคราะห์ผลการหมักทุก 16 ชั่วโมง

1.3.5 ทดลองหมักในเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิเครื่องเขย่าที่ 32 องศาเซลเซียส การทดลองหมักสิ้นสุดเมื่อปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในน้ำหมักต่ำกว่าร้อยละ 1.00 โดยมวลต่อปริมาตร วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยไม่คิดปริมาณน้ำตาลฟรักโทส

1.4 วิธีการดำเนินการวิจัย

1.4.1 ศึกษากระบวนการผลิต ค้นคว้าทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.4.2 ออกแบบและวางแผนการทดลอง

1.4.3 ศึกษาและเปรียบเทียบการทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลทรายดิบด้วยการหมักแบบกึ่งกะ ที่อัตราส่วน และความเข้มข้นสารละลายน้ำตาลดิบที่ต่างกัน

1.4.4 วิเคราะห์ผลการทดลอง สรุปผลการทดลอง และจัดทำรายงาน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลดิบที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบ

1.5.2 ชี้ให้เห็นแนวทางในการเพิ่มความหลากหลายของตัววัตถุดิบของกระบวนการผลิตเอทานอล เพื่อรองรับความผันผวนของราคาวัตถุดิบซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

1.5.3 ช่วยสนับสนุนเกษตรกรกลุ่มปลูกอ้อย นอกเหนือจากกลุ่มปลูกมันสำปะหลัง

1.5.4 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก เพื่อใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์มากที่สุด

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 แอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์ (Alcohol) หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group: -OH) ต่อกับอะตอมคาร์บอนของหมู่แอลคิลหรือหมู่ที่แทนแอลคิล แอลกอฮอล์ที่พบโดยทั่วไปจะมีจำนวนคาร์บอน ไม่เกิน 12 อะตอม สูตรทั่วไปของแอลกอฮอล์แบบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (สารประกอบไฮโดรคาร์บอน สายตรง) คือ $C_nH_{2n}+OH$ โครงสร้างของแอลกอฮอล์ จะมีลักษณะคล้ายกับโครงสร้างของน้ำ มีหมู่ แอลคิล (Alkyl) มาแทนที่อะตอมของไฮโดรเจนของน้ำหนึ่งอะตอม

การจำแนกประเภทแอลกอฮอล์

ก. การจำแนกแอลกอฮอล์ตามชนิดของอะตอมของแอลกอฮอล์คาร์บินอล (Carbinal Alcohol Atom) แบ่งได้เป็น 3 ชนิดดังนี้

- แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ (Primary alcohol)

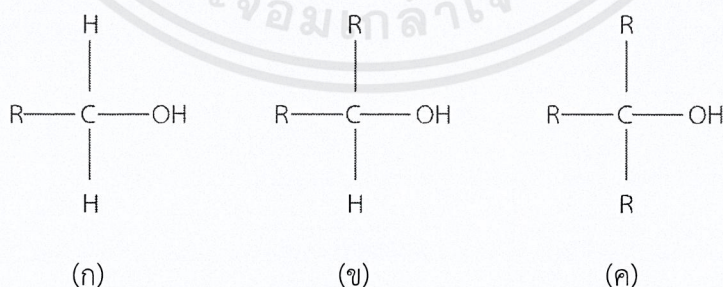
หมายถึง อะตอมคาร์บอนที่ต่ออยู่กับอะตอมคาร์บอนอีก 1 อะตอม ดังแสดงในภาพที่ 2.1(ก)

- แอลกอฮอล์ทุติยภูมิ (Secondary alcohol)

หมายถึง อะตอมคาร์บอนที่ต่ออยู่กับอะตอมคาร์บอนอื่นอีก 2 อะตอม ดังภาพที่ 2.2(ข)

- แอลกอฮอล์ตติยภูมิ (Tertiary alcohol)

หมายถึง อะตอมคาร์บอนที่ต่ออยู่กับอะตอมคาร์บอนอื่นอีก 3 อะตอม ดังภาพที่ 2.3(ค)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของแอลกอฮอล์

(ก) โครงสร้างทั่วไปของแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ (ข) โครงสร้างทั่วไปของแอลกอฮอล์ทุติยภูมิ

(ค) โครงสร้างทั่วไปของแอลกอฮอล์ตติยภูมิ

ข. การจำแนกแอลกอฮอล์ตามความสามารถในการรับประทาน แบ่งได้เป็น 2 ชนิดดังนี้

- แอลกอฮอล์ชนิดรับประทานได้ (Eatable/Edible alcohol)

เอทานอล เป็นแอลกอฮอล์ที่สามารถรับประทานได้ เมื่อผสมกับน้ำ และไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพหลังจากที่รับประทาน เอทานอลส่วนมากผลิตจากกระบวนการหมักและการกลั่นวัตถุดิบจากธรรมชาติ และเอทานอลสามารถนำไปใช้เป็นสารละลายสำหรับทำความสะอาด น้ำหอม เครื่องสำอาง สารฆ่าเชื้อโรคทางการแพทย์และสาธารณสุขและเชื้อเพลิง

- แอลกอฮอล์ชนิดรับประทานไม่ได้ (Uneatable/Inedible alcohol)

แอลกอฮอล์ชนิดรับประทานไม่ได้เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์น้อย จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมน้ำหอม หรือเป็นแอลกอฮอล์ที่เติมสารเคมีลงไป เพื่อทำให้ไม่สามารถรับประทานได้ โดยจะเรียกแอลกอฮอล์ชนิดนี้ว่า แอลกอฮอล์แปลงสภาพ (Denatured alcohol) สารเคมีที่เติมลงไปเรียกว่า Denaturant สามารถนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิง ตัวทำละลาย หรือวัตถุดิบสำหรับการผลิต

2.1.2 เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง มีสูตรทางเคมีคือ C_2H_5OH เอทานอลมีสถานะเป็นของเหลวใสไม่มีสี ติดไฟง่ายที่อุณหภูมิห้อง มีจุดเดือดที่ 78.4 องศาเซลเซียส มีจุดเยือกแข็งที่ -117.3 องศาเซลเซียส น้ำหนักโมเลกุล 46.07 กรัมต่อโมล สามารถละลายน้ำและสารเคมีได้ดี

การใช้ประโยชน์เอทานอลเป็นเชื้อเพลิง เอทานอลที่นำไปใช้ผสมน้ำมัน (Fuel Alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์ตั้งแต่ ร้อยละ 95 โดยปริมาตรขึ้นไป ซึ่งสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ใน 3 รูปแบบ คือ

ก. เอทานอลร้อยละ 95

ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซิน และน้ำมันดีเซล ใช้ได้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง บราซิลเป็นประเทศแรกที่มีการศึกษาวิจัยและเริ่มใช้เอทานอลเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง ตั้งแต่ปี 2516 โดยผลิตเอทานอลจากอ้อย และกากน้ำตาล ยานพาหนะที่ใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงมีมากถึงประมาณร้อยละ 41 สำหรับในเครื่องยนต์ดีเซลสามารถใช้เอทานอลบริสุทธิ์ 95 % ผสมในน้ำมันดีเซลเรียกว่า ดีโซฮอล (Diesohol) ในอัตราส่วนร้อยละ 15 และเพิ่มสารปรับปรุงคุณสมบัติ ในปริมาณร้อยละ 1-2

ข. เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5

ผสมในน้ำมันเบนซิน ซึ่งจะเรียกว่า ก๊าซโซฮอล (Gasohol) โดยทั่วไปใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน อัตราส่วนร้อยละ 10 ลักษณะของสารเติมแต่งเพื่อปรับปรุงค่าออกเทนของน้ำมันเบนซิน ซึ่งสามารถนำมาใช้งานกับเครื่องยนต์โดยทั่วไป ไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์แต่อย่างใด

ค. เป็นสารเคมีเพิ่มออกเทน (Octane) แก่เครื่องยนต์

โดยการเปลี่ยนรูปเอทานอลมาเป็นสาร ETBE (Ethanol Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่ง MTBE เป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้เนื่องจากก่อให้เกิดมลพิษในอากาศสูงกว่าสารเติมแต่งอื่น ๆ

ในประเทศไทยมีการแสวงหาเชื้อเพลิงจากทรัพยากรภายในประเทศเพื่อทดแทนการนำเข้าเป็นเวลานาน ดังนั้นการนำผลผลิตทางการเกษตรมาแปรรูปเป็นเชื้อเพลิง เช่น เอทานอลจากมันสำปะหลัง อ้อย ธัญพืชอื่น ๆ เพื่อนำไปผสมน้ำมันเบนซินหรือดีเซล จะช่วยลดผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมโดยตรงต่อสถานะเรือนกระจกในชั้นบรรยากาศ และสามารถลดการขาดดุลเงินตราต่างประเทศได้เป็นจำนวนมาก (วิทยา, 2547)

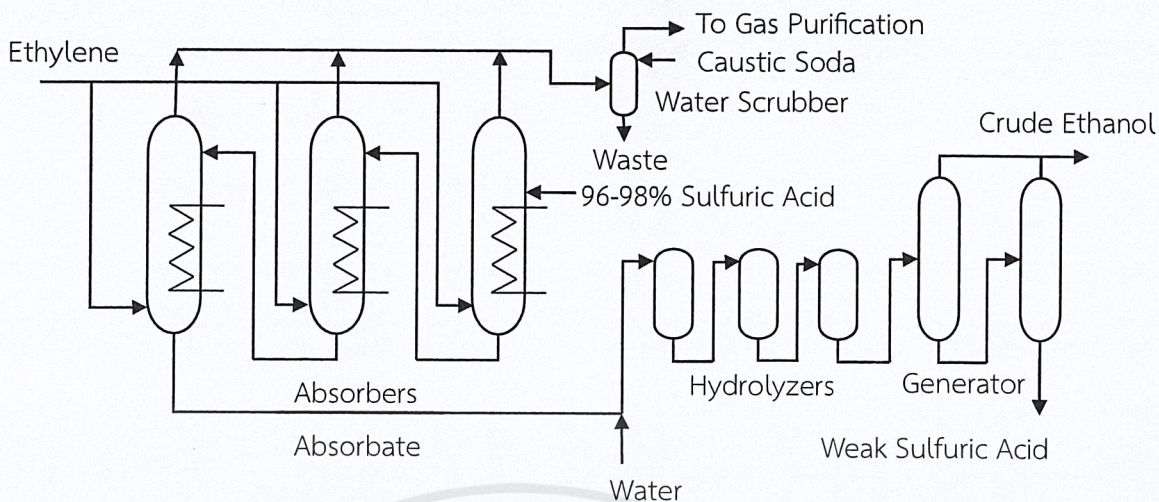
2.1.3 การผลิตแอลกอฮอล์

ก. การผลิตแอลกอฮอล์โดยการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมี

การผลิตแอลกอฮอล์จากการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมีหรือการสังเคราะห์แอลกอฮอล์จากเอทิลีน (Ethylene, C_2H_4) แอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการนี้เรียกว่า แอลกอฮอล์สังเคราะห์ (Synthetic Alcohol) แอลกอฮอล์ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมีไม่นิยมนำมาบริโภค เนื่องจากมีการปนเปื้อนสารเคมีบางชนิด เช่น ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (Isopropyl Alcohol, $(CH_3)_2CHOH$) จึงนิยมนำมาใช้สำหรับเป็นตัวทำละลาย สารสกัด Antifreeze และสารตัวกลางในการสังเคราะห์สารเคมีชนิดอื่น การผลิตแอลกอฮอล์โดยการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมีประกอบด้วย 2 วิธี ดังนี้

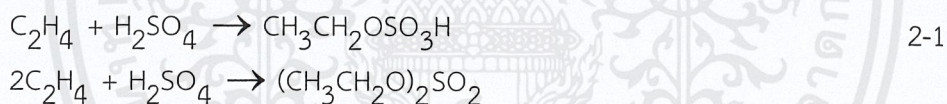
- อินโดเรค ไฮเดรชันเอธิลีน (เอสเตอร์ิฟิเคชัน-ไฮโดรไลซิส)

การผลิตแอลกอฮอล์จากเอทิลีนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 35-95 โดยปริมาตร โดยใช้กรดซัลฟิวริก (Sulfuric Acid, H_2SO_4) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ซึ่งแสดงดังภาพที่ 2.2

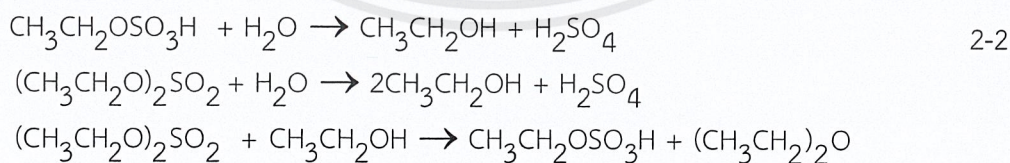


ภาพที่ 2.2 กระบวนการอินโดเรค ไฮเดรชันเอธิลีน (เอสเตอร์ฟิเคชัน-ไฮโดรไลซิส)

ขั้นตอนที่ 1 การดูดซึมเอธิลีน (Absorption) คือการดูดซึมระหว่างเอธิลีนเข้มข้นร้อยละ 35-95 โดยปริมาตร และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 95-98 โดยปริมาตร จะเกิดขึ้นแบบสวนทางกัน (Countercurrent passage) ภายในเครื่องปฏิกรณ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 180-200 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psig) ซึ่งเป็นระบบระบายความร้อน และมีระบบหล่อเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิ และควบคุมปัญหาการกัดกร่อน สมการปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้ มีดังนี้



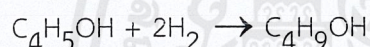
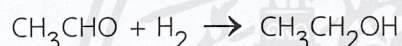
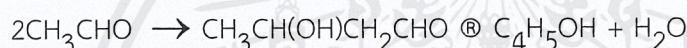
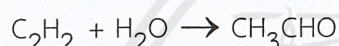
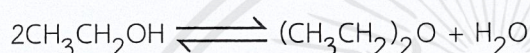
ขั้นตอนที่ 2 การไฮโดรไลซิสเอทิลซัลเฟต (Hydrolysis) การไฮโดรไลซิสเอทิลซัลเฟต เป็นการแยกแอลกอฮอล์จากเอทิลซัลเฟตโดยการเติมน้ำเข้าไปในปฏิกิริยา สมการปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้มีดังนี้



ขั้นตอนที่ 3 การเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (Reconcentration) การเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ได้หลังจากทำปฏิกิริยาประมาณร้อยละ 50-60 โดยปริมาตร จะเพิ่มความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกได้เป็นร้อยละ 90 โดยปริมาตร เพื่อสามารถนำกลับไปใช้ใหม่ ซึ่งขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่มีต้นทุนสูง สำหรับการผลิตแอลกอฮอล์ด้วยวิธีการนี้ (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2560)

- ไตรเอทิลไฮดรอกไซด์

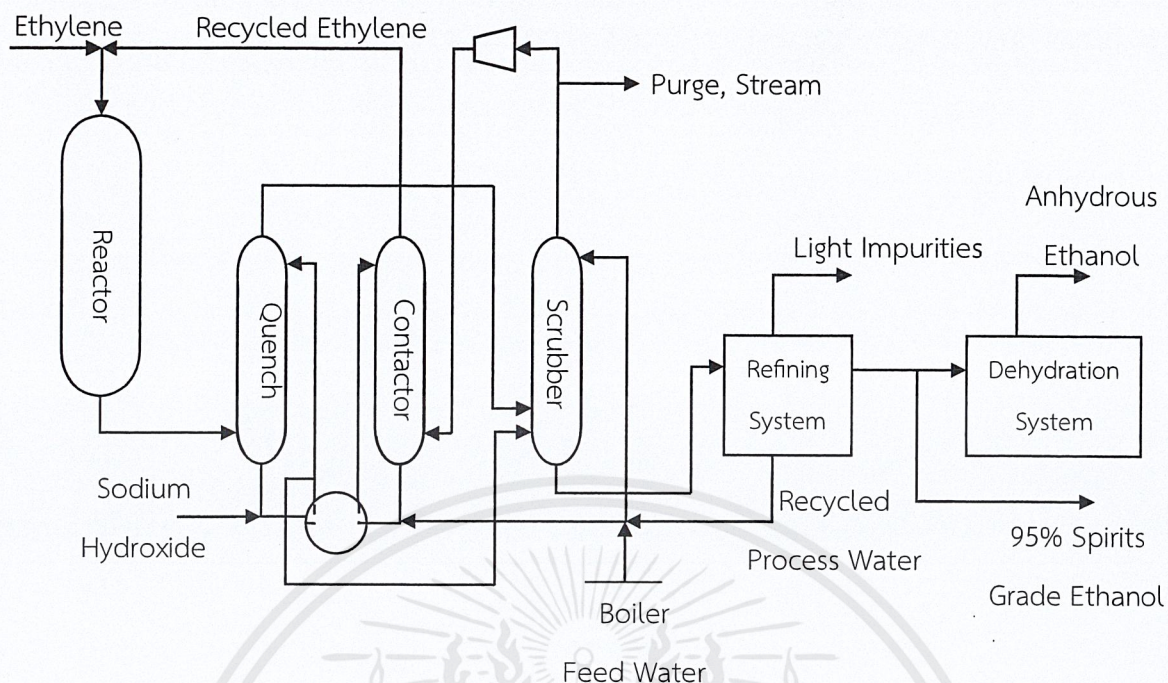
เป็นกระบวนการไฮโดรไลซิสเอทิลีนด้วยน้ำให้เป็นแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 250-300 องศาเซลเซียส ความดัน 5-8 ปาสกาล โดยใช้กรดฟอสฟอริก-ซิลิกาเจล และถังสแตนเลสไฮดรอลิก-ซิลิกาเจลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังแสดงในรูป และมีปฏิกิริยาเคมีดังนี้



กระบวนการนี้สามารถสังเคราะห์แอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์ถึงร้อยละ 95 โดยปริมาตร ซึ่งมีการกลั่นแยกน้ำทำให้แอลกอฮอล์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น

การผลิตแอลกอฮอล์โดยการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมีไม่เป็นที่นิยมในประเทศไทย เนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตสูง ไม่คุ้มค่ากับการลงทุน ดังนั้นการผลิตแอลกอฮอล์โดยใช้วัตถุดิบทางการเกษตรที่มีอยู่ในปริมาณมาก จะทำให้ต้นทุนในการผลิตลดลงทั้งยังได้แอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์สูง

ข้อดีของการผลิตแอลกอฮอล์ด้วยวิธี Direct Hydration คือการรีไซเคิลน้ำของกระบวนการกลั่นสุรระบบปฏิกิริยา ปฏิกิริยานี้ช่วยลดปริมาณของน้ำที่ป้อนเข้าไปในหม้อน้ำให้น้อยกว่าหนึ่งในห้าของปริมาณน้ำทั้งหมดที่ป้อนเข้าเครื่องปฏิกรณ์ ลดค่าใช้จ่ายในการลงทุน (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2560)



ภาพที่ 2.3 กระบวนการไดเรค ไฮเดรชันเอธิลีน

ข. การผลิตแอลกอฮอล์โดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ

การผลิตแอลกอฮอล์โดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ ทางชีวเคมี หรือเรียกอีกอย่างว่าการผลิตไบโอเอทานอล (Bio Ethanol) เป็นการผลิตโดยใช้วัตถุดิบจากทางการเกษตรหมักกับจุลินทรีย์สามารถแบ่งวัตถุดิบได้ 3 ประเภท

- วัตถุดิบประเภทแป้ง

ได้แก่ ธัญพืช ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง และพวก พืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ

- วัตถุดิบประเภทน้ำตาล

ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล บีตรูต ข้าวฟ่างหวาน

- วัตถุดิบประเภทเส้นใย

ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ชังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ เศษกระดาด ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของวัตถุดิบเอทานอลทั่วไป (%wt)

(ที่มา: W.M. Ingledew et al, The Alcohol Textbook 5th Edition, 2552)

ส่วนประกอบ	ข้าวโพด	ข้าวสาลี	ข้าวบาร์เลย์	ข้าวฟ่าง	ข้าวไรย์	มันสำปะหลังเส้น	มันสำปะหลังสด	มันฝรั่ง	กากข้าวฟ่างหวาน
ความชื้น ¹	12-15	11-14	11-14	11-14	11-14	11-14	60-70	75	~32
แป้ง ²	62-72	62-70	52-64	72-75	52-65	65-82	40-85	14-24	-
น้ำตาล ²	2.2	-	-	-	-	0.25	0.75	1.5	20-44
โปรตีน ²	9-12	12-14	10-11	11-12	10-15	2.3	1.5-3.5	0.6-3.5	2
ไขมัน ²	4.5	3	2.5-3	3.6	2-3	0.8	0.2-0.4	0.1	<1
เปลือก ²	9.6	11.4	14	-	-	-	0.6-1	2	-
เส้นใย ²	-	-	-	-	-	4.6	1.6-2.9	-	50-77
เถ้า ²	1.5	2	2.3	1.7	2	2-5	0.6-1.2	0.6-1.1	1-2
สารละลายน้ำที่ไม่ใช่แป้ง ²						พราย	ไม่มีพราย		
อะราบีโนไซเลน	0.03	0.6	0.3	0	1.4	-	-	-	-
เบต้ากลูแคน	0.05	0.14	2.4	0	0.8	-	-	-	-

¹%w/w (As-is basis), ²%w/w (Dry basis)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณเอทานอลที่เกิดจากการผลิตโดยใช้วัตถุดิบทางธรรมชาติ

(ที่มา: โครงการศึกษาปริมาณและการใช้แอลกอฮอล์ในประเทศ, 2560)

วัตถุดิบ (1 ตัน)	ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ (ลิตร)
กากน้ำตาล	260
อ้อย	70
มันสำปะหลัง (หัว)	180
ข้าวฟ่าง	70
ข้าว หรือข้าวโพด	375
น้ำมะพร้าว	83

ตารางที่ 2.3 ต้นทุนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่าง ๆ

(ที่มา: W.M. Ingledew et al, The Alcohol Textbook 5th Edition, 2552)

วัตถุดิบ	ต้นทุนวัตถุดิบ (%)	ต้นทุนกระบวนการผลิต (%)
อ้อย	50-83	17-50
กากน้ำตาล	78-83	17-22
บัตร์/ผักกาดฝรั่ง	50-68	32-50
มันสำปะหลัง	60-75	25-40
ข้าวโพดแข็ง	53-87	13-47
ข้าวสาลี	40-75	25-60
ข้าวโพดหวาน	60-70	30-40

(เชื้อสุวรรณ, 2561) ปัจจุบันการผลิตเอทานอลของไทยจะใช้กากน้ำตาล กากน้ำตาลผสมมันสำปะหลัง และมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในสัดส่วน 50 : 15 : 35 โดยการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล ผู้ผลิตมักเป็นรายใหญ่ที่ต่อยอดธุรกิจจากโรงงานน้ำตาล จึงไม่ค่อยมีปัญหาด้านวัตถุดิบ ส่วนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังมักเกิดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบจากการแย่งชิงมันสำปะหลังกับอุตสาหกรรมอื่น รวมถึงความไม่แน่นอนทางด้านต้นทุนวัตถุดิบ เนื่องจากการแทรกแซงราคาจากทางการเพื่อช่วยเหลือเกษตรกรในบางช่วงเวลา จึงอาจเป็นความเสี่ยงต่อผู้ผลิต

โครงสร้างต้นทุนการผลิตเอทานอลในประเทศ จำแนกตามประเภทวัตถุดิบที่ใช้ได้ดังนี้

- การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบกากน้ำตาล

ต้นทุนการผลิตส่วนใหญ่จะเป็นค่าวัตถุดิบคิดเป็นสัดส่วนประมาณร้อยละ 60-70 ของต้นทุนการผลิตรวม ที่เหลือเป็นต้นทุนดำเนินการร้อยละ 25-35 และต้นทุนคงที่ร้อยละ 5

- การผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง

ต้นทุนวัตถุดิบคิดเป็นสัดส่วนประมาณร้อยละ 55-60 ของต้นทุนการผลิตรวม ต้นทุนดำเนินการร้อยละ 35-40 และต้นทุนคงที่ร้อยละ 5 การที่ต้นทุนดำเนินการในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังสูงกว่าการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล เนื่องจากกระบวนการผลิตมีขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาล

ตารางที่ 2.4 ขนาดโรงงานผลิตเอทานอลในไทย

(ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทน และอนุรักษ์พลังงาน, กระทรวงพลังงาน, 2562)

วัตถุดิบ	จำนวนโรงงาน	ความจุโรงงานที่ดำเนินการแล้ว (ล้านลิตร/วัน)
กากน้ำตาล	12	2.91
มันสำปะหลังและกากน้ำตาล	5	0.90
มันสำปะหลัง	9	2.08
รวม	26	5.89

2.1.4 ประเภทของการหมัก

เมื่อแบ่งตามลักษณะการป้อนวัตถุดิบ และการนำผลิตภัณฑ์ออกจากกระบวนการหมัก แบ่งได้ 3 ลักษณะ ดังนี้

ก. การหมักแบบกะ

เป็นวิธีการที่ง่ายที่สุด มักทำในห้องปฏิบัติการ สารตัวกลางที่ใช้หมักอยู่ในระบบปิด มีสารอาหารที่สิ่งมีชีวิตใช้เพื่อเจริญเติบโตและสร้างผลิตภัณฑ์ทั้งหมดอยู่ในน้ำหมักในอุปกรณ์ตั้งแต่เริ่มต้นกระบวนการหมัก หยุดหมักเมื่อเซลล์หยุดเจริญเติบโต หรือเมื่อถึงเวลาที่กำหนด ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์มีค่าตามที่ต้องการ และหยุดหมักเมื่ออยู่ใน Stationary Phase

ข้อดีของการหมักแบบกะ

- การเตรียมน้ำหมักง่าย และสามารถเตรียมอาหารได้ในเวลาน้อยกว่า 24 ชั่วโมง
- ดำเนินการได้ง่าย มีความน่าเชื่อถือ ลดความผิดพลาดจากเครื่องมือ เนื่องจากแต่ละกะใช้เวลาทดลองไม่มาก
- มีโอกาสปนเปื้อนต่ำ เนื่องจากน้ำหมักไม่มีการเติมเชื้อและถ่ายออกจากระบบ ตลอดการหมักมีเพียงการแลกเปลี่ยนก๊าซ และการเติมสารเคมีลดฟอง ปรับปรุงความเป็นกรดต่างเท่านั้น
- เก็บข้อมูลง่าย โดยการเรียงข้อมูลตามกะที่ทดลอง

ข้อเสียของการหมักแบบกะ

- น้ำหมักมีอายุสั้น อาจเกิดความแตกต่างของน้ำหมักในแต่ละกะจากการเตรียมน้ำหมักแต่ละครั้ง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักแต่ละกะแตกต่างกัน
- ความเข้มข้นของน้ำหมักถูกจำกัด เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำหมักที่มากเกินไปจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ และเกิด Repression Effect
- การใช้งานในระดับอุตสาหกรรมต้องการทำความสะอาดและฆ่าเชื้ออย่างดีทุกครั้งที่จะทำการหมักหนึ่งกะ ต้องเติมสารตัวกลางที่ใช้หมักใหม่ และต้องควบคุมอุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์ใหม่ทุกครั้งที่จะเริ่มการหมัก

ข. การหมักแบบกึ่งกะ

เป็นกระบวนการหมักที่คล้ายกับการหมักแบบกะ แต่น้ำหมักไม่ได้อยู่ในระบบปิด เมื่อเริ่มกระบวนการหมัก สารอาหารหนึ่งชนิดหรือมากกว่า ถูกเติมลงในเครื่องปฏิกรณ์แบบกึ่งกะ สามารถทำได้หลายวิธีเช่น ควบคุมปริมาตรในเวลาที่เหมาะสม การนำ Fermentation Content ออกจากกระบวนการหมัก และเติมสารใหม่ในปริมาตรเท่ากัน (เช่น น้ำหมัก เซลล์ ผลิตภัณฑ์ และสารอาหารที่ไม่ถูกใช้ เป็นต้น) หรือการเปลี่ยนปริมาตรโดยไม่มีการถ่ายสารใดออกจากกระบวนการหมัก การเติมน้ำหมักใหม่เพิ่มจะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์ (Specific Growth Rate) ลดการเกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่ไม่ต้องการ ความหนาแน่นของเซลล์และปริมาณผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น การเติมสารสามารถทำได้ทั้งระยะสั้น หรือระยะยาว อาจเริ่มเติมสารทันทีหลังจากเริ่มหมัก หรือเติมสารในช่วงเวลาที่กำหนดไว้ล่วงหน้า

การหมักแบบกึ่งกะปริมาตรคงที่และไม่คงที่

การหมักแบบกึ่งกะปริมาตรคงที่ เป็นการหมักที่เติมสารอาหารเข้มข้นลงในน้ำหมัก ทำให้ปริมาตรน้ำหมักเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย รวมถึงการเติมก๊าซ เช่น ก๊าซออกซิเจน เป็นต้น สำหรับการหมักแบบกึ่งกะปริมาตรไม่คงที่ จะเติมน้ำหมัก หรือ Limiting Substrate ทั้งนี้เพื่อให้ได้อัตราการเติบโตจำเพาะมีค่าสูงที่สุด

ข้อดีของการหมักแบบกึ่งกะ

- สามารถควบคุมความเข้มข้นของ Limiting Substrate ได้ ช่วยป้องกันการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ และ Repression Effect จากความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงเกินไปได้ รวมทั้งสามารถควบคุมอัตราการเติบโตจำเพาะ และความต้องการใช้ออกซิเจนได้
- สามารถสร้างความหนาแน่นเซลล์สูงได้
- ลดความหนืดในของน้ำหมัก มักมีผลมากในการหมักเห็ดรา หรือผลิตภัณฑ์ที่มีความหนืดสูง ความหนืดที่ลดลงจะช่วยให้การเติมอากาศและการกวนในระบบดีขึ้น

ข้อเสียของการหมักแบบกึ่งกะ

- ต้องทราบรายละเอียดการเติบโตของเซลล์ที่ต้องการเลี้ยง การผลิตผลิตภัณฑ์จากเซลล์
- การควบคุมแบบ On-line ยังไม่แม่นยำเท่า Off-line จึงต้องมีการวิเคราะห์ผลแบบ Off-line ในห้องปฏิบัติการ ต้องการพนักงานดูแลเพิ่มเติม

ค. การหมักแบบต่อเนื่อง

เป็นการยืดระยะการเจริญเติบโตแบบแบ่งเซลล์ทวีคูณ (Exponential Phase) โดยทำให้สิ่งแวดล้อมมีความผันผวนน้อยลงในด้านสารอาหาร จำนวนเซลล์ หรือที่เรียกว่าสภาวะคงตัว โดยจะป้อนเซลล์ร่วมกับสารอาหาร พร้อมทั้งนำน้ำหมักเดิมออกจากระบบด้วยอัตราเดียวกัน เพื่อให้ปัจจัยต่าง ๆ มีค่าคงที่ตลอดการหมัก เช่น ปริมาตร ชีวมวล จำนวนเซลล์ ความเข้มข้นสารและผลิตภัณฑ์ รวมถึงปัจจัยทางกายภาพเช่น ความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลาย เป็นต้น

ข้อดีของการหมักแบบต่อเนื่อง

- สามารถเปลี่ยนอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์และอัตราการเติบโตจำเพาะได้
- มีช่วงการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ยาว ในขณะที่มี Downtime น้อย
- ผลของสิ่งแวดล้อมและปัจจัยทางกายภาพวิเคราะห์ง่าย

ข้อเสียของการหมักแบบต่อเนื่อง

- ในบางประเทศไม่อนุญาตให้อุตสาหกรรมอาหารและยาใช้การหมักแบบต่อเนื่อง เนื่องจากง่ายต่อการปนเปื้อน
- เกิดการกลายพันธุ์ง่าย เนื่องจากดำเนินการหมักแต่ละครั้งเป็นเวลานาน เซลล์บางตัวอาจอยู่ในสภาวะที่ใช้น้ำหมักนานและทำให้เกิดวิวัฒนาการ เกิดสิ่งมีชีวิตใหม่ที่ผลิตผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ

เมื่อแบ่งตามลักษณะการย่อยโดยเอนไซม์

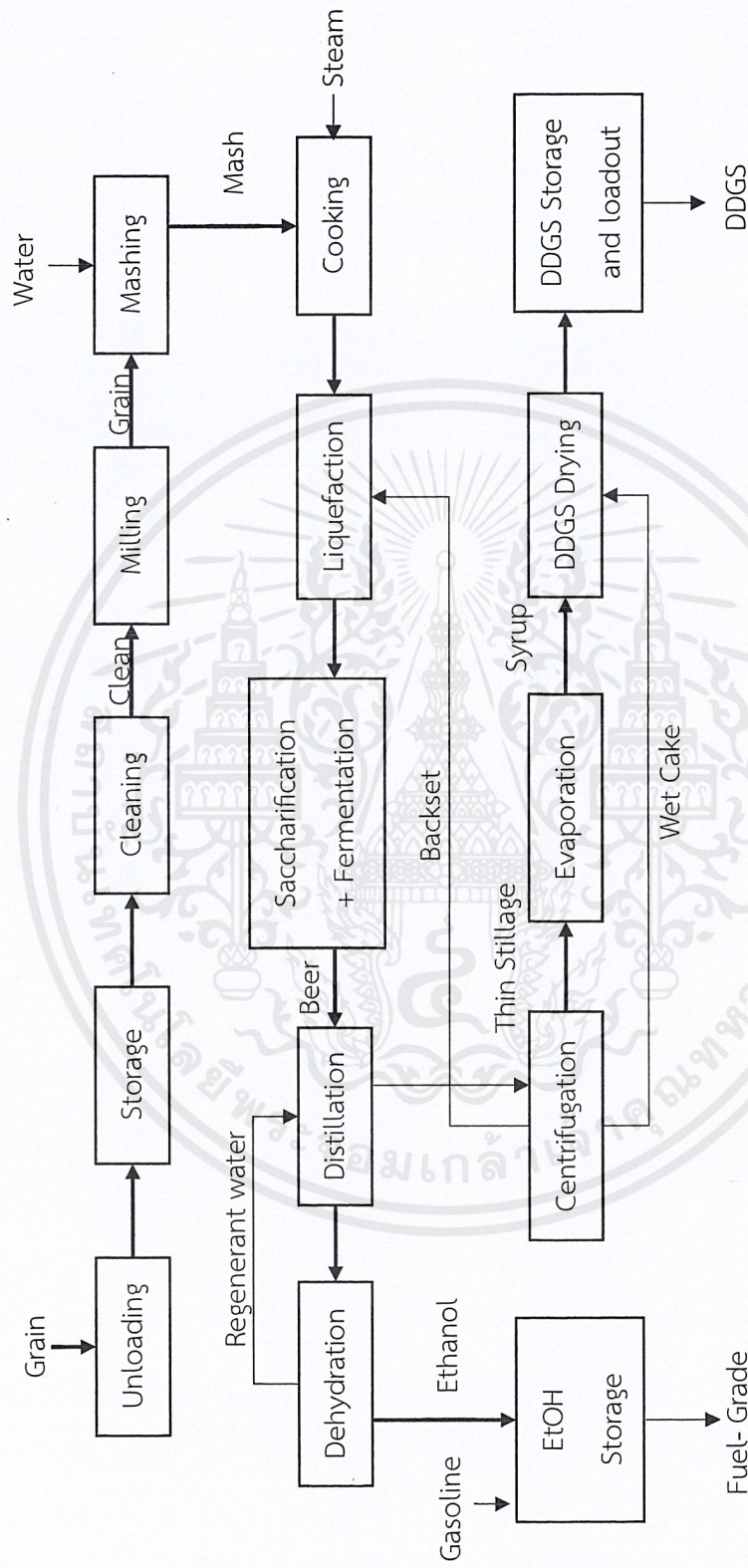
ก. กระบวนการย่อยแยกกับกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)

ข้อดีหลักของการย่อยแยกกับการหมักคือสามารถแยกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยและการหมักได้ที่ละขั้นตอน แต่ข้อเสียหลักคือจะเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์จากความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงเกินไป

ข. กระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

เป็นกระบวนการที่รวมการย่อยโดยเอนไซม์และการหมักในขั้นตอนเดียว ลดการยับยั้งการเจริญเติบโตเนื่องจากเอนไซม์จะย่อยได้น้ำตาลแล้วถูกสิ่งมีชีวิตกินพร้อมกัน วิธีนี้มีข้อดีมากกว่าวิธีการย่อยแยกกับกระบวนการหมัก เช่น สามารถเพิ่มผลผลิตเอทานอล ลดความน่าจะเป็นในการเกิดการปนเปื้อน และมีต้นทุนต่ำกว่า ข้อเสียคือกระบวนการย่อยและกระบวนการหมักจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมแตกต่างกัน และสามารถเกิดการยับยั้งการย่อยจากความเข้มข้นของเอทานอลได้

2.1.5 กระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ



ภาพที่ 2.4 แผนภาพกระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ

(ที่มา: W.M. Ingledew et al, The Alcohol Textbook 5th Edition, 2552)

ก. การเตรียมวัตถุดิบ (Raw Material Preparation)

ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมัก ต้องทำให้วัตถุดิบมีความพร้อมที่จะถูกจุลินทรีย์ย่อย ในขั้นตอนนี้เป็นการเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการทำให้วัตถุดิบเป็นของเหลว วัตถุดิบต่างชนิดจะมีวิธีการเตรียมวัตถุดิบที่แตกต่างกัน เช่น

- มันสำปะหลังเส้น



ภาพที่ 2.5 มันสำปะหลังเส้นเส้น

(ที่มา : มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย

<https://www.tapiocathai.org/E2.html> สืบค้นเมื่อธันวาคม พ.ศ.2562)

มันสำปะหลังเส้น (Cassava Chip) หรือมันสำปะหลังเส้น ได้จากการนำหัวมันสำปะหลังสด หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไป ตากแดดบนลานซีเมนต์ 2 - 3 วัน จนมีความชื้นประมาณร้อยละ 14-15 โดยน้ำหนัก กระบวนการเตรียมมันสำปะหลังเส้นจะทำความสะอาดโดยไม่ทำให้สูญเสียแป้ง เช่นการใช้แผ่นแม่เหล็กดูดจับเหล็กที่อาจปนมากับมันสำปะหลังเส้น การหมุนเหวี่ยงแยกเศษหินที่มีขนาดใหญ่ แล้วบดมันสำปะหลังเส้นให้ขนาดเล็กลงเพื่อให้ น้ำและเอนไซม์สามารถสัมผัสและเกิดปฏิกิริยากับแป้งในมันสำปะหลังเส้นได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น มักใช้แฮมเมอร์มิล (hammer mill) หรืออาจเรียกว่าเครื่องบดแบบค้อนเหวี่ยงในการบดมันสำปะหลังเส้น หรือวัตถุดิบอื่นที่เป็น เมล็ดแห้ง กรองและเก็บเพื่อใช้ในกระบวนการทำให้เหลวต่อไป

- มันสำปะหลังสด



ภาพที่ 2.6 หัวมันสำปะหลังสด

(ที่มา: สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

<https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=18052> สืบค้นเมื่อธันวาคม พ.ศ.2562)

มันสำปะหลังเป็นพืชหัวชนิดหนึ่งมีชื่อเรียกกันทั่วไปในภาษาอังกฤษว่า Cassava หรือ Tapioca มันสำปะหลังที่ปลูกในประเทศไทย แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ชนิดหวาน (Sweet Type) และ ชนิดขม (Bitter Type) มันสำปะหลังชนิดขมมีปริมาณแป้งสูงกว่าชนิดหวาน แต่มีกรดไฮโดรไซยานิก สูง เป็นพืช ไม่เหมาะสำหรับการบริโภคของมนุษย์ มันสำปะหลังที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็น ชนิดขมสำหรับใช้ในอุตสาหกรรม

มันสำปะหลังสดจะถูกส่งเข้าเตาแรงร้อนดินและทราย แล้วเข้ากระบวนการล้างเพื่อทำความสะอาดหัวมัน กำจัดสิ่งเจือปนขนาดใหญ่ เช่น ทราย ก้าน เครือ และกระบวนการลอกเปลือก มักทำ พร้อมกับกระบวนการล้างเพื่อขจัดผิวมันและทรายออก การลอกเปลือกมันสำปะหลังต้องระวัง การเกิดกลุ่มสารไซยาไนด์ (Cyanide, CN⁻) แล้วเข้าสู่กระบวนการสับหั่นมันสำปะหลัง และการบด หัวมันสำปะหลัง ตามลำดับ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแป้ง ในส่วนของการบดหัวมันจะเติมน้ำ และได้น้ำแป้งออกมา แล้วเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแป้งด้วยการเหวี่ยงแยกน้ำ ได้น้ำแป้งที่เข้มข้น พร้อมเข้าสู่กระบวนการหมัก

- น้ำตาลดิบ

สำหรับการใช้น้ำตาลชูโครส ยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* สามารถผลิตเอนไซม์ อินเวอร์เทส (Invertase) ที่สามารถย่อยน้ำตาลชูโครสเป็นน้ำตาลรีดิคซ์ได้ (น้ำตาลที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (Aldehyde) หรือคีโตน (Ketone) ที่เป็นอิสระอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายด้วย ตัวออกซิไดส์ อย่างอ่อน เช่นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทุกชนิด) จึงไม่มีกระบวนการเตรียมวัตถุดิบที่ซับซ้อน เตรียมวัตถุดิบโดยการผสมน้ำ

ข. กระบวนการทำให้เหลว (Liquefaction)

- มันสำปะหลังเส้น

หลังจากมันสำปะหลังเส้นถูกบดจนมีขนาดเล็กจะถูกนำไปผสมกับน้ำและเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสในถังผสม และควบคุมให้มี pH ระหว่าง 4.0-5.5 เรียกกระบวนการนี้ว่า Gelatinization จากนั้นน้ำแป้งนี้จะถูกให้ความร้อนเพื่อช่วยให้เกิดการไฮโดรไลซิสจากแป้งเป็น มอลโตเดกซ์ทริน

- มันสำปะหลังสด

มันสำปะหลังสดถูกผสมน้ำในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบแล้ว ในขั้นตอนการทำให้เหลวจึงเติม เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและให้ความร้อนเพื่อไฮโดรไลซิสจากแป้งเป็นมอลโตเดกซ์ทริน

- น้ำตาลดิบ

น้ำตาลดิบมีส่วนประกอบหลักคือน้ำตาลชูโครส จึงไม่มีขั้นตอนนี้ในกระบวนการผลิต

ค. กระบวนการหมัก (Fermentation)

กระบวนการผลิตของบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด เป็นกระบวนการย่อยแป้งพร้อมกับหมัก (SSF) น้ำแป้งที่ผ่านกระบวนการทำให้เหลว ได้เป็นมอลโตเดกซ์ทรินจะถูกเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เพื่อไฮโดรไลซิสมอลโตเดกซ์ทรินเป็นกลูโคส พร้อมกับเติมยีสต์เพื่อเปลี่ยนกลูโคสเป็นเอทานอล กระบวนการที่เกิดขึ้นเป็นกระบวนการคายความร้อน ทำให้น้ำหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลกับ เซลล์ยีสต์และเอนไซม์ จึงต้องมีการระบายความร้อนให้เหมาะสม กระบวนการหมักแบบกะเป็นระบบ ปิดที่มีสารอาหารทั้งหมดที่สิ่งมีชีวิตใช้ สำหรับการหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* ในบริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด ใช้เวลาประมาณ 48-72 ชั่วโมง ทั้งนี้การสิ้นสุดการหมักเมื่อ ปริมาณน้ำตาลที่เหลือในของเหลวที่หมักหมด หลังจากการย่น้ำหมักออกจากถังหมักเพื่อเตรียม

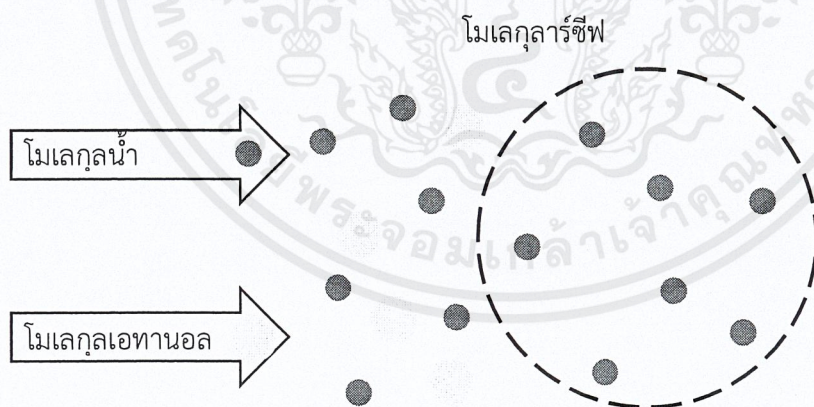
เข้าสู่กระบวนการกลั่น ดังหมักถูกฆ่าเชื้อด้วยการอบด้วยไอน้ำ เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการหมักเอทานอลในกะต่อไป

ง. กระบวนการกลั่น (Distillation)

ขั้นตอนนี้เป็นการกลั่นเพื่อให้เอทานอลบริสุทธิ์ แยกเอทานอลในน้ำหมักที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 8-12 โดยปริมาตร ออกจากน้ำจากการหมัก โดยการกลั่นลำดับส่วน ซึ่งสามารถแยกเอทานอลให้บริสุทธิ์ร้อยละ 95.6 โดยปริมาตร แต่เอทานอลเกรดเชื้อเพลิงต้องมีความเข้มข้นของเอทานอลไม่ต่ำกว่าร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร จึงให้ใช้เทคโนโลยีอื่นนอกจากการกลั่นลำดับส่วนเพื่อแยกเอทานอลออกจากน้ำ ปัจจุบันเทคโนโลยีที่ถูกนำมาใช้แยกเอทานอลได้แก่ กระบวนการกลั่นแบบอาซีโอโทรปิก (Azeotropic Distillation Process) กระบวนการแยกแบบดูดซับโดยโมเลกุลาร์ซีฟ (Molecular Sieves Dehydration) และเทคโนโลยีแผ่นเยื่อบาง (Membrane Technology) ในกระบวนการผลิตของบริษัททรัพยากรพิพย์ใช้กระบวนการแยกแบบดูดซับโดยโมเลกุลาร์ซีฟ

จ. กระบวนการแยกแบบดูดซับโดยโมเลกุลาร์ซีฟ (Molecular Sieves Dehydration)

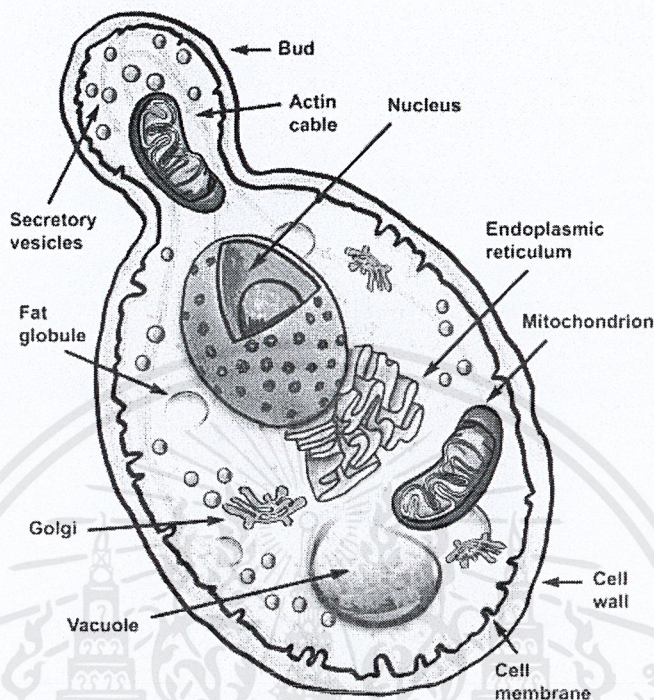
เป็นกระบวนการดูดซับสลับความดัน (Pressure Swing Adsorption) โมเลกุลของเอทานอลมีขนาดใหญ่กว่าโมเลกุลของน้ำ มีค่า $4.4 \text{ \AA}$ และ $2.8 \text{ \AA}$ ตามลำดับ โดยขนาดรูพรุนของโมเลกุลาร์ซีฟจะมีขนาดเล็กกว่าขนาดโมเลกุลของเอทานอล ทำให้เอทานอลไม่สามารถแพร่เข้าไปในรูพรุนของโมเลกุลาร์ซีฟได้ ทำให้สามารถดูดซับโมเลกุลน้ำออกได้ ตามภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 ภาพการทำงานของโมเลกุลาร์ซีฟ

2.1.6 ยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae*

ก. ลักษณะทั่วไปของ *Saccharomyces Cerevisiae*



ภาพที่ 2.8 ลักษณะเซลล์ *Saccharomyces Cerevisiae*

(ที่มา: Graeme M Walker, 2559)

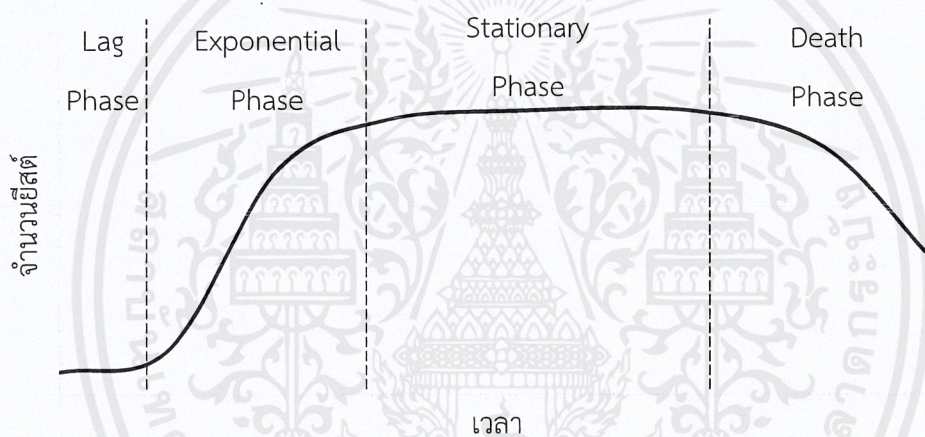
Saccharomyces Cerevisiae เป็นยีสต์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการหมักเครื่องดื่ม มีรูปร่างเป็นทรงรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ที่สุดประมาณ 5-10 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กที่สุดประมาณ 5 ไมโครเมตร ยีสต์เป็นราที่มีเซลล์เดียว มีคุณสมบัติโครงสร้างพื้นฐานคล้ายกับเซลล์ยูคาริโอต มีผนังเซลล์ นิวเคลียส ไมโทคอนเดรีย เอนโดพลาสมิกเรติคูล (ER) อพกรณกอลจิก แวกคิวโอล จุลินทรีย์ และถุง Secretory Vesicles รวมทั้งเยื่อภายในและภายนอกเซลล์ที่ซับซ้อน

ข. ลักษณะทางกายภาพที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของ *Saccharomyces Cerevisiae*

Saccharomyces Cerevisiae เป็นสิ่งมีชีวิตที่ชอบน้ำ น้ำเป็นสิ่งสำคัญในกระบวนการหมัก น้ำหมักที่มีความเข้มข้นน้ำตาลสูงทำให้ยีสต์เกิดความเครียดออสโมซิส (ความเข้มข้นของน้ำตาลสูง) ส่งผลเสียต่อสรีระของเซลล์ สามารถแก้ปัญหานี้ได้ด้วยการหมักแบบ Very High Gravity (VHG) การขาดน้ำส่งผลให้ยีสต์ผลิตกลีเซอรอลมากขึ้น หรือออสโมไลต์อื่น เช่น ทรีฮาโลส ที่สามารถช่วยยีสต์

ปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้แห้งเกินไป อุณหภูมิและความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมจำเป็นสำหรับการหมักแอลกอฮอล์ ยีสต์มักอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีอุณหภูมิประมาณ 20 ถึง 30 องศาเซลเซียส และความดันกรดต่างมีค่าเป็นกรดเล็กน้อย pH 4.5 ถึง 6.5 ระหว่างการหมักยีสต์มีการสร้างกรดสู่สภาพแวดล้อมเนื่องจากการปล่อยโปรตอนระหว่างการถ่ายเทสารอาหาร และการสร้างผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่เป็นกรดเช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก เป็นต้น และ *Saccharomyces Cerevisiae* ต้องการใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต เนื่องจากยีสต์จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนเพื่อผลิตกรดไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ (เช่นกรดโอเลอิก) และสเตอรอล (เช่น เออร์โกสเตอรอล) ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์สามารถให้ออกซิเจนในตอนเริ่มต้นหมัก หรือระหว่างการหมัก เพื่อช่วยสร้างกรดไขมันและสเตอรอล (มักใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร)

ค. การเจริญเติบโตของยีสต์



ภาพที่ 2.9 แผนภาพการเจริญเติบโตของยีสต์ต่อเวลา

- ระยะพักตัว (Lag Phase)

เป็นระยะที่เซลล์เริ่มอยู่ในสภาวะใหม่ ระยะพักตัวของเซลล์จะมีการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อม เช่น ชนิดของสารตัวกลาง ความเป็นกรดเบส อุณหภูมิ เซลล์ยังไม่มี การแบ่งตัวแต่จะมีการสร้างเอนไซม์และโมเลกุลที่จำเป็นเพื่อใช้ในการย่อยสารอาหาร และเตรียมในการนำสารในอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโต เซลล์มีการเจริญแบบเพิ่มขนาด ระยะ Lag Phase จะยาวหรือสั้นขึ้นกับอายุของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมและวิธีการเลี้ยงเชื้อ

- ระยะเพิ่มจำนวนทวีคูณ (Exponential Phase)

หลังจากการปรับตัวเข้ากับสภาวะใหม่แล้ว ในระยะนี้เซลล์พร้อมมีการใช้อาหาร และเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วแบบทวีคูณ (Multiplication) คือการเติบโตขึ้นกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต เมื่อมีจำนวนเซลล์มากจะเติบโตมาก เป็นลักษณะกราฟแบบ Exponential มีอัตราการใช้สารอาหารสูงมาก สารอาหารจึงลดลงอย่างรวดเร็ว ระยะนี้จะเกิดการผลิตเอทานอลรวดเร็วที่สุด และเมื่อสารอาหารเริ่มลดลง Cell Growth จะลดช้าลง จนเข้าสู่ช่วงถดถอย ช่วงเวลาของช่วงนี้จะสั้นหรือยาวขึ้นกับปริมาณและความเข้มข้นของสารอาหาร และปริมาณการขับถ่ายสารที่เป็นพิษของจุลินทรีย์ซึ่งอาจทำให้การเจริญเติบโตและการทำงานของเอนไซม์หยุดชะงัก

- ระยะคงที่ (Stationary Phase)

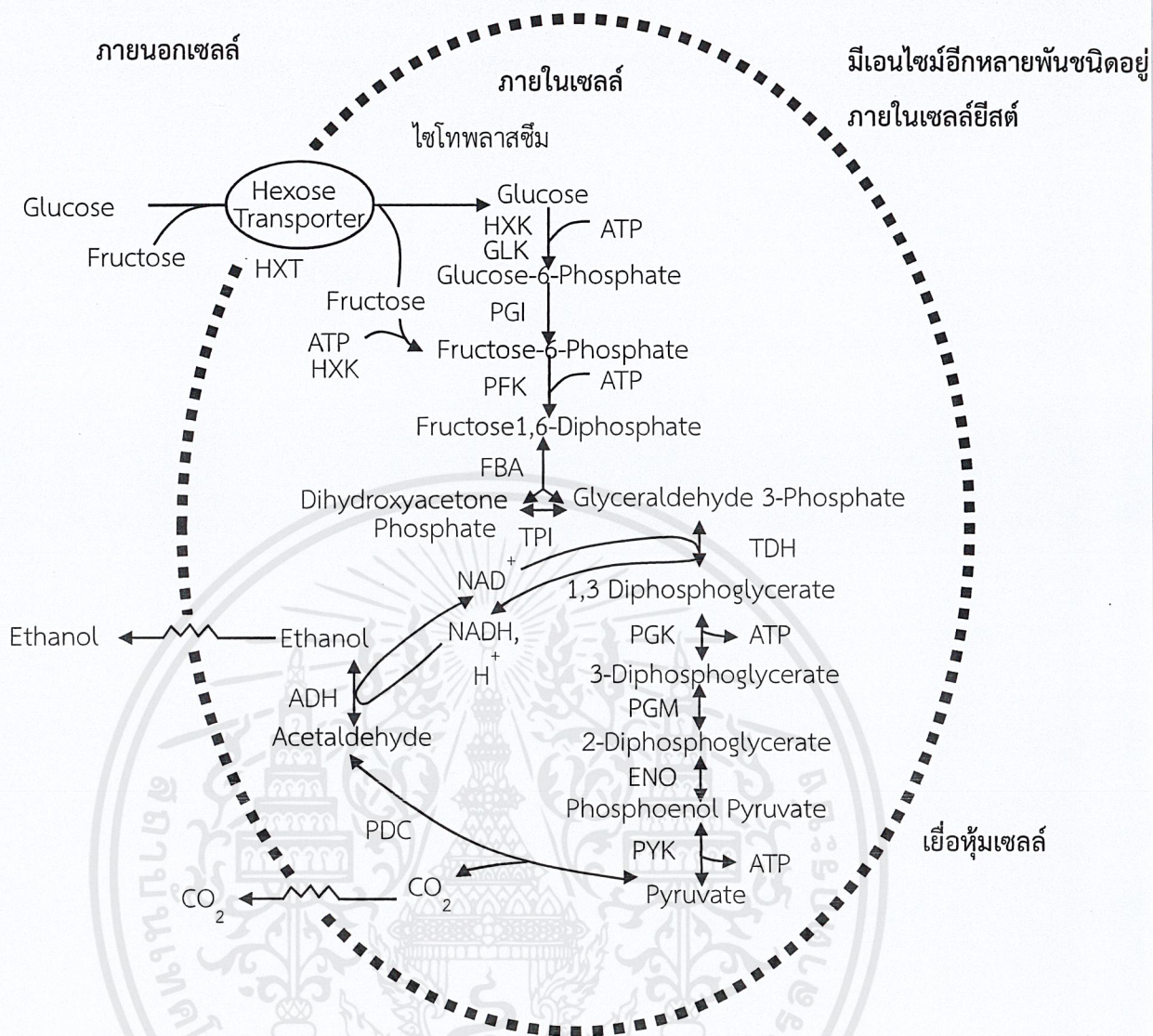
เป็นช่วงที่มีประชากรเซลล์เยอะที่สุด เซลล์ที่เกิดและตายมีค่าเท่ากัน (สมดุล) ทำให้มีจำนวนเซลล์คงที่ จนกระทั่งถึงระยะที่สารอาหารหมด หรือมีการสะสมของผลิตภัณฑ์ยับยั้งการเจริญเติบโต

- ระยะตาย (Death Phase)

เป็นระยะที่เซลล์มีอัตราการตายแบบยกกำลัง ขึ้นกับการขาดแคลนอาหาร ปริมาณความเข้มข้นของสารพิษที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ เป็นต้น

ง. ปฏิกิริยาเมแทบอลิซึมจากการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae*

ชีวเคมีของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ เป็นกระบวนการไกลโคลิซิส สารตั้งต้นคือกลูโคสหรือฟรักโทส กระบวนการไกลโคลิซิสเป็นกระบวนการการสลายกลูโคส 1 โมเลกุล ได้ กรดไพรูเวต 2 โมเลกุล เกิดที่บริเวณไซโทซอลมีหลายขั้นตอนโดยในแต่ละขั้นตอนจะมีเอนไซม์ต่าง ๆ มาเร่งปฏิกิริยา มีขั้นตอนหลักคือการเติมพลังงาน ATP 2 โมเลกุลให้กับน้ำตาลกลูโคส เปลี่ยนน้ำตาลที่มี 6 คาร์บอนให้เป็น น้ำตาลที่มีคาร์บอน 3 อะตอม หรือเรียกว่าไตรโอสฟอสเฟต (Triose Phosphate) จำนวน 2 โมเลกุล และการออกซิเดชันไตรโอสฟอสเฟตได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไพรูเวต และถูกเอนไซม์ Pyruvate Decarboxylase ดึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากโมเลกุล ผลิตภัณฑ์เป็นแอซีทาลดีไฮด์ เรียกกระบวนการนี้ว่ากระบวนการกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ (Decarboxylation) แอซีทาลดีไฮด์ถูกเอนไซม์ Alcohol Dehydrogenase เร่งการผลิตผลิตภัณฑ์เอทานอล แสดงในภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 ปฏิกริยาเมทาบอลิซึมจากการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae*

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักด้วยวิธีต่าง ๆ

สุจิตรา และคณะ (2556) ทดลองผลิตเอทานอลจากผักตบชวา จอกน้ำ และรูปถุณี ด้วยเชื้อยีสต์ *Candida Shehatae* TISTR 5843 ด้วยกระบวนการหมักแบบกะและกึ่งกะ พบว่าการหมักแบบกะ วัชพืชที่ผลิตเอทานอลได้มากที่สุดคือผักตบชวา ได้ผลได้เอทานอล 0.46 กรัมเอทานอลต่อกรัมวัตถุดิบ เมื่อทดลองหมักแบบกึ่งกะ โดยเติมอาหาร 2 ครั้ง (สัดส่วน 1:0.6:0.4 โดยปริมาตร) ผลได้เอทานอลเพิ่มขึ้นเป็น 0.48 กรัมเอทานอลต่อกรัมวัตถุดิบ การวิจัยนี้ช่วยชี้ให้เห็นว่าการหมักแบบ

กึ่งกะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำในแง่ความเข้มข้นของเอทานอล และช่วยให้ประสิทธิภาพการหมักสูงขึ้น

บุญช่วย ปานอินทร์ และวราณี แผงจันทิก (2558) ศึกษาเพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบร่วมกับกากน้ำตาลในการหมักแบบกะ โดยพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพการหมัก พบว่าสัดส่วนการผสมกากน้ำตาล 80% และน้ำตาลทรายดิบ 20% จะได้ประสิทธิภาพการหมักสูงถึง 82.71% เมื่อเติมเอนไซม์ในการหมักได้ประสิทธิภาพการหมักเพิ่มสูงขึ้นเป็น 84.27% ที่สัดส่วนวัตถุดิบกากน้ำตาลลดลงเป็น 40% และน้ำตาลทรายดิบ 60% เมื่อเติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อในการหมัก จะได้ประสิทธิภาพการหมักเพิ่มสูงขึ้นเป็น 85.98% ที่สัดส่วนวัตถุดิบกากน้ำตาลลดลงเป็น 20% และน้ำตาลทรายดิบ 80% งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้น้ำตาลดิบหมักร่วมกับกากน้ำตาล สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการหมักได้

กนกวรรณ แก้วแกมเสื่อ (2547) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลในบริษัท แสงโสม จำกัด ทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณน้ำตาลที่เหลือในสาส่งกลั่นโดยวิธี Modified Lane-Eynon Constant Volume Volumetric Method และวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ทดลองการหมักแบบกึ่งกะ 2 ขั้นตอน พบว่าเมื่อเพิ่มการหมักขั้นที่ 2 ทำให้ปริมาณน้ำตาลหลังการหมักลดลง 3.5% วิเคราะห์หาแนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล โดยทดลองเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้ในการหมักขั้นที่ 2 เป็น 17.5% 18.5% และ 19.5% พบว่าการหมักที่ความเข้มข้น 18.5% ได้ประสิทธิภาพการหมักสูงที่สุด และทดลองให้ความเข้มข้นของน้ำตาลในขั้นที่ 2 มีค่า 18.5% โดยปรับลดความเข้มข้นของน้ำตาลในขั้นตอนที่ 1 จากเดิม 14% เป็น 10% พบว่าประสิทธิภาพการหมักมีค่าใกล้เคียงกัน งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มขั้นตอนการหมักน้ำกาสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการหมักได้ และเมื่อลดความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำกาสำหรับหมักในขั้นตอนที่ 1 จาก 14% เหลือ 10% พบว่าประสิทธิภาพหลังการหมักขั้นตอนที่ 2 มีค่าใกล้เคียงกัน

Fernanda Badotti et al. (2550) ปรับปรุงยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* ให้มีคุณสมบัติขาดแคลนเอนไซม์อินเวอร์เทสเพื่อให้ยีสต์สามารถใช้ซูโครสได้ทีละเล็กละน้อย ป้องกันการเผาผลาญอาหารมากเกินไป มีหลักการทำงานคล้ายการหมักแบบกึ่งกะ พบว่าเมื่อทดลองหมักยีสต์ที่ปรับปรุงด้วยการหมักแบบกะ ยีสต์ยังสามารถเติบโตได้ดีจากการใช้ซูโครส เนื่องจากยีสต์สามารถเปลี่ยนซูโครสเป็น MALx1 มอลโตสเพอมีเอส ซึ่งสามารถย่อยต่อโดยเอนไซม์มอลแทสภายในเซลล์ ทั้งนี้ยีสต์ที่ถูกปรับปรุงนี้บริโภคซูโครสได้เพียงเล็กน้อย และผลิตเอทานอลจากชีวมวลได้น้อยลง 1.5 ถึง 2.0 เท่า เมื่อเทียบกับการหมักแบบกะ งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นแนวทางในการปรับปรุงเชื้อยีสต์เพื่อใช้ในกระบวนการหมักแบบกะให้ได้ผลใกล้เคียงการหมักแบบกึ่งกะที่ซับซ้อนกว่า



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีการทดลอง

3.1.1 การเตรียมแหล่งคาร์บอนและการทดลองหมัก

ก. การเตรียมน้ำแป้ง

เก็บน้ำแป้งจากกระบวนการผลิตของบริษัททรัพยากรทิพย์ก่อนเข้าถังหมัก ตวงน้ำแป้งตามอัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 70 และ 50 โดยปริมาตร คิดเป็นปริมาตร 1,800 1,400 และ 1,000 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมอาหารยีสต์ เอนไซม์กลูโค-อะไมเลส และยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* ความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นที่ 0.06 กรัมต่อลิตร

ข. การเตรียมสารละลายน้ำตาลดิบ

เตรียมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 18 %Brix โดยคิดอัตราส่วนน้ำตาลดิบ 19.8 กรัมต่อสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร สำหรับสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 30 %Brix ทำอัตราส่วนน้ำตาลดิบ 31.8 กรัม ต่อสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตวงสารละลายน้ำตาลดิบตามอัตราส่วนร้อยละ 10 30 และ 50 โดยปริมาตร คิดเป็นปริมาตร 200 600 และ 1,000 มิลลิลิตร ตามลำดับ

ค. การทดลองหมัก

ทดลองหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งต่อสารละลายน้ำตาลดิบ 90:10 70:30 และ 50:50 โดยปริมาตร ปริมาตรรวม 2000 มิลลิลิตร หมักในขวดกันแบนขนาด 2000 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างน้ำหมักและเชื้อยีสต์มาวิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส ความเข้มข้นของน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนอิสระ และปริมาณสารในน้ำแป้ง แล้วปิดฝาขวดกันแบนด้วยสำลี ใส่ น้ำแป้งที่ผสมเชื้อยีสต์แล้วเขย่าในเครื่องเขย่า (Shaking incubator) ควบคุมอุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที วิเคราะห์ผลการหมักทุก 16 ชั่วโมง หมักจนกว่าปริมาณน้ำตาลมีค่าน้อยกว่า 1.00% โดยมวลต่อปริมาตร วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

3.1.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำแบ่ง

ก. การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนอิสระ (Free amino nitrogen, FAN)

เทตัวอย่างน้ำแบ่ง 100 มิลลิลิตรในปิកเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับค่าให้สารละลายตัวอย่างมี pH 8.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, NaOH) เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จากนั้นเติมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde, CH₂O) เข้มข้นร้อยละ 38 โดยปริมาตร 25 มิลลิลิตร เพื่อเจือจาง ทำให้สารละลาย มี pH ลดลง ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายตัวอย่าง มี pH เท่ากับ 8.0 วัดค่าโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส บันทึกปริมาณสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ กำหนดให้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล 1 มิลลิลิตร เทียบเท่ากับไนโตรเจนอิสระ 1.4 มิลลิกรัม จะสามารถวิเคราะห์ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน อิสระได้จาก

$$\text{FAN (mg/L)} = \frac{T \times 1.4 \times 1000}{S} \quad 3-1$$

เมื่อ

T คือปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

S คือปริมาตรตัวอย่างน้ำแบ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์ ในการทดลองนี้มีค่า 100 มิลลิลิตร

ข. การวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

รายละเอียดภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงมีดังนี้

คอลัมน์วิเคราะห์ : Aminex HPX-87H

สารพา : สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.005 โมลาร์

อัตราการไหลของสารพา : 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาณการฉีด : 10 ไมโครลิตร

เวลาการฉีด : 25 นาที

- การเตรียมตัวอย่างวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น กรองตัวอย่างสารละลายด้วยสำลี และแยกตะกอนด้วยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที แล้วกรองผ่านหัวกรองขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร บรรจุตัวอย่างที่กรองแล้วในขวดไวแอลขนาด 2 มิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ค. การวิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส (pH Meter)

- การปรับเทียบมาตรฐานเครื่องวิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส

ก่อนการใช้งาน จะต้องปรับเทียบมาตรฐาน โดยการปรับเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานด้วยระบบ Two-Point Calibration ปรับช่วง pH ที่ต้องการวัดด้วยสารบัฟเฟอร์ pH 4.01 7.00 และ 9.21

- วิธีการวิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส

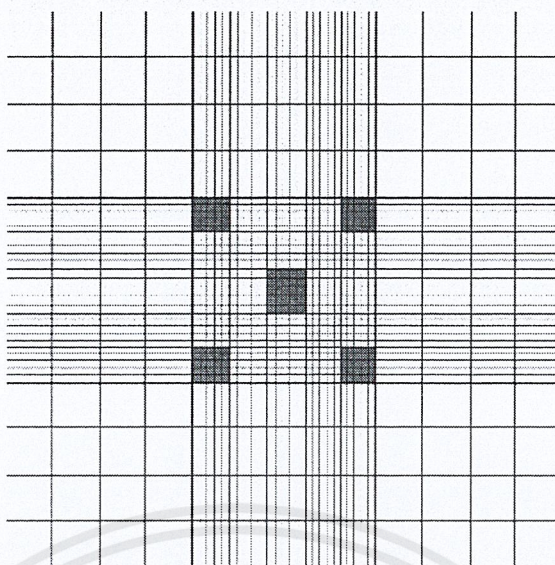
จุ่มโพรบวัดในตัวอย่างน้ำหมัก ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่นก่อนและหลังการวัดตัวอย่าง ซับ Glass membrane ด้วยกระดาษอ่อนนุ่มหรือสำลีให้แห้ง

ง. การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นน้ำตาล (%Brix)

วิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลด้วยเครื่องวัดดัชนีหักเหแบบดิจิตอล โดยต้องทำการปรับเทียบกับน้ำเปล่าหรือน้ำกลั่นเพื่อปรับค่าตัวเครื่องให้เริ่มวัดค่าปริมาณของน้ำตาลที่ร้อยละ 0 ทุกครั้งก่อนการใช้งาน จากนั้นหยดน้ำแบ่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาล

จ. การวัดการเจริญเติบโตของยีสต์โดยใช้ไฮโมซิโตมิเตอร์

ตวงตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร เทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ เขย่าให้เท่ากัน หยดตัวอย่างที่เจือจางแล้วลงบนสไลด์ไฮโมซิโตมิเตอร์ แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วางสไลด์ลงบนแท่นวางของกล้องจุลทรรศน์ปรับกล้องจุลทรรศน์ให้เหมาะสม และตรวจนับจำนวนเซลล์ยีสต์โดยสุ่มนับ 5 ช่องสี่เหลี่ยมเล็กตามภาพที่ 3.1 (4 มุม และตรงกลาง)



ภาพที่ 3.1 รูปจำลองฮีโมไซโตมิเตอร์

นับจำนวนเซลล์ทั้งหมด และจำนวนการแตกหน่อ

- การคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตร Hemocytometer 1 ช่อง} &= 1 \times 1 \times 0.1 \text{ มม}^3 \\ &= 10^{-4} \text{ มล.} \end{aligned}$$

เนื่องจาก dilute 100 เท่า จะได้

$$\text{ปริมาณเชื้อยีสต์ (Cell Count)} = \text{จำนวนเซลล์ที่นับได้} \times 5 \text{ (} 10^6 \text{ เซลล์ / มิลลิลิตร)} \quad 3-2$$

$$\text{การแตกหน่อ (Budding Cell)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์แตกหน่อ}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมด}} \times 100\% \quad 3-3$$

ฉ. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Modified Lane-Eynon Constant Volume Volumetric Method

เป็นวิธีวิเคราะห์คิวปริกไอออน (Cupric Ion, Cu^{2+}) ในสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ (Alkaline Copper Solution) จะถูกรีดิวซ์เป็นคอปเปอร์ (I) ออกไซด์ (Cu_2O) โดยน้ำตาลรีดิวซ์ ไซเมทิลีนบลูเป็นอินดิเคเตอร์ ที่จุดยุติ เมทิลีนบลูจะถูกเปลี่ยนเป็นสารไม่มีสีทำให้มองเห็นตะกอนทองแดง

- การเตรียมสารเคมี

1. เตรียมสารละลายเฟห์ลิง เอ (Fehling A) ชั่งคอปเปอร์ (II) ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต (Copper (II) Sulfate Pentahydrate, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 69.28 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดปริมาตร 1 ลิตร กวนให้ละลายด้วยเครื่องกวนสารแบบแท่งแม่เหล็กแล้วปรับให้มีปริมาตร 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หากสารละลายมีตะกอน กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.42 แล้วเก็บสารละลายที่ได้ในขวดสีชา

2. เตรียมสารละลายเฟห์ลิง บี (Fehling B) ชั่งโพแทสเซียมโซเดียม ทาร์เทรต (Potassium Sodium Tartrate, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 346.09 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร ตั้งให้เย็นแล้วผสมสารละลายทั้งสองในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน หากสารละลายมีตะกอน กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.42 แล้วเก็บสารละลายที่ได้ในขวดสีชา

3. เตรียมสารละลายเมทิลีนบลู (Methylene Blue, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$) ชั่งเมทิลีนบลู 1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4. เตรียมสารละลายเดกซ์โทรส (Dextrose, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) ชั่งเดกซ์โทรส 0.2 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

ฉ. การทำมาตรฐานของสารละลายเฟห์ลิง

ปิเปตน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายเฟห์ลิง เอ และ บี อย่างละ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วต้มบนเตาให้ความร้อนจนเดือด หยดเมทิลีนบลู 2-3 หยด แล้วไทเทรตด้วยสารละลายเดกซ์โทรส 0.2% ที่เตรียมไว้จนถึงจุดยุติ (สารละลายสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นตะกอนสีแดงอิฐ) จากนั้นบันทึกปริมาณเดกซ์โทรสที่ใช้เพื่อหา Fehling Factor

$$\text{Fehling Factor} = \frac{25.64}{\text{ปริมาณเดกซ์โทรสที่ใช้}} \quad 3-4$$

ข. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม เจือจางด้วยน้ำให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองตัวอย่างด้วยสำลี บรรจุตัวอย่างในบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร บีบดันน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร บีบดันสารละลายเฟห์ลิง เอ และ บี อย่างละ 5 มิลลิลิตรลงขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วต้มบนเตาให้ความร้อนจนเดือด หยดเมทิลินบลู 2-3 หยด แล้วไทเทรตน้ำหนักที่เตรียมไว้จนถึงจุดยุติ (เปลี่ยนจากสารละลายสีน้ำเงินเป็นตะกอนสีแดงอิฐ) จากนั้นบันทึกปริมาณน้ำหมักที่ใช้เพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จาก

$$\%RS = \frac{5.128}{T \times \text{Fehling Factor}} \times \text{Dilute Factor} \quad 3-5$$

ข. Biosensor

แบ่งตัวอย่างน้ำหนักแยกตะกอนด้วยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที จากกระบวนการวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง หยดตัวอย่างลงบนเพลต แล้วนำเพลตเข้าเครื่อง Biosensor เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และฟรักโตส

ฅ. การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล (ชุดกลั่น VA)

เตรียมตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมกันในขวดกันแบนขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเม็ดกันเดือด และสารป้องกันโฟมเล็กน้อย เพื่อป้องกันการเดือดปะทุที่รุนแรง ให้ความร้อนด้วยเตาให้ความร้อนแบบหุ้ม (Heating Mantle) ต่อบางขวดกันแบนด้วยคอนเดนเซอร์ไส้ตรง ด้านปลายคอนเดนเซอร์ที่โอบุบแน่นแล้วต่อกับขวดวัดปริมาตรขนาด 15 มิลลิลิตร กลั่นจนได้ดิสทิลเลตปริมาตร 15 มิลลิลิตร จึงหยุดกลั่น ฉีดดิสทิลเลตในเครื่องมือวัดความหนาแน่น อ่านค่าความเข้มข้นแอลกอฮอล์ที่อ่านได้ น้ำหมักที่เหลือจากการกลั่นแยกเอทานอลเรียกว่าน้ำกาสา น้ำกาสา จากการกลั่นที่ชั่วโง่งสุดท้ายของการหมัก ใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมด ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด และวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์

3.1.3 การวิเคราะห์น้ำ Spent Wash

ก. การวิเคราะห์หาของแข็งละลายได้ทั้งหมด (Total Dissolved Solids, TDS)

- การเตรียมกระดาษกรอง

ใช้กระดาษกรองยี่ห้อ Macherey-Nagel MN GF-3 เส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร วางกระดาษกรองด้านขรุขระไว้ด้านบนเครื่องกรองต่อกับปั๊มสุญญากาศ ล้างด้วยน้ำ Reagent Grade 3 ครั้ง ครั้งละ 20 มิลลิลิตร รอน้ำถูกดูดจนหมด จากนั้นนำกระดาษกรองไปอบเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใช้กรองและใช้ในการหาของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (Total Suspended Solids, TSS) ต่อไป

- การเตรียมถ้วยระเหย

อบถ้วยระเหยที่ตู้อบอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นรอน้ำให้ถ้วยระเหยเย็นลงในอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก เก็บถ้วยระเหยในตู้ควบคุมความชื้นเพื่อรอใช้งาน

- การกรองตัวอย่าง

นำตัวอย่าง 2-5 มิลลิลิตร กรองแบบสุญญากาศด้วยกระดาษกรองที่เตรียมไว้ใน 1.1 จากนั้นกลั้วด้วยน้ำ Reagent Grade 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง

- การวิเคราะห์ตัวอย่าง

เทน้ำที่กรองใน 1.3 ลงในถ้วยระเหยที่เตรียมไว้ใน 1.2 จากนั้นนำตัวอย่างไประเหยด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จนน้ำระเหยหมด นำถ้วยระเหยอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง รอน้ำถ้วยระเหยเย็นในตู้ควบคุมความชื้น จากนั้นนำถ้วยระเหยไปชั่งน้ำหนัก อบซ้ำจนน้ำหนักของถ้วยระเหยเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า 5 มิลลิกรัม

- การคำนวณ

$$\text{mg Total Dissolved Solids / L} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{Sample Volume (mL)}} \quad 3-6$$

เมื่อ A คือน้ำหนักสุดท้ายของสารที่เหลือรวมกับน้ำหนักถ้วยระเหย (มิลลิกรัม)

B คือน้ำหนักของถ้วยระเหย (มิลลิกรัม)

ข. การวิเคราะห์หาของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (Total Suspended Solids, TSS)

- การเตรียมกระดาศกรองและการกรอง

ใช้กระดาศกรองร่วมกับการหาของแข็งละลายได้ทั้งหมด โดยชั่งน้ำหนักกระดาศกรองหลังจากอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง อบซ้ำจนน้ำหนักของกระดาศกรองเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า 5 มิลลิกรัม และใช้กระดาศกรองที่ผ่านการกรองเพื่อหาของแข็งละลายได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์หาของแข็งแขวนลอยทั้งหมด

- การวิเคราะห์ตัวอย่าง

นำกระดาศกรองที่ผ่านการกรองตัวอย่างแล้วอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง อบซ้ำจนน้ำหนักของกระดาศกรองเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า 5 มิลลิกรัม

- การคำนวณ

$$\text{mg Total Suspended Solids / L} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{Sample Volume (mL)}} \quad 3-7$$

เมื่อ A คือน้ำหนักสุดท้ายของสารที่เหลืรวมกับน้ำหนักกระดาศกรอง (มิลลิกรัม)
B คือน้ำหนักของกระดาศกรอง (มิลลิกรัม)

ค. การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (Chemical Oxygen Demand ; COD) วิธีรีฟลักซ์แบบเปิด

- สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate, $K_2Cr_2O_7$) เข้มข้น 0.04167 โมลาร์ เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไดโครเมต Primary Standard Grade 12.259 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออน อบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ถ่ายลงขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2. กรดซัลฟิวริกเอเจนท์ เตรียมโดยละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Silver Sulfate, Ag_2SO_4) เกรด Technical จำนวน 10.12 กรัม ลงในขวดที่มีสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric, H_2SO_4) ปริมาตร 1 ลิตร (1.84 กิโลกรัม) ตั้งทิ้งไว้ 2 วันเพื่อให้ซิลเวอร์ซัลเฟตละลายจนหมด

3. สารละลายเฟอโรอินอินดิเคเตอร์สำเร็จรูป (Ferroin Indicator Solution, $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]SO_4$) เข้มข้น 0.025 โมลาร์

4. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous Ammonium Sulfate, FAS , $\text{Fe}(\text{SO}_4)(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.25 โมลาร์ โดยละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 98 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออน เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วถ่ายลงขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน โดยต้องทำการเทียบมาตรฐานทุกวันก่อนใช้งาน

5. ผง/ผลึกเมอร์คิวริก ซัลเฟต (Mercuric Sulfate, HgSO_4)

6. กรดซัลฟามิก (Sulfamic acid, H_3NSO_3) ใช้กำจัดไนไตรท์ (Nitrites, NO_2^-) เท่านั้น ใช้กรดซัลฟามิก 10 มิลลิกรัม ต่อไนไตรท์ 1 มิลลิกรัม

7. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate, KHP, $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$) โดยละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต 425 ± 1 มิลลิกรัม (อบที่อุณหภูมิ 119 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง) ในน้ำปราศจากไอออนลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร (ตามทฤษฎีพบว่าโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต มีค่าซีไอดี 1.176 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อมิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ดังนั้นสารละลายนี้มีค่าซีไอดี 500 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร)

- การทำมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 25 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เทสารละลายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น หยดสารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.25 โมลาร์ ที่เตรียมไว้ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง สามารถหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตได้จาก

$$\text{Molarity of FAS Solution} = \frac{V_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7} \times 0.2500}{V_{\text{FAS}}} \quad 3-8$$

เมื่อ

$V_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ คือปริมาตรสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (มิลลิลิตร)

V_{FAS} คือปริมาตรสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ไทเทรตได้ (มิลลิลิตร)

- วิธีการวิเคราะห์ซีไอดี

1. ปิเปตหรือตวง (กรณีตัวอย่างมีตะกอนมาก) ตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดกันแบน ขนาด 500 มิลลิลิตร (สำหรับตัวอย่างที่มีค่าซีไอดีมากกว่า 900 มิลลิกรัมออกซิเจน/ลิตร ให้ใช้ตัวอย่าง น้อยลงแล้วเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 50 มิลลิลิตร และต้องเก็บรักษาสภาพตัวอย่างใน กรณีที่ไม่ได้วิเคราะห์ภายในวันที่ได้รับตัวอย่างด้วยการเติมกรดซัลฟิวริกให้มีค่า $\text{pH} \leq 2.0$ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 6 องศาเซลเซียส)

2. เติมเมอร์คิวริกซัลเฟต 1.0 กรัม และเม็ดกันเดือด

3. เติมกรดซัลฟิวริกเอเจนท์ปริมาตร 5 มิลลิลิตรอย่างช้า ๆ เพื่อละลาย เมอร์คิวริกซัลเฟต ควรทำให้เย็นก่อนเขย่าเพื่อเลี่ยงการสูญหายไปของสารที่มีไอในตัวอย่าง

4. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.04167 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน

5. ตวงกรดซัลฟิวริกเอเจนท์ 70 มิลลิลิตร ใส่ลงไปช้า ๆ ควรทำให้เย็นก่อนเขย่าเพื่อเลี่ยง การสูญหายไปของสารที่มีไอในตัวอย่าง

6. สวมขวดกันแบนเข้ากับคอนเดนเซอร์ และเปิดน้ำให้ไหลผ่านเข้าระบบ (ผสมให้เข้ากันก่อน ให้ความร้อน เพราะความร้อนที่กันขวดอาจทำให้ของเหลวผ่านคอนเดนเซอร์)

7. ใช้ปิเปตปิดด้านปลายเปิดของคอนเดนเซอร์ เพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมหลุดเข้าไป ทำ การรีฟลักซ์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (เริ่มจับเวลาเมื่อสารในขวดกันแบนเดือด) แล้วปล่อยให้เย็นใน อุณหภูมิห้อง

8. ใช้น้ำปราศจากไอออนฉีดล้างคอนเดนเซอร์ และเจือจางสารที่อยู่ในขวดกันแบน ปริมาตร 300 มิลลิลิตร

9. ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอโรอิน อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ ให้จุดที่สารละลายเปลี่ยนจากสีฟ้าอมเขียวเป็น สีน้ำตาลแดง 1 นาที หรือมากกว่า เป็นจุดยุติ (ควรใช้เฟอโรอินอินดิเคเตอร์ปริมาตรคงที่ทุกครั้ง แม้จะไม่สำคัญต่อการวิเคราะห์)

10. ทำสารละลายแบลнк (Blank) ด้วยน้ำปราศจากไอออน โดยทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับ สารตัวอย่าง

11. ควบคุมคุณภาพด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตโดยทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับสารตัวอย่าง

- การคำนวณ

$$\text{COD as mg O}_2 / \text{L} = \frac{(A - B) \times M \times 8000}{V} \times \text{Dilute Factor} \quad 3-9$$

เมื่อ

- A คือปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตแบลงค์ (มิลลิลิตร)
- B คือปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
- M คือความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ (โมลาร์)
- V คือปริมาตรตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (ในกรณีนี้มีค่า 50 มิลลิลิตร)
- Dilute factor คืออัตราการเจือจาง

เกณฑ์การยอมรับ : 80-120% Relative percent difference (%RPD)

เมื่อ %RPD หาจาก

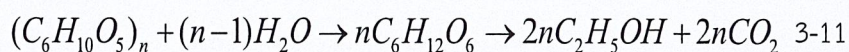
$$\% \text{RPD} = \frac{\text{ผลการทดสอบครั้งที่ 1} - \text{ผลการทดสอบครั้งที่ 2}}{\text{ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบทั้ง 2 ครั้ง}} \times 100\% \quad 3-10$$

3.1.4 การหาผลได้และประสิทธิภาพการหมัก

ก. วิธีหาผลได้เอทานอลทางทฤษฎี

- มัณสาปะหลังเส้น

สมการเคมีการเปลี่ยนแปงเป็นเอทานอล



ชื่อสาร	แปง	น้ำ	กลูโคส	เอทานอล	คาร์บอนไดออกไซด์
น้ำหนักโมเลกุล	162	18	180	46	44
ให้มี Glucose 100 ส่วน	90	10	100	51.1	48.9

ตัวอย่างการคำนวณ

น้ำแปงจากมัณสาปะหลังเส้นจำนวน 2000 มิลลิลิตร เข้มข้น 25 %DS มีความชื้น 13 %
โดยน้ำหนักกำหนดให้น้ำแปงมีความหนาแน่น 1.06 กรัมต่อมิลลิลิตร
จะได้

$$2000 \text{ มิลลิลิตร} \times 1.06 \frac{\text{กรัม น้ำแปง}}{\text{มิลลิลิตร}} \times 25 \frac{\text{กรัม มัณสาปะหลัง}}{100 \text{ กรัม น้ำแปง}} = 530 \text{ กรัม มัณสาปะหลังเส้นแห้ง}$$

กำหนดให้มัณสาปะหลังเส้นมีแปงร้อยละ 65 โดยน้ำหนัก

$$530 \text{ กรัม มัณสาปะหลังเส้นแห้ง} \times 1 \frac{\text{กรัม มัณสาปะหลังเส้น}}{(1-0.13)} \times 65 \frac{\text{กรัม แปง}}{100 \text{ กรัม มัณสาปะหลังเส้น}} = 395.98 \text{ กรัม แปง}$$

จะได้เอทานอล

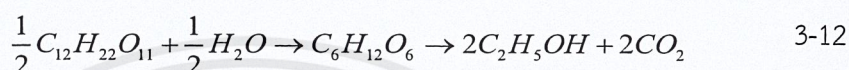
$$395.98 \text{ กรัม แปง} \times \frac{51.1 \text{ กรัม เอทานอล}}{90 \text{ กรัม แปง}} = 224.83 \text{ กรัม เอทานอล}$$

คิดเป็น

$$224.83 \text{ กรัมเอทานอล} \times \frac{1 \text{ ลิตรเอทานอล}}{0.789 \text{ กรัมเอทานอล}} = 284.96 \text{ ลิตรเอทานอล}$$

- น้ำตาลดิบ

สมการเคมีการเปลี่ยนซูโครสเป็นเอทานอล



ชื่อสาร	ซูโครส	น้ำ	กลูโคส	เอทานอล	คาร์บอนไดออกไซด์
น้ำหนักโมเลกุล	342	18	180	46	44
ให้มี Glucose 100 ส่วน	95	5	100	51.1	48.9

- ตัวอย่างการคำนวณ

สารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 18 %Brix ปริมาตร 2000 มิลลิลิตร กำหนดให้สารละลาย

น้ำตาลดิบ 18 %Brix มีความหนาแน่น 1.06 กรัมต่อมิลลิลิตร

$$2000 \text{ มิลลิลิตร} \times 1.06 \frac{\text{กรัมน้ำตาลดิบ}}{\text{มิลลิลิตร}} \times \frac{18}{100} = 381.6 \text{ กรัมน้ำตาลดิบ}$$

กำหนดให้น้ำตาลดิบมีน้ำตาลซูโครสร้อยละ 98 จะได้เอทานอล

$$381.6 \text{ กรัมน้ำตาลดิบ} \times \frac{98}{100} \frac{\text{กรัมซูโครส}}{\text{กรัมน้ำตาลดิบ}} \times \frac{51.1}{95} \frac{\text{กรัมเอทานอล}}{\text{กรัมซูโครส}} = 201.16 \text{ กรัมเอทานอล}$$

คิดเป็น

$$201.16 \text{ กรัมเอทานอล} \times \frac{1 \text{ ลิตรเอทานอล}}{0.789 \text{ กรัมเอทานอล}} = 254.96 \text{ ลิตรเอทานอล}$$

ข. วิธีหาประสิทธิภาพการหมัก

สูตรการคำนวณ

$$\text{ประสิทธิภาพการหมัก} = \frac{\text{ปริมาณของเอทานอลที่ผลิตได้จริง}}{\text{ปริมาณเอทานอลทางทฤษฎี}} \times 100\% \quad 3-13$$

ตัวอย่างการคำนวณ

น้ำแบ่งจากมันสำปะหลังเส้นจำนวน 2000 มิลลิลิตร เข้มข้น 25 %DS มีความชื้นร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก หมักได้เอทานอลร้อยละ 11 โดยปริมาตร

$$\text{ประสิทธิภาพการหมัก} = \frac{11}{100} \times \frac{\text{ปริมาตรเอทานอลจริง} \times 2000}{\text{ปริมาตรรวม} \times \text{ปริมาตรเอทานอลตามทฤษฎี}} \times 100\%$$

$$\text{ประสิทธิภาพการหมัก} = 77 \%$$

ค. การหาผลได้เอทานอล (Yield)

- การหาผลได้เอทานอลโดยใช้ผลรวมกลูโคส

โดยหากกลูโคสจากปริมาณสารสัมพันธ์โดยสมการเคมีที่ 3-11 และ 3-12

กลูโคสจากมันสำปะหลังเส้น

$$\text{กรัมกลูโคส} = \frac{100}{95} \times \text{กรัมแป้งจากมันเส้น}$$

กลูโคสจากน้ำตาลดิบ

$$\text{กรัมกลูโคส} = \frac{100}{95} \times \text{กรัมซูโครสจากน้ำตาลดิบ}$$

คิดเป็นผลได้เอทานอล ได้จาก

$$\text{ผลได้จากผลรวมกลูโคส} = \frac{\text{กลูโคสจากมันเส้น} + \text{กลูโคสจากน้ำตาลดิบ (กรัม)}}{\text{ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จริง (ลิตร)}} \quad 3-14$$

- การหาผลได้เอทานอล แยกวัตถุดิบ

$$\text{ผลได้จากวัตถุดิบ} = \frac{\text{กรัมวัตถุดิบ}}{\frac{\text{กรัมกลูโคสจากวัตถุดิบ}}{\text{กรัมกลูโคสรวม}} \times \text{ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จริง}} \quad 3-15$$

3.1.5 การประเมินราคา

ก. การคิดต้นทุนวัตถุดิบ

$$\text{ต้นทุนวัตถุดิบ} \frac{\text{บาท}}{\text{ลิตรเอทานอล}} = \text{ราคาวัตถุดิบ} \frac{\text{บาท}}{\text{กิโลกรัมวัตถุดิบ}} \times \text{ผลได้เอทานอล} \frac{\text{กิโลกรัมวัตถุดิบ}}{\text{ลิตรเอทานอล}} \quad 3-16$$

ข. การคิดต้นทุนวัตถุดิบจากการหมัก Top-up น้ำตาลดิบ

$$\begin{aligned} \text{ต้นทุนวัตถุดิบ} = & (\text{ราคามันเส้น} \times \text{ผลได้เอทานอลมันเส้น} \times \text{อัตราส่วนมันเส้น}) \\ & + (\text{ราคาน้ำตาลดิบ} \times \text{ผลได้เอทานอลน้ำตาลดิบ} \times \text{อัตราส่วนน้ำตาลดิบ}) \end{aligned} \quad 3-17$$

ค. การหาผลต่างต้นทุนวัตถุดิบ

$$\text{ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบ} = (\text{ต้นทุนวัตถุดิบมันเส้น 100\%}) - (\text{ต้นทุนวัตถุดิบหมัก Top-up น้ำตาลดิบ}) \quad 3-18$$

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ในบทนี้จะแสดงผลการทดลองและอภิปรายผลที่ได้จากการศึกษาผลของการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบ โดยศึกษาเปรียบเทียบการหมักโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลดิบต่างกัน ที่ 18 %Brix และ 30 %Brix และการหมักที่อัตราส่วนระหว่างน้ำแป้งต่อสารละลายน้ำตาลดิบที่แตกต่างกัน 3 อัตราส่วนดังนี้ อัตราส่วนน้ำแป้ง 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบ 10 อัตราส่วนน้ำแป้ง 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบ 30 และอัตราส่วนน้ำแป้ง 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบ 50 โดยปริมาตร น้ำหมักผสมด้วยยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* เอนไซม์ และอาหารเลี้ยงยีสต์ โดยแบ่งออกเป็น 4 หัวข้อ ได้แก่ (4.1) ผลของอัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบเมื่อใช้สารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ (18 %Brix) ต่อผลได้เอทานอลและการเติบโตของยีสต์ (4.2) ผลของอัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบเมื่อใช้สารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง (30 %Brix) ต่อผลได้เอทานอลและการเติบโตของยีสต์ (4.3) ผลของการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบต่อน้ำเสียจากการกลั่น (Spent wash) (4.4) การวิเคราะห์ความคุ้มค่าจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบ

4.1 ผลของอัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบเมื่อใช้สารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ (18 %Brix) ต่อผลได้เอทานอลและการเติบโตของยีสต์

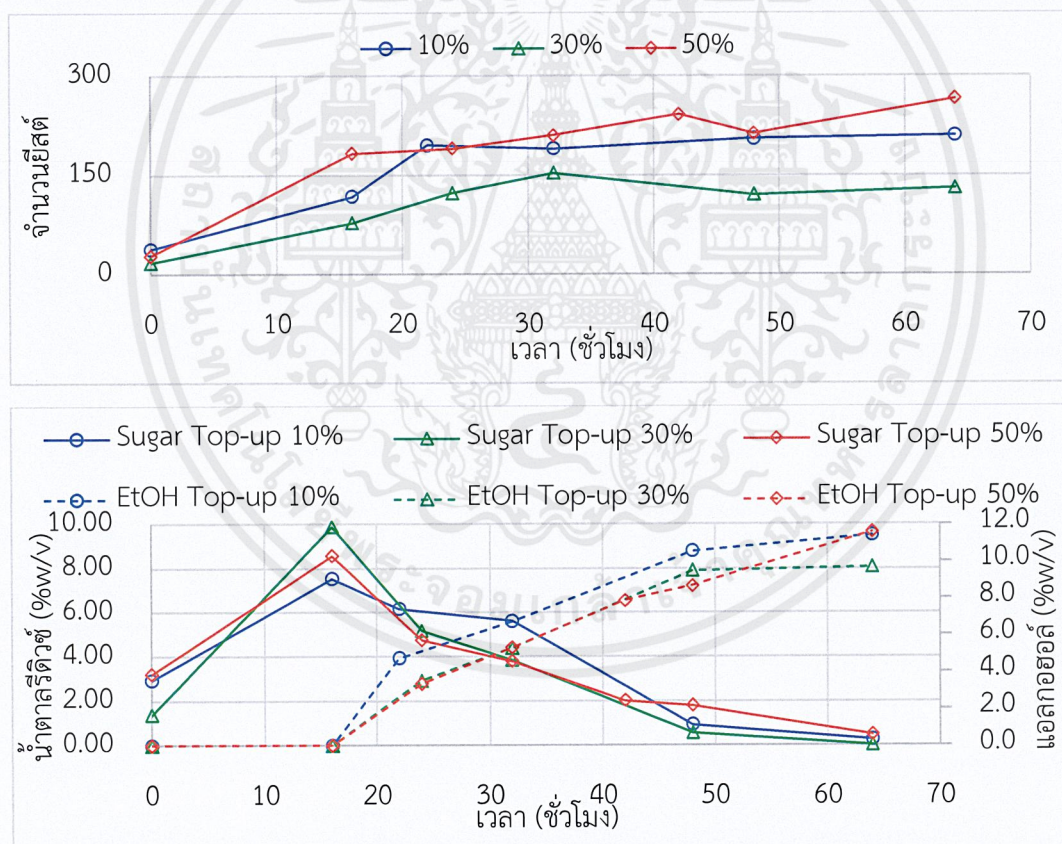
จากผลการศึกษาการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นต่ำ 18 %Brix พบว่าการหมักโดยมีอัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบมากกว่าร้อยละ 50 โดยปริมาตร การทดลองไม่เติมอาหารเลี้ยงยีสต์เพิ่มจากสูตรการหมักน้ำแป้ง จะทำให้สภาวะการหมักไม่เหมาะสม จึงทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 และอัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร ได้ผลตามตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นต่ำ (18 %Brix)

อัตราส่วน (น้ำแป้ง : น้ำตาลดิบ)	ลักษณะน้ำแป้ง	ผลการทดลอง
90:10	วัตถุดิบ : มันสำปะหลังเส้น 100% DS : 26.14% ความชื้น : 11.26% คิดเป็นแป้ง : 406 กรัมต่อ 2,000 มิลลิลิตร ปริมาณเอทานอลตามทฤษฎี : 14.6%v/v	หมักน้ำแป้งได้แอลกอฮอล์ : 11.36%v/v หมัก Top-up น้ำตาลดิบ : 11.41%v/v เพิ่มขึ้นร้อยละ : 0.4 คิดเป็นประสิทธิภาพ : 79%
70:30	วัตถุดิบ : มันสำปะหลังเส้นผสมมันสด 20% DS : 24.66% ความชื้น : 13% คิดเป็นแป้ง : 343 กรัมต่อ 2,000 มิลลิลิตร ปริมาณเอทานอลตามทฤษฎี : 12.3%v/v	หมัก Top-up น้ำตาลดิบ ได้แอลกอฮอล์ : 9.66%v/v คิดเป็นประสิทธิภาพ : 78%
50:50	วัตถุดิบ : ข้าว 100% DS : 25% ความชื้น : 10.75% คิดเป็นแป้ง : 416 กรัมต่อ 2,000 มิลลิลิตร ปริมาณเอทานอลตามทฤษฎี : 15%v/v	หมักน้ำแป้งได้แอลกอฮอล์ : 10.33%v/v หมัก Top-up น้ำตาลดิบ : 11.58%v/v เพิ่มขึ้นร้อยละ : 11.4 คิดเป็นประสิทธิภาพ : 82%

จากการทดลองพบว่าเมื่อหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นต่ำ (18 %Brix) ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตรจะได้ประสิทธิภาพการหมักมากที่สุด เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของยีสต์ได้ตามภาพที่ 4.1 พบว่าในระยะแรกของการทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร และอัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่า เนื่องจากน้ำแป้งเริ่มต้นมีปริมาณน้อย (1400 และ 1000 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ในขณะที่มีเอนไซม์กลูโคสไมเลสเท่ากันทุกการทดลอง จึงทำให้ความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคสไมเลสมีค่ามาก จึงย่อยแป้งได้น้ำตาลรีดิวซ์มาก เมื่อพิจารณาช่วงสุดท้ายของการหมักพบว่าที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 โดยปริมาตร และอัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร มีลักษณะใกล้เคียงกัน ระยะการเจริญเติบโตแบบระยะแบ่งตัวทวีคูณมีช่วงสั้น แต่การหมักในอัตราส่วนน้ำแป้ง

ร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 น้ำตาลมีการลดลงอย่างช้า ทำให้ยีสต์เจริญเติบโตโดยมีระยะแบ่งตัวแบบทวีคูณนานขึ้น ตรงกับเป้าหมายของการหมักแบบกึ่งกะที่ช่วยยืดช่วงระยะแบ่งตัวแบบทวีคูณ ให้ยีสต์กินน้ำตาลที่ละนิด ดังนั้นการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่ความเข้มข้นสารละลายน้ำตาลดิบต่ำ 18%Brix เมื่อหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร จะเริ่มให้ผลการทดลองที่แตกต่างจากการหมักแบบกะ ทั้งนี้การหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 โดยปริมาตร และอัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่ออัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร ได้ประสิทธิภาพการหมักสูงกว่าการหมักเฉพาะน้ำแป้งแบบเดิมจึงไม่ใช่ผลจากการหมักแบบกึ่งกะ แต่เนื่องจากเมื่อหมักน้ำแป้งที่มีความหนืดสูง ร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่มีความหนืดต่ำ จะทำให้สารละลายที่หมักมีความหนืดลดลง เกิดการเขย่าผสมกันได้ดีขึ้น เอนไซม์และยีสต์จึงกระจายตัวในน้ำหมักได้ดี ได้เอทานอลมากขึ้น



ภาพที่ 4.1 ปริมาณเชื้อยีสต์ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา ในการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นต่ำ (18 %Brix)

4.2 ผลของอัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบเมื่อใช้สารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง (30 %Brix) ต่อผลได้เอทานอลและการเติบโตของยีสต์

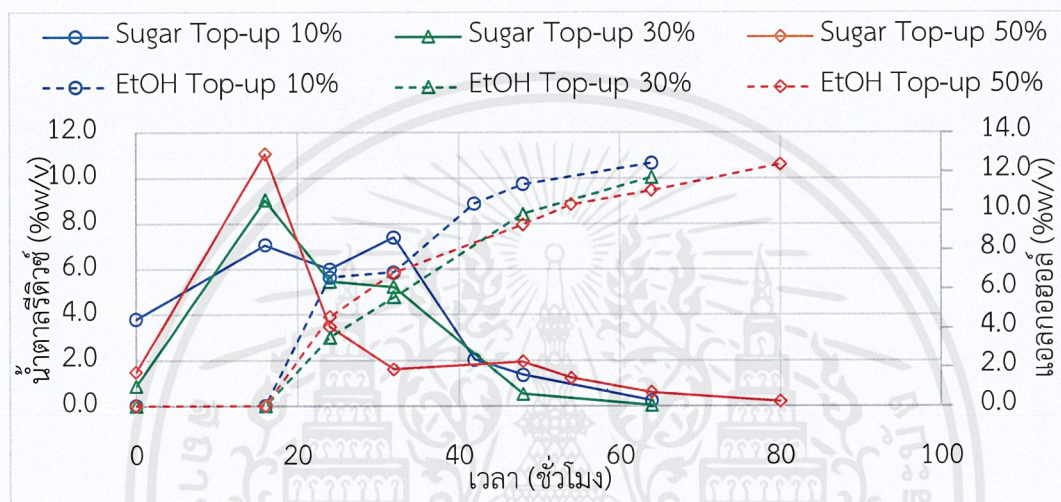
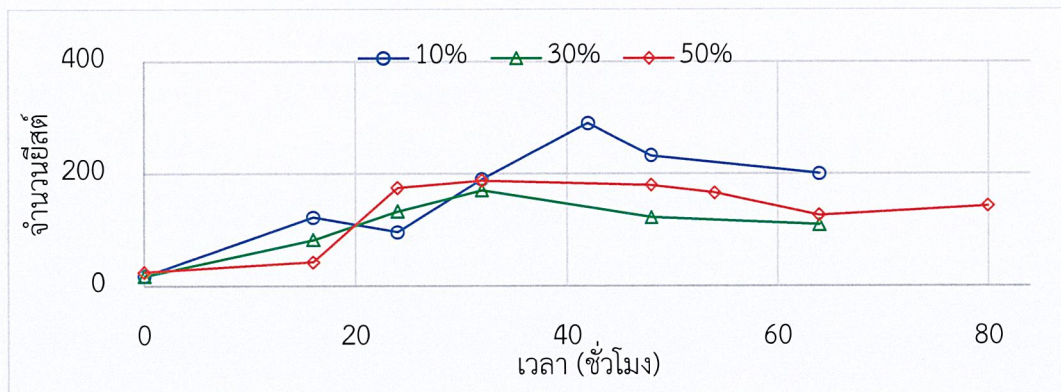
จากผลการศึกษาการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นสูง 30 %Brix เมื่อทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 และอัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร ได้ผลตามตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดลองหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นสูง (30 %Brix)

อัตราส่วน (น้ำแป้ง : น้ำตาลดิบ)	ลักษณะน้ำแป้ง	ผลการทดลอง
90:10	วัตถุดิบ : มันสำปะหลังเส้น 100%	หมักน้ำแป้งได้แอลกอฮอล์ : 11.31%v/v
	DS : 24.17% ความชื้น : 10.69%	หมัก Top-up น้ำตาลดิบ : 12.43%v/v
	คิดเป็นแป้ง : 373 กรัมต่อ 2,000 มิลลิลิตร	เพิ่มขึ้นร้อยละ : 9.4
	ปริมาณเอทานอลตามทฤษฎี : 13.4%v/v	คิดเป็นประสิทธิภาพ : 87%
70:30	วัตถุดิบ : มันสำปะหลังเส้นผสมมันสด 20%	หมัก Top-up น้ำตาลดิบ
	DS : 24.66% ความชื้น : 13%	ได้แอลกอฮอล์ : 11.71%v/v
	คิดเป็นแป้ง : 343 กรัมต่อ 2,000 มิลลิลิตร	คิดเป็นประสิทธิภาพ : 76%
	ปริมาณเอทานอลตามทฤษฎี : 12.3%v/v	
50:50	วัตถุดิบ : มันสำปะหลังเส้นผสมมันสด 35%	หมักน้ำแป้งได้แอลกอฮอล์ : 8.78%v/v
	DS : 25% ความชื้น : 10.75%	หมัก Top-up น้ำตาลดิบ : 12.34%v/v
	คิดเป็นแป้ง : 318 กรัมต่อ 2,000 มิลลิลิตร	เพิ่มขึ้นร้อยละ : 33.7
	ปริมาณเอทานอลตามทฤษฎี : 11.4%v/v	คิดเป็นประสิทธิภาพ : 75%

จากการทดลองพบว่า การหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 มีประสิทธิภาพการหมักสูงที่สุด ในระยะแรกการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 และ 50 โดยปริมาตร จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 โดยปริมาตร เนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสไมเลสเริ่มต้นสูงเช่นเดียวกับการทดลองที่ผ่านมา จากภาพที่ 4.2 พบว่าการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 จะได้ปริมาณเอทานอลที่สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงถึงการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลของยีสต์ที่อัตราส่วนนี้เกิดขึ้นได้ไวกว่าอัตราส่วนอื่น มีค่าการเจริญเติบโตจำเพาะ หรือ Specific growth rate สูง เป็นผลจากการควบคุมปริมาณน้ำตาลด้วยการหมักแบบกึ่งกะ ในขณะที่อัตราส่วนอื่นมีปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกัน แต่ใช้เวลามากกว่าเนื่องจากยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ช้ากว่า อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของน้ำตาลที่มากเกินไป ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ การหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตรจะมีปริมาณน้ำตาลมากกว่าอัตราส่วนอื่น จึงใช้เวลาหมักนานกว่าอัตราส่วนอื่น และได้ปริมาณเอทานอลมากกว่าการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร

จากแผนภาพแสดงการเจริญเติบโตของยีสต์ต่อเวลาพบว่าการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 โดยปริมาตร ยีสต์เติบโตได้ดีที่สุด ขณะที่อัตราส่วนอื่นพบว่ายีสต์มีปริมาณคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 หรือหลักจากการเติมสารละลายน้ำตาลดิบครั้งที่ 2 เนื่องจากการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นสูง 30 %Brix เมื่ออัตราส่วนสารละลายน้ำตาลดิบมากกว่าร้อยละ 10 โดยปริมาตร ทำให้ปริมาณน้ำตาลในสารละลายที่ใช้หมักเอทานอลมีปริมาณมากเกินไป จึงเกิดการยับยั้งการเจริญของยีสต์



ภาพที่ 4.2 ปริมาณเชื้อยีสต์ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา ในการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบความเข้มข้นสูง (30 %Brix)

4.3 ผลของการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบต่อน้ำเสียจากการกลั่น (Spent wash)

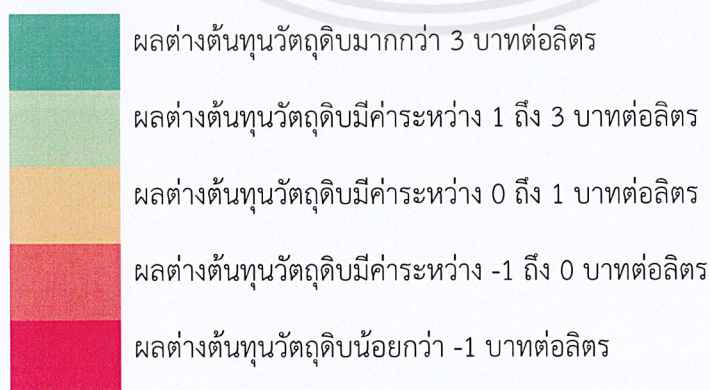
เมื่อนำน้ำกากาสุ่มชั่วโมงสุดท้าย มาตรวจวิเคราะห์ค่า COD TSS และ TDS พบว่าการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่ำกว่าค่าที่โรงงานควบคุม รวมถึงการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 18 %Brix วิเคราะห์ได้ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่ำเช่นเดียวกัน แต่ใกล้เคียงกับค่าที่โรงงานควบคุม ทั้งนี้ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดจากการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 30 และ 50 โดยปริมาตร มีค่าค่อนข้างต่ำ อาจส่งผลต่อปริมาณ Wet Cake ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากการหมักที่มีราคาได้

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ Spent Wash

Ratio		COD	TSS	TDS
90:10	18 %Brix	38,647	14,488	9,675
	30 %Brix	39,900	16,120	6,849
70:30	18 %Brix	29,700	8,308	8,128
	30 %Brix	43,220	8,244	10,812
50:50	18 %Brix	24,000	8,319	6,000
	30 %Brix	29,400	7,432	13,030

4.4 การวิเคราะห์ความคุ้มค่าจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบ

เมื่อพิจารณาผลต่างของต้นทุนวัตถุดิบโดยคิดจากสมการที่ 3-18 แสดงดังตารางที่ 4.4 ถึง 4.9 แบ่งผลต่างเป็น 5 ช่วงสี ได้แก่ สีเขียวเข้ม สีเขียวอ่อน และสีเหลือง แสดงช่วงราคาที่ทำให้การหมักเอทานอลจากน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบสามารถประหยัดต้นทุนวัตถุดิบมากกว่าการหมักน้ำแป้งสีส้ม และสีแดง แสดงช่วงราคาที่ทำให้การหมักเอทานอลจากน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบทำให้ต้นทุนวัตถุดิบสูงกว่าการหมักน้ำแป้ง ในปัจจุบันเมื่อราคามันสำปะหลังเส้นมีค่า 6.5 บาทต่อกิโลกรัม และน้ำตาลดิบราคา 8.5 บาทต่อกิโลกรัม พบว่ามีเพียงการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 18 %Brix และการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 30 %Brix เท่านั้นที่การหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบมีต้นทุนวัตถุดิบถูกกว่าการหมักเฉพาะมันสำปะหลังเส้น



ตารางที่ 4.4 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ 18 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว

อัตราส่วน		ราคาน้ำตาลดิบ (บาท)										
90:10		7.5	8.5	9.5	10.5	11.5	12.5	13.5	14.5	15.5	16.5	17.5
ราคาน้ำมันล้าปะหลังเส้น (บาท)	4.5	-0.50	-0.69	-0.89	-1.08	-1.27	-1.46	-1.66	-1.85	-2.04	-2.24	-2.43
	5	-0.40	-0.59	-0.78	-0.97	-1.17	-1.36	-1.55	-1.75	-1.94	-2.13	-2.32
	5.5	-0.29	-0.49	-0.68	-0.87	-1.06	-1.26	-1.45	-1.64	-1.83	-2.03	-2.22
	6	-0.19	-0.38	-0.57	-0.77	-0.96	-1.15	-1.34	-1.54	-1.73	-1.92	-2.11
	6.5	-0.08	-0.28	-0.47	-0.66	-0.85	-1.05	-1.24	-1.43	-1.62	-1.82	-2.01
	7	0.02	-0.17	-0.36	-0.56	-0.75	-0.94	-1.13	-1.33	-1.52	-1.71	-1.90
	7.5	0.13	-0.07	-0.26	-0.45	-0.64	-0.84	-1.03	-1.22	-1.41	-1.61	-1.80
	8	0.23	0.04	-0.15	-0.35	-0.54	-0.73	-0.92	-1.12	-1.31	-1.50	-1.69

ตารางที่ 4.5 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ 18 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว

อัตราส่วน		ราคาน้ำตาลดิบ (บาท)										
70:30		7.5	8.5	9.5	10.5	11.5	12.5	13.5	14.5	15.5	16.5	17.5
ราคาน้ำมันล้าปะหลังเส้น (บาท)	4.5	-1.14	-1.72	-2.30	-2.88	-3.46	-4.04	-4.62	-5.19	-5.77	-6.35	-6.93
	5	-0.78	-1.36	-1.94	-2.52	-3.10	-3.68	-4.26	-4.84	-5.42	-6.00	-6.58
	5.5	-0.43	-1.01	-1.59	-2.17	-2.74	-3.32	-3.90	-4.48	-5.06	-5.64	-6.22
	6	-0.07	-0.65	-1.23	-1.81	-2.39	-2.97	-3.55	-4.13	-4.71	-5.28	-5.86
	6.5	0.28	-0.29	-0.87	-1.45	-2.03	-2.61	-3.19	-3.77	-4.35	-4.93	-5.51
	7	0.64	0.06	-0.52	-1.10	-1.68	-2.26	-2.83	-3.41	-3.99	-4.57	-5.15
	7.5	1.00	0.42	-0.16	-0.74	-1.32	-1.90	-2.48	-3.06	-3.64	-4.22	-4.80
	8	1.35	0.77	0.19	-0.39	-0.96	-1.54	-2.12	-2.70	-3.28	-3.86	-4.44

ตารางที่ 4.6 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ 18 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว

อัตราส่วน		ราคาน้ำตาลดิบ (บาท)										
50:50		7.5	8.5	9.5	10.5	11.5	12.5	13.5	14.5	15.5	16.5	17.5
ราคารับซื้อแป้งหลักเส้น (บาท)	4.5	-0.29	-1.20	-2.10	-3.01	-3.91	-4.82	-5.72	-6.62	-7.53	-8.43	-9.34
	5	0.43	-0.48	-1.38	-2.29	-3.19	-4.09	-5.00	-5.90	-6.81	-7.71	-8.62
	5.5	1.15	0.25	-0.66	-1.56	-2.47	-3.37	-4.28	-5.18	-6.09	-6.99	-7.90
	6	1.87	0.97	0.06	-0.84	-1.75	-2.65	-3.56	-4.46	-5.37	-6.27	-7.17
	6.5	2.59	1.69	0.78	-0.12	-1.03	-1.93	-2.83	-3.74	-4.64	-5.55	-6.45
	7	3.31	2.41	1.50	0.60	-0.30	-1.21	-2.11	-3.02	-3.92	-4.83	-5.73
	7.5	4.04	3.13	2.23	1.32	0.42	-0.49	-1.39	-2.30	-3.20	-4.11	-5.01
	8	4.76	3.85	2.95	2.04	1.14	0.23	-0.67	-1.58	-2.48	-3.38	-4.29

ตารางที่ 4.7 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง 30 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว

อัตราส่วน		ราคาน้ำตาลดิบ (บาท)										
90:10		7.5	8.5	9.5	10.5	11.5	12.5	13.5	14.5	15.5	16.5	17.5
ราคามันลำปะเท่ห์เส้น (บาท)	4.5	0.71	0.54	0.37	0.20	0.03	-0.14	-0.31	-0.49	-0.66	-0.83	-1.00
	5	0.93	0.76	0.59	0.42	0.25	0.08	-0.09	-0.26	-0.44	-0.61	-0.78
	5.5	1.15	0.98	0.81	0.64	0.47	0.30	0.13	-0.04	-0.21	-0.38	-0.56
	6	1.38	1.21	1.03	0.86	0.69	0.52	0.35	0.18	0.01	-0.16	-0.33
	6.5	1.60	1.43	1.26	1.08	0.91	0.74	0.57	0.40	0.23	0.06	-0.11
	7	1.82	1.65	1.48	1.31	1.14	0.96	0.79	0.62	0.45	0.28	0.11
	7.5	2.04	1.87	1.70	1.53	1.36	1.19	1.01	0.84	0.67	0.50	0.33
	8	2.26	2.09	1.92	1.75	1.58	1.41	1.24	1.07	0.89	0.72	0.55

ตารางที่ 4.8 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง 30 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 30 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว

อัตราส่วน		ราคาน้ำตาลดิบ (บาท)										
70:30		7.5	8.5	9.5	10.5	11.5	12.5	13.5	14.5	15.5	16.5	17.5
ราคารับซื้อวัตถุดิบ (บาท)	4.5	-1.37	-1.96	-2.55	-3.14	-3.72	-4.31	-4.90	-5.49	-6.08	-6.67	-7.26
	5	-1.03	-1.62	-2.21	-2.80	-3.39	-3.98	-4.56	-5.15	-5.74	-6.33	-6.92
	5.5	-0.69	-1.28	-1.87	-2.46	-3.05	-3.64	-4.23	-4.81	-5.40	-5.99	-6.58
	6	-0.35	-0.94	-1.53	-2.12	-2.71	-3.30	-3.89	-4.48	-5.06	-5.65	-6.24
	6.5	-0.01	-0.60	-1.19	-1.78	-2.37	-2.96	-3.55	-4.14	-4.73	-5.31	-5.90
	7	0.33	-0.26	-0.85	-1.44	-2.03	-2.62	-3.21	-3.80	-4.39	-4.98	-5.57
	7.5	0.67	0.08	-0.51	-1.10	-1.69	-2.28	-2.87	-3.46	-4.05	-4.64	-5.23
	8	1.01	0.42	-0.17	-0.76	-1.35	-1.94	-2.53	-3.12	-3.71	-4.30	-4.89

ตารางที่ 4.9 ผลต่างต้นทุนวัตถุดิบจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง 30 %Brix ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 50 โดยปริมาตร เทียบกับการหมักน้ำแป้งเป็นวัตถุดิบชนิดเดียว

อัตราส่วน		ราคาน้ำตาลดิบ (บาท)										
50:50		7.5	8.5	9.5	10.5	11.5	12.5	13.5	14.5	15.5	16.5	17.5
ราคารับซื้อวัตถุดิบ (บาท)	4.5	-2.15	-3.15	-4.16	-5.17	-6.17	-7.18	-8.19	-9.2	-10.2	-11.2	-12.2
	5	-1.54	-2.55	-3.56	-4.57	-5.57	-6.58	-7.59	-8.59	-9.6	-10.6	-11.6
	5.5	-0.94	-1.95	-2.96	-3.96	-4.97	-5.98	-6.99	-7.99	-9	-10	-11
	6	-0.34	-1.35	-2.36	-3.36	-4.37	-5.38	-6.39	-7.39	-8.4	-9.41	-10.4
	6.5	0.258	-0.75	-1.76	-2.76	-3.77	-4.78	-5.78	-6.79	-7.8	-8.81	-9.81
	7	0.859	-0.15	-1.15	-2.16	-3.17	-4.18	-5.18	-6.19	-7.2	-8.21	-9.21
	7.5	1.46	0.453	-0.55	-1.56	-2.57	-3.58	-4.58	-5.59	-6.6	-7.6	-8.61
8	2.061	1.054	0.047	-0.96	-1.97	-2.97	-3.98	-4.99	-6	-7	-8.01	

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบ โดยศึกษาเปรียบเทียบการหมักโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลดิบต่างกัน ที่ 18 %Brix และ 30 %Brix และการหมักที่อัตราส่วนระหว่างน้ำแป้งต่อสารละลายน้ำตาลดิบที่แตกต่างกัน 3 อัตราส่วนคือ น้ำแป้งร้อยละ 90 70 และ 50 โดยปริมาตร ผสมด้วยยีสต์ *Saccharomyces Cerevisiae* เอนไซม์ และอาหารเลี้ยงยีสต์ พบว่าเมื่อใช้สารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นต่ำ (18 %Brix) ที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 มีประสิทธิภาพการหมักสูงที่สุด มีค่าร้อยละ 82.87 เนื่องจากน้ำตาลมีการลดลงอย่างช้า ๆ ทำให้ยีสต์เจริญเติบโตโดยมีระยะแบ่งตัวแบบทวีคูณนานขึ้น และอัตราส่วนอื่นได้ประสิทธิภาพการหมักสูงกว่าการหมักเฉพาะน้ำแป้งแบบเดิมไม่ใช้ผลจากการหมักแบบกึ่งกะ แต่เนื่องจากเมื่อหมักน้ำแป้งที่มีความหนืดสูง ร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบที่มีความหนืดต่ำ จะทำให้สารละลายที่หมักมีความหนืดลดลง เกิดการแยกผสมกันได้ดีขึ้น เอนไซม์และยีสต์จึงกระจายตัวในน้ำหมักได้ดี ได้เอทานอลมากขึ้น

เมื่อใช้สารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้นสูง (30 %Brix) พบว่าการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบร้อยละ 10 มีประสิทธิภาพการหมักสูงที่สุด มีค่าร้อยละ 82.87 พบปริมาณเอทานอลที่สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงถึงการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลของยีสต์ที่อัตราส่วนนี้เกิดขึ้นได้เร็วกว่าอัตราส่วนอื่น มีค่าการเจริญเติบโตจำเพาะหรือ Specific Growth Rate สูง เป็นผลจากการควบคุมปริมาณน้ำตาลด้วยการหมักแบบกึ่งกะ ในขณะที่อัตราส่วนอื่นมีปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกัน แต่ใช้เวลามากกว่าเนื่องจากยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ช้ากว่า อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของน้ำตาลที่มากเกินไป ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์

เมื่อนำน้ำกาสาข้าวโม่งสุต้าย มาตรวจวิเคราะห์ พบว่าการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่ำกว่าค่าที่โรงงานควบคุม รวมถึงการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 ร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 18 %Brix วิเคราะห์ได้ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่ำเช่นเดียวกัน แต่ใกล้เคียงกับค่าที่โรงงานควบคุม ทั้งนี้ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดจากการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 70 และ 50 โดยปริมาตร มีค่าค่อนข้างต่ำ ส่งผลให้ปริมาณผลิตภัณฑ์พลอยได้เช่นก๊าซชีวภาพและกากเปียกลดลง

เมื่อพิจารณาความคุ้มค่าจากการหมักน้ำแป้งผสมสารละลายน้ำตาลดิบ จากผลต่างของต้นทุนวัตถุดิบโดยคิดจากสมการที่ 3-18 เมื่อราคามันสำปะหลังเส้นมีค่า 6.5 บาทต่อกิโลกรัม และน้ำตาลดิบราคา 8 บาทต่อกิโลกรัม (ราคาในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562) พบว่ามีเพียงการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 50 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 18 %Brix และการหมักที่อัตราส่วนน้ำแป้งร้อยละ 90 ต่อสารละลายน้ำตาลดิบเข้มข้น 30 %Brix เท่านั้นที่การหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบมีต้นทุนวัตถุดิบถูกกว่าการหมักเฉพาะมันสำปะหลังเส้น

ข้อดีของการหมักน้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบ ได้แก่ การลดต้นทุนการผลิตเอทานอล เนื่องจากราคามันสำปะหลังเส้นมีแนวโน้มสูงขึ้น ทำให้ต้นทุนการผลิตเอทานอลสูงขึ้น การเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก เป็นการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่อย่างคุ้มค่า และการใช้สินค้าจากการเกษตรจากพืชชนิดอื่นเป็นการช่วยเหลือเกษตรกรได้มากขึ้น สำหรับข้อเสีย ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ลดลง (COD) ส่งผลให้ปริมาณก๊าซชีวภาพลดลง และปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS) ส่งผลให้ปริมาณกากเปียกลดลง ซึ่งทำให้รายได้จากการขายผลิตภัณฑ์พลอยได้ลดลง การหมักแบบกึ่งกะทำให้ใช้เวลาในการหมักนานขึ้น ต้องใช้คนงานในการเติมสารละลายน้ำตาลดิบ และเนื่องจากต้นทุนวัตถุดิบทั้งสองชนิดมีความผันผวน ทำให้อาจมีบางช่วงที่สูตรการผลิตนี้ไม่ได้กำไร

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดลองซ้ำในขนาดใหญ่ขึ้นและวิเคราะห์ผลการทดลองให้ละเอียดขึ้น เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ใกล้เคียงกระบวนการหมักจริงในโรงงาน
2. ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณสารตั้งต้นที่เหลือในหัวโม่งสุดท้าย ทั้งน้ำแป้งและสารละลายน้ำตาลดิบ เพื่อวิเคราะห์ว่าสารตั้งต้นที่ใช้หมดหรือไม่ เนื่องจากในการทดลองพบว่ามีปริมาณกลูโคสเหลือต่ำกว่าร้อยละ 1.00 โดยมวลต่อปริมาตร แต่เมื่อคิดประสิทธิภาพการหมักพบว่าประสิทธิภาพการหมักต่ำกว่าร้อยละ 100 นั่นคือกลูโคสไม่ถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลทั้งหมด
3. ควรมีการฆ่าเชื้ออุปกรณ์การทดลองให้มากขึ้น เพื่อลดผลกระทบการปนเปื้อนสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอื่นที่อาจใช้กลูโคส ทำให้ยีสต์ใช้กลูโคสได้ลดลง
4. น้ำแป้งมีความหนืดสูง ทำให้เมื่อหมักในตู้เขย่าอาจทำให้เอนไซม์และยีสต์ผสมกับน้ำแป้งได้ไม่ดี อาจใช้วิธีอื่นที่ให้น้ำแป้งผสมกันได้ดีขึ้น

5. สารตั้งต้นในน้ำแข็งที่ต่างกัน เนื่องจากในกระบวนการผลิตจริงของบริษัทมีการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบอาจทำให้ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกัน

6. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยการไทเทรต และวิเคราะห์ปริมาณเชื้อยีสต์โดยการนับได้กล้องจุลทรรศน์ ทำให้เกิดความผิดพลาดจากผู้ทำการทดลองได้ง่าย



เอกสารอ้างอิง

1. Bum-Kyu Lee และ Joong Kyun Kim. (2544). Production of *Candida utilis* biomass on molasses in different culture types. *Aquacultural Engineering*, 111-124.
2. D.R. Kelsall et al. (2552). *The alcohol textbook fifth edition*. Nottingham: Nottingham University Press.
3. Fernanda Badotti et al. (2551). Switching the mode of sucrose utilization by *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*, 1-11.
4. Ghasem D. Najafpour. (2550). *Biochemical Engineering and Biotechnology*. Oxford: Elsevier.
4. GM Walker et al. (2560). *The alcohol textbook sixth edition*. Nottingham: Nottingham University Press.
5. Haruyo Hatanaka et al. (2560). Inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* growth by simultaneous uptake of glucose and maltose. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 1-7.
6. John M. Storey et al. (2553). Ethanol Blend Effects On Direct Injection Spark-Ignition Gasoline Vehicle Particulate Matter Emissions. *SAE International*, 650-659.
7. Vinod T. SinHa. (2541). ESTIMATING CAPITAL COSTS FROM AN EQUIPMENT LIST: A CASE STUDY. *Engrnccrrng Costs and Production Economics*, 259-266.
8. Weinheim. (2537). *Integrated design of a fermentation plant: The production of Baker's yeast*. New York: Wiley.
9. Woranee Mungkalasiri and Boonchuay Pan-in. (2561). Optimization of Bioethanol Production from Raw Sugar in Thailand. *Science & Technology Asia*, 57-66.
10. Yan Lin et al. (2555). Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *biomass and bioenergy*, 395-401.
11. เชษฐา เชื้อสุวรรณ. (2561). แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรม ปี 2561-63 อุตสาหกรรมมันสำปะหลัง. กรุงเทพมหานคร: กรุงเทพฯ.

12. กนกวรรณ แก้วเกมเสื่อ. (2547). การศึกษาแนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลในโรงงาน บริษัท แสงโสม จำกัด จ.กาญจนบุรี. นครปฐม: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.
13. กรมพลังงานทดแทน. (2562). สถานการณ์พลังงานของประเทศไทย ไตรมาสที่ 1/2562. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงพลังงาน.
14. กรมพัฒนาพลังงานทดแทน และอนุรักษ์พลังงาน. (2561). รายงานพลังงานทดแทนของประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงพลังงาน.
15. ปิยพร ช่างสาร. (2558). ความสัมพันธ์ของปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังไปสาธารณรัฐประชาชนจีน. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
16. พงษ์เทพ อริยเจริญวงศ์ และคณะ. (2553). กลยุทธ์การผลิตเอทานอลความเข้มข้นสูงของยีสต์โดยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ. วารสารศูนย์บริการวิชาการ, 31-36.
17. รศ. ดร. นิพนธ์ พัวพงศกร และคณะ. (2550). อุตสาหกรรมมันสำปะหลัง : แนวโน้มตลาดและการแทรกแซงของรัฐ. กรุงเทพมหานคร: สถาบันยุทธศาสตร์การค้า.
18. รัฐพงศ์ ปกแก้ว. (2545). การเปรียบเทียบกระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF เพื่อการผลิตเอทานอลเชื้อเพลิงจากแป้งมันสำปะหลังโดยเชื้อ *Aspergillus niger* และ *Saccharomyces cerevisiae*. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
19. ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2560). โครงการศึกษาปริมาณและการใช้งานแอลกอฮอล์ในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: องค์การสุรา กรมสรรพสามิต.
20. สุจิตรา รวดหมวน และคณะ. (2556). การผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำโดยเชื้อ *Candida shehatae* TISTR 5843 ด้วยกระบวนการหมักแบบกะและกึ่งกะ. วารสารวิชาการ Veridian E-Journal, 935-948.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นางสาวมาริษา ปาละหน่อ
วัน เดือน ปีเกิด 16 ตุลาคม 2540
ที่อยู่ 25 หมู่ 12 ตำบลบ้านกลาง อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน 51000
Email mpalanor@gmail.com
โทรศัพท์ 090-131-5255

ประวัติการศึกษา

- ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนจักรคำคณาทร จังหวัดลำพูน พ.ศ. 2559
- ระดับปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2563

ประสบการณ์การศึกษงานและผลงานวิจัย

- ฝึกงานที่บริษัท ไทย เอ็มเอ็มเอ จำกัด แผนกงานผลิต เลขที่ 271 ถนนสุขุมวิท ตำบลมาบตาพุด อำเภอเมือง จังหวัดระยอง รหัสไปรษณีย์ 21150
ระหว่างวันที่ 5 เดือนมิถุนายน ถึงวันที่ 2 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2562
- สหกิจศึกษาที่บริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด แผนกงานวางแผนและเพิ่มประสิทธิภาพ กระบวนการ เลขที่ 49 หมู่ 6 บ้านโค้งรถไฟ ถนนสุระนารายณ์ ตำบลนิคมลำนารายณ์ อำเภอชัยบาดาล จังหวัดลพบุรี 15130 ในหัวข้อ การศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยวัตถุดิบ น้ำแป้งร่วมกับสารละลายน้ำตาลดิบด้วยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ
ระหว่างวันที่ 5 เดือนสิงหาคม ถึงวันที่ 22 เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562