บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอทานอล (Ethanol)

เอทานอล หรือที่รู้จักกันในชื่อ เอทิล แอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol), Grain Alcohol, Hydroxy Ethane และ EtOH ถูกใช้โดยมนุษย์มาตั้งแต่ก่อนยุคประวัติศาสตร์ ในรูปแบบของเครื่องดื่มที่ทำให้มึนเมา Antonie Lavoisier ได้อธิบายว่า เอทานอลเป็นสารประกอบของ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ต่อมาในปีค.ศ. 1808 Nicolas Théodore de Saussure ได้อธิบายเกี่ยวกับสูตรทางเคมีของเอทานอล และในปีค.ศ. 1858 Archibald Scott Couper ได้ตีพิมพ์ สูตรโครงสร้างของเอทานอล เอทานอลได้ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปีค.ศ. 1826 จากความพยายามของ Henry Hennel จากประเทศอังกฤษ และ S.G. Sérullas จากประเทศฝรั่งเศส ต่อมาในปีค.ศ. 1828 Michael Faraday ได้ทำการเตรียมเอทานอลจากปฏิกิริยา Acid-Catalysed Hydration ของ Ethylene (http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol)

คุณสมบัติของเอทานอล

เอทิลแอลกอฮอล์ หรือเอทานอล เป็นของเหลวใส มีค่าความร้อนสุทธิ 6,400 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม (ประมาณ 2 ใน 3 ของ ค่าความร้อนของน้ำมันเบนซิน) หรือให้ค่าความร้อนในการเผาไหม้ประมาณ 83,674 บี.ที.ยู. ต่อแกลลอน (5.55 ลิตร) (กมลลักษณ์ โตสกุล, 2524) มีจุดเดือดที่ 78.4 องศาเซลเซียส (351.6 องศาเคลวิน) มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ −114.3 องศาเซลเซียส (158.8 องศาเคลวิน) มีสูตรโมเลกุล C_2H_6O มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 46.06844 (g/mol) มีค่าความเป็นกรด (p*Ka*) เท่ากับ 15.9 มีค่าความหนืด (Viscosity) เท่ากับ 1.200 cP ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีค่า Dipole moment เท่ากับ 1.6 D (http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol) มีค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific Gravity) 0.7851 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ระเหยได้ ติดไฟง่าย (Roehr, 2001)

คุณสมบัติทางกายภาพ

หมู่ OH ของเอทานอลเป็นส่วนที่ทำให้เกิดขั้ว ซึ่งจะเป็นตัวให้และรับพันธะไฮโดรเจน พันธะไฮโดรเจนจะทำให้เอทานอลมีจุดเดือดที่สูง และช่วยในการละลายในน้ำ เอทานอลจะละลายน้ำได้ดีเมื่อสารละลายมีเอทานอลผสมอยู่ในปริมาณที่น้อย แต่จะเริ่มไม่ละลายเมื่อ มีเอทานอลผสมอยู่มากกว่า 96 % (v/v) การเติมเอทานอลลงไปเพียงเล็กน้อยในน้ำ จะทำให้ลดแรงตึงผิวของน้ำ ซึ่งจากหลักการนี้จะทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า น้ำตาของไวน์ (Tear of Wine) โดยเมื่อเราเหวี่ยง

แก้วไวน์อย่างรวดเร็ว เอทานอลจะระเหยออกไปอย่างรวดเร็วจากฟิล์มบาง ๆ ที่เกิดขึ้นบนผนังแก้วไวน์ ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลง ทำให้แรงตึงผิวของไวน์เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ฟิล์มบาง ๆ เกิดการรวมตัวเป็นหยด และไหลลงสู่ก้นแก้วเป็นทางยาว (http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol)

คุณสมบัติทางเคมี

เอทานอลสามารถทำปฏิกิริยาได้ทั้งสารประกอบอินทรีย์ และสารประกอบอนินทรีย์ แต่ในที่นี้จะกล่าวถึงปฏิกิริยาสำคัญ ๆ ของเอทานอล

1. ปฏิกิริยากรด-เบส (Acid-Base Chemistry) โดยหมู่ OH ของเอทานอลจะมีคุณสมบติเป็นกรดอ่อน ๆ ซึ่งจะมีความเป็นกรดมากกว่าน้ำ ซึ่งเมื่อนำเอทานอลทำปฏิกิริยากับเบส เช่น โซเดียม (Na) จะได้อีท๊อกไซด์ ไอออน (CH_3CH_2O-) และก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ดังสมการ

$$CH_3CH_2OH + Na \longrightarrow CH_3CH_2ONa + 1/2\ H_2$$

2. ปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ (Nucleophilic Substitution) ในสารละลายที่เป็นกรดของแอลกอฮอล์จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจน แฮไลด์ (Hydrogen Halides) และได้สารละลาย เอทิล แฮไลด์ (Ethyl Halides) เช่น เอทิล คลอไรด์ (Ethyl Chlorides) และเอทิลโบรไมด์ (Ethyl Bromide) ดังสมการ

$$CH_3CH_2OH + HCL \longrightarrow CH_3CH_2CL + H_2O$$
$$CH_3CH_2OH + HBr \longrightarrow CH_3CH_2Br + H_2O$$

3. ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น (Esterification) ในสภาวะที่เป็นกรดเอทานอลจะทำปฏิกิริยากับกรดคาบอกซิลิก (Carboxylic Acid) ได้เอสเทอร์ (Ester) และ น้ำ ดังสมการ

$$RCOOH + HOCH_2CH_3 \longrightarrow RCOOCH_2CH_3 + H_2O$$

4. ปฏิกิริยาดีไฮเดรชั่น (Dehydration) กรดแก่ เช่น กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) สามารถจะกำจัดเอทานอลได้ด้วยการดีไฮเดรชั่น และจะได้ Diethyl Ether หรือ Ethylene ดังสมการ

$$2\ CH_3CH_2OH \xrightarrow{H_2SO_4} CH_3CH_2OCH_2CH_3 + H_2O$$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

$$CH_3CH_2OH \xrightarrow{H_2SO_4} H_2C{=}CH_2 + H_2O$$

5. ปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (Oxidation) เอทานอลจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็น Acetaldehyde และจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นกรดอะซิติก (Acetic Acid) ได้ในร่างกายมนุษย์ โดยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจะเกิดขึ้นโดยเอนไซม์ (http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol)

ประโยชน์ของเอทานอล

ประโยชน์ที่ได้จากเอทานอลมีหลายอย่าง ตัวอย่าง เช่น เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ตั้งแต่ 95 % (v/v) ขึ้นไป สามารถใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงได้ใน 3 รูปแบบ คือ

แบบที่ 1 เป็นเอทานอล 95 % (v/v) (Hydrous Ethanol) ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซลใช้ได้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูงได้

แบบที่ 2 ใช้เอทานอลบริสุทธิ์ 99.5 % (v/v) (Anhydrous Ethanol) ผสมในน้ำมันเบนซิน เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ (Gasohol) โดยทั่วไปจะใช้ผสมในน้ำมันเบนซิน ในอัตราส่วนร้อยละ 10 ในลักษณะของสารเติมแต่งเพื่อปรับปรุงค่าออกเทนของน้ำมันเบนซิน ซึ่งสามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์โดยทั่วไป ไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์แต่อย่างใด

แบบที่ 3 ใช้เป็นสารเคมีเพิ่มออกเทน (Octane) แก่เครื่องยนต์ โดยการแปรรูปเอทานอลมาเป็นสาร ETBE (Ethyl Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่งสาร MTBE เป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้เนื่องจากก่อให้เกิดมลภาวะในอากาศที่สูง (พิชิต เดชนีรนาท, 2546)

เอทานอลถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในอุตสหากรรม เช่น อนุพันธ์ทางเคมีของเอทานอลสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม เช่น เอทิล เอสเทอร์ (Ethyl Ester) ซึ่งได้จากกระบวนการ เอสเทอริฟิเคชั่น (Esterification) เช่น การเกิดเอสเทอริฟิเคชั่นของ เอทิลอะคริเลท (Ethtyl Acrylate) และการเกิดเอสเทอริฟิเคชั่นของ เอทิลอะซิเตท (Ethyl Acetate) ซึ่ง เอทิลอะคริเลทเป็นโมโนเมอร์ของโพลิเมอร์ของอะคริเลท (Acrylate Polymer) เพื่อใช้เป็นสารเคลือบ (Coat) และสารยึดเกาะ (Adhesive) ส่วนเอทิลอะซิเตท ใช้เป็นตัวทำละลาย (Solvent) ของสี และสารเคลือบ ใช้ในอุตสาหกรรมยา และถูกนิยมใช้เป็นส่วนผสมของน้ำยาทำความสะอาดภายในบ้าน และใช้เป็นตัวทำละลายในน้ำยาล้างเล็บ นอกจากนี้ ยังถูกใช้เป็นสารแต่งกลิ่น เอทิลเอมีน (Ethylamines) ซึ่งได้จากการให้ความร้อนสูงกับเอทานอล และแอมโมเนียม โดยมี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ซิลิกา หรือ อะลูมิเนียมเป็นตัวเร่ง จนได้ เอทิลเอมีนออกมา ซึ่งจะถูกใช้ในการสังเคราะห์ยา สารทางอุตสาหกรรมเกษตร และสาร Surfactant

เอทานอลยังถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดน้ำส้ม และถูกใช้ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ซึ่งแบ่งได้ 2 ชนิด คือ แอลกอฮอล์หมัก ได้แก่ เบียร์ ไวน์ และแอลกอฮอล์กลั่น ได้แก่ วิสกี้ บรั่นดี รัม วอดก้า และ สปิริต เป็นต้น (http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol)

การผลิตเอทานอล

วิธีการผลิตเอทานอนอล

การผลิตเอทานอลแบ่งออกเป็น 2 วิธีดังนี้

1. การผลิตเอทานอลทางเคมี โดยใช้วัตถุดับที่เป็นผลผลิตของน้ำมันปิโตรเลียม นั่นคือ เอธิลีน (Ethylene) โดยอาศัยการดูดซับ (Adsorption) Ethylene ด้วยกรดซัลฟุริก (H_2SO_4) เข้มข้น เพื่อให้ได้ Ethyl Sulfuric Acid (Intermediate) ต่อจากนั้นจะผ่านกระบวนการแคตาไลติก ไฮเดรชั่น (Catalytic Hydration) รวมถึงกระบวนการเอสเทอริฟิเคชั่น และไฮโดรไลซีส (Esterification and Hydrolysis) ได้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ ปฏิกิริยาเขียนได้ดังนี้

$$3C_2H_4 + 2H_2SO_4 \longrightarrow CH_3CH_2OSO_3H + (CH_3CH_2)_2SO_4$$

Ethylene

$$CH_3CH_2OSO_3H + H_2O \xrightarrow{H_3PO_4} CH_3CH_2OH + H_2SO_4$$

Ethyl Sulfuric Acid — Ethanol

2. การผลิตเอทานอลทางชีวภาพ โดยใช้วัสดุทางการเกษตร เช่น มันสำปะหลัง อ้อย ข้าวโพด ฯลฯ มาผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ด้วยยีสต์ จนได้เอทานอลออกมา ปฏิกิริยาแสดงได้ดังนี้

$$n(-C_6H_{10}O_5-) + nH_2O \longrightarrow nC_6H_{12}O_6$$

Starch/Celluose — Glucose

$$2C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 4C_2H_5OH + 4\,CO_2$$

Ethanol

(วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอล

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอล ได้แก่ แบคทีเรีย และยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอลได้แก่ *Saccharomyces* sp., *S. cerevisiae*, *S. uvarum* spp. *inulyticus*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida lusitaniae*, *C. psuedotropicalis*, *C. trppicalis*, *Hansenula polymorha*, *Kluyveromyces fragilis* และ *K. marxianus* เป็นต้น (Panchal, 1998)

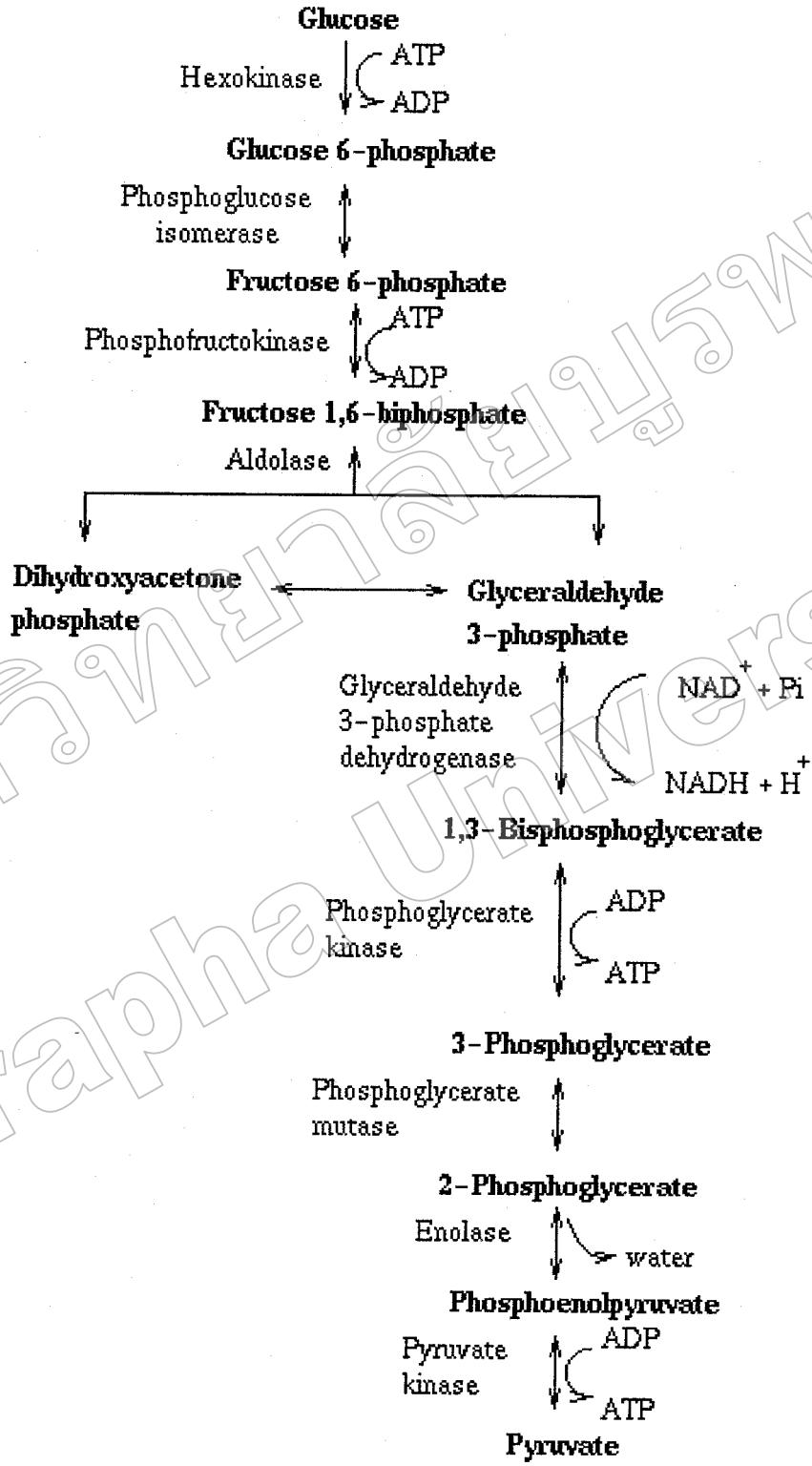
แบคทีเรียที่ใช้สามารถผลิตเอทานอล ได้แก่ *Clostridium sporogenes, C. sphenoides, Zymomonas mobilis, Z. mobilis* spp. *pomaceae, Spirochaeta stenosterpta, S. litoralis, Erwinia amylovora, Leuconostoc mesenteroides, Streptococcus lactis, Sarcina ventriculi, Thermoanaerobacter ethanolicus, Clostridum thermohydrosulfuricum, Bacillus stearothermophilus, Thermoanaerobium brockii, Clostridium thermosaccharolyticum* และ *C. therocellum* เป็นต้น (Roehr, 2001)

จุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจอย่างมากทั้งการทดลองในห้องปฏิบัติการ และในระดับโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อใช้ผลิตเอทานอลได้แก่ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* นอกจากนี้ *S. uvarum* ก็เป็นยีสต์ที่ใช้มากเช่นกัน (กำเนิด สุวัณวงษ์, 2534)

จุลชีววิทยาและชีวเคมีของการหมักเอทานอล

กระบวนการหมักเอทานอลเริ่มจากการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็น Glucose-6-phosphate แล้วจึงเข้าสู่วิถีไกลโคลิซิส (Glycolysis Pathway) ในวิถีไกลโคลิซิส กลูโคส (คาร์บอน 6 อะตอม) 1 โมเลกุล จะถูกเปลี่ยนไปเป็น ฟรุกโตส (คาร์บอน 6 อะตอม) 1 โมเลกุล คือ Fructose 1,6-Bisphosphate จากนั้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวต (คาร์บอน 3 อะตอม) 2 โมเลกุล วิถีไกลโคลิซิส หรือเรียกว่า Embden-Meyerhof-Pathway จะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาหลายขั้นตอนในการออกซิไดซ์กลูโคส และอาศัยเอนไซม์หลายชนิดในการทำปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพที่ 2-1

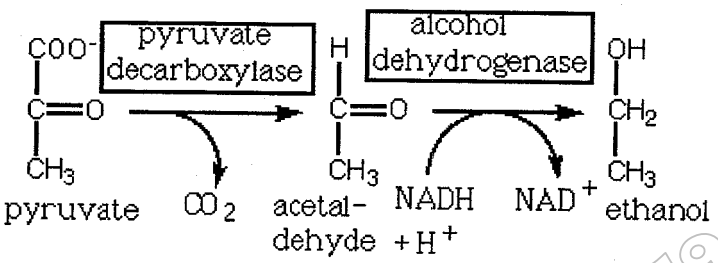
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-1 กระบวนการ Embden-Meyerhof-Pathway หรือ วิถี Glycolysis

(http://www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/beer/biochem/biochem.htm)

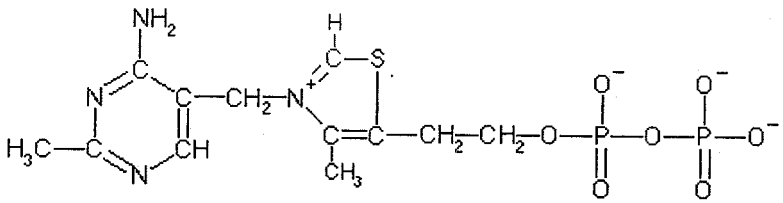
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-2 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ (Alcohol Fermentation)
(http://dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/www.fordham.edu/Biochem_3521/lect15/lect15.html)

ภาพที่ 2-2 แสดงกระบวนการการเปลี่ยนไพรูเวตไปเป็นเอทานอล โดยการหมักแอลกอฮอล์ (Alcohol Fermentation) จะเกิดขึ้นจาก 2 ปฏิกิริยาด้วยกัน ปฏิกิริยาแรก จะเป็นการดึงเอาหมู่ คาร์บอนไดออกไซด์ออกมาจากไพรูเวต (Decarboxylase) โดยอาศัยเอนไซม์ ไพรูเวตดีคาร์บอกซิลเลส (Pyruvate Decarboxylase) เป็นตัวเร่ง เอนไซม์นี้ต้องการ แมกนีเซียม (Mg^{2+}) และโคแฟกเตอร์ (Cofactor) ไทอะมีนไพโรฟอสเฟต (Thiamine Pyrophosphate) หรือ วิตามิน B1 เป็นตัวช่วยโคเอนไซม์ ไทอะมีนไพโรฟอสเฟต จะมีคาร์บอนที่อยู่ระหว่าง ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ ในวงแหวนไทเอไซด์ (Thiazide Ring) ดังแสดงในภาพที่ 2-3 ที่มีความว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา คาร์บอนในตำแหน่งนี้จะเกิดเป็น Carbain Ion ได้ง่าย และ Carbain Ion นี้จะไปจับกับหมู่ของคาร์บอนิล (Carbonyl) ของไพรูเวต แล้วจะปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา จากนั้นจะเกิดการเชื่อมต่อกันของคาร์บอนของไพรูเวต และคาร์บอนของโคเอนไซม์ไทอะมีนไพโรฟอสเฟต แล้วจะมีการให้อิเลคตรอนแก่โคเอนไซม์ไทอะมีนไพโรฟอสเฟต ทำให้เกิดการแยกออกจากกันของคาร์บอนทั้งสอง และเกิดเป็นอะซีตัลดีไฮด์ออกมา ดังแสดงในภาพที่ 2-4 อะซีตัลดีไฮด์จะถูกรีดิวซ์ไปเป็นเอทานอลโดยในขณะเดียวกันกับการที่ NADH ถูกรีดิวซ์ไปเป็น NAD^+ โดยมีเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Alcohol Dehydrogenase) เป็นตัวเร่งโดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส จะมีลักษณะเป็น Allosteric Enzyme มีโครงสร้างแบบ Tetramer (Campbell, 1995)

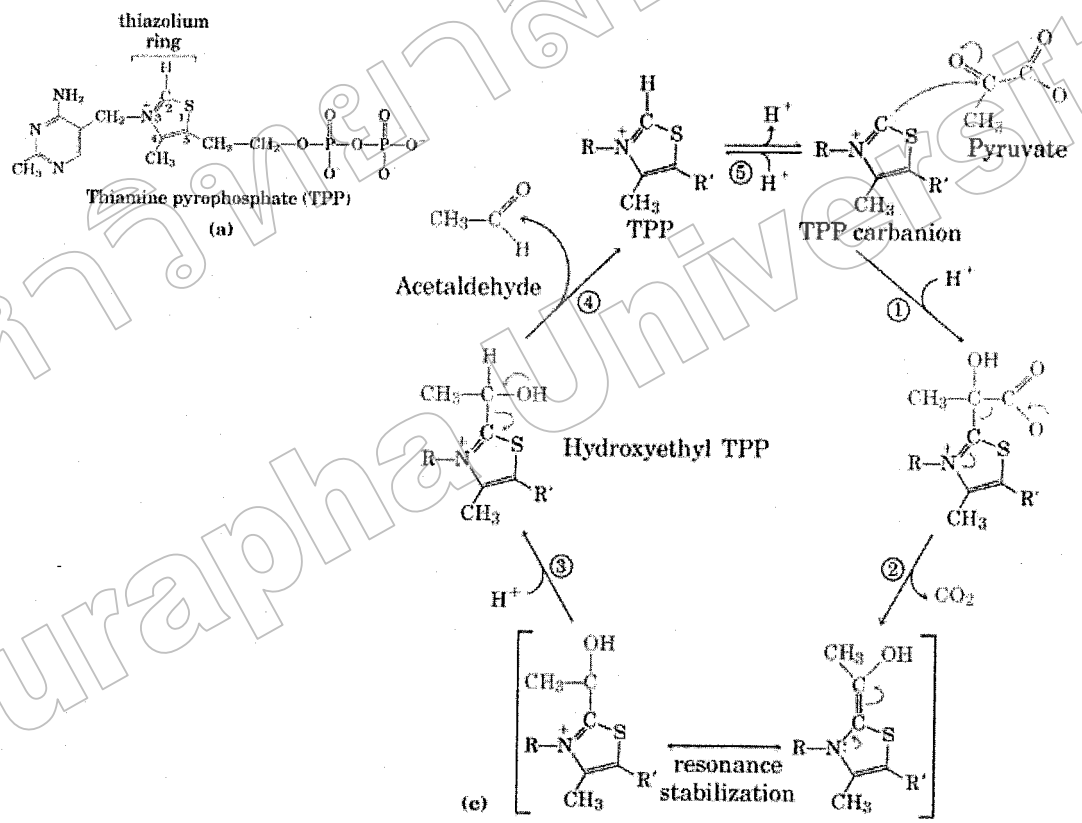
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



Thiamine pyrophosphate (TPP)

ภาพที่ 2-3 โคเอนไซม์ไทอะมีนไพโรฟอสเฟต (Thiamine Pyrophosphate)

(http://138.192.68.68/bio/Courses/biochem2/PPP/PPPOtherFeatures.html)



ภาพที่ 2-4 การทำงานของไทอะมีนไพโรฟอสเฟต (Thiamine Pyrophosphate)

(http://courses.cm.utexas.edu/emarcotte/ch339k/fall2005/Lecture-Ch14-1/Slide7.JPG)

เอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิลเลสจะมีอยู่ในยีสต์และในสิ่งมีชีวิตที่สามารถเกิดการหมักแอลกอฮอล์ได้และในพืชบางชนิดด้วย ในการทำเบียร์จะใช้ยีสต์สายพันธุ์ที่เหมาะสมกับการหมัก (Brewer's Yeast) ไปเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์โดยคาร์บอน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น มาจากปฏิกิริยาการขจัดคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากไพรูเวตนั้น จะเป็นสิ่งที่ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะของเบียร์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ ส่วนในการทำขนมปังก็จะใช้ยีสต์สายพันธุ์ที่เหมาะสมกับการทำขนมปัง (Baker's Yeast) ไปเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสิ่งทำให้แป้งขนมปังเกิดการพองฟูขึ้นเมื่อนำไปอบ เอนไซม์ ไพรูเวตดีคาร์บอกซิลเลส นี้จะไม่พบในเนื้อเยื่อของสัตว์พวกที่มีกระดูกสันหลังและในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ เช่น Lactic Acid Bacteria ที่ทำให้เกิดการหมักกรดแลกติกขึ้น (พัชรา วีระกะลัส, 2544)

ผลพลอยได้ (By-Product) จากการหมัก

ตามทฤษฎีแล้วผลลัพธ์จากการหมักควรได้เอทานอล 51.1% โดยน้ำหนัก และคาร์บอนไดออกไซด์ 48.9% แต่ในทางปฏิบัติแล้วปริมาณเอทานอลที่ได้จะต่ำกว่าทฤษฎี คือได้ประมาณ 48% และมีผลพลอยได้หลายชนิด และประมาณ 1% ของน้ำตาลจะถูกเปลี่ยนเป็นองค์ประกอบของเซลล์ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังหายไปโดยการระเหยอีกด้วย

สารที่จัดเป็นผลพลอยได้จากการหมักได้แก่

1. กรดอินทรีย์ (Organic Acid) เช่น Malic Acid Fumaric Acid Succinic Acid Acetic Acid Oxaloacetic Acid Citric Acid α-Ketoglutaric Acid และ Glutamic acid เป็นต้น จะเกิดจากวัฏจักรของกรดซิตริก ภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 0.54 ถึง 1.4 กรัมต่อลิตร

2. กลีเซอรอล (Glycerol) ผลผลอยได้ที่เกิดมากที่สุด โดยกลีเซอรอลจะผลิตได้ดีที่พีเอชมีความเป็นกลาง โดยเกิดจากการเปลี่ยนจาก Dihydroxy Acetone Phosphate เป็นกลีเซอรอลในวิถีไกลโคลิซิส

3. Higher Alcohol ได้แก่ n-Propanol Isobutanol Amylalcohol และ Isoamy Alcohol Higher Alcohol จะเกิดขึ้นได้ทั้งในกระบวนการ Catabolic Pathway ของการเปลี่ยนจากกรดอะมิโนไปเป็น α-Keto Acid ซึ่งจะถูก Decarboxylase และถูกรีดิวซ์ต่อไปเป็นแอลกอฮอล์ในกระบวนการ Anabolic Pathway

4. Ester เช่น Ethyl Acetate และ Isoamyl Acetate จะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสภาวะในการหมัก เช่น ความเข้มข้นของอาหารที่ใช้ในการหมัก อุณหภูมิ สายพันธ์ของยีสต์ การให้อากาศและการเติมกรดไขมันไม่อิ่มตัวในขณะหมัก

5. สารประกอบอื่น ๆ เช่น Acetal Dehyde, Diacetyl และ Volatile Sulphur Compound แต่จะมีปริมาณน้อยมาก (Ingledew, 1993)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กระบวนการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม

กระบวนการที่ใช้ในการหมักเอทานอลในอุตสาหกรรมมีดังนี้

1. Batch Process

การผลิตเอทานอลแบบแบตช์ (Batch Process) เป็นที่นิยมกันมานานนับร้อยปีในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม เป็นการหมักโดยมีการเติมอาหาร และเชื้อจุลินทรีย์ลงไปในถังหมัก และปล่อยให้เกิดกระบวนการหมักจนเสร็จสิ้นกระบวนการ โดยทั่วไปจะใช้เวลาหมักประมาณ 36-48 ชั่วโมง และจะมีการควบคุมอุณหภูมิอยู่ในช่วง 10-30 องศาเซลเซียส ปรับค่า pH ก่อนเริ่มการหมักให้ได้ประมาณ 4.5 เมื่อกระบวนการหมักเสร็จสิ้น จะได้ผลผลิตเอทานอลเข้มข้นประมาณ 10-16 % (w/v) กระบวนการหมักแบบแบตช์มีข้อดีหลายอย่าง เช่น ใช้งบประมาณในการลงทุนต่ำ ไม่มีการควบคุมมากไม่ต้องทำการฆ่าเชื้อ (Sterilization) หลายครั้ง ไม่จำเป็นต้องใช้ผู้ที่มีทักษะในการควบคุมการผลิต สามารถจัดการกับวัตถุดิบที่นำมาผลิตเอทานอลได้ง่าย มีความยืดหยุ่นในการหมักสูงโดยสามารถใช้ถังหมักในการผลิตสารได้หลายชนิด สามารถจำกัดช่วงของการหมักได้ ทำให้มีการเปลี่ยนสารตั้งตนไปเป็นผลิตภัณฑ์ได้ดี มีความเสี่ยงในการติดเชื้อ และการ กลายพันธุ์น้อย เนื่องจากการหมักใช้เวลาสั้น แต่กระบวนการหมักแบบแบตช์ก็ยังมีข้อเสีย คือ กระบวนการหมักแบบนี้จะมีช่วงเวลาที่ไม่สามารถทำการหมักได้ เช่น ในขั้นตอนการทำความสะอาดถังหมัก การปล่อยถังหมักให้แห้ง การฆ่าเชื้อในถังหมัก การลดอุณหภูมิ การเพิ่มอุณหภูมิ และการเติมอาหารลงไปเพื่อทำการหมัก ทำให้ถังหมักมีประสิทธิผลในการทำงานแค่ 80 % การฆ่าเชื้อบ่อย ๆ จะส่งผลให้เกิดการคลาดเคลื่อนของเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช้วัดในถังหมัก มีความเสี่ยงสูงในการใช้คนดำเนินงาน เนื่องจากอาจจะทำให้เกิดการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค หรือผลิตภัณฑ์ที่เป็นพิษจากจุลินทรีย์เหล่านั้นได้จากการสัมผัสของคนกับเครื่องมือ ในช่วงแรกของการหมักแบบแบตช์ จะมีการผลิตสารผลิตภัณฑ์ได้น้อย เมื่อเทียบกับวิธีการหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous Process) ซึ่งจะมีการควบคุมให้จุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง Exponential (Roehr, 2001)

2. Fed-Batch Process

กระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ (Fed-Batch Process) เป็นการรวมกันระหว่างวิธีการหมักแบบแบตช์ และการหมักแบบต่อเนื่อง การหมักแบบเฟดแบตช์นิยมอย่างมากในกระบวนการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม การผลิตแบบนี้เป็นการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นจาก การยับยั้งการเจริญด้วยสารตั้งต้น (Substrate Inhibition) หรือเรียกว่า Catabolic Repression โดยการเติมสารอาหารลงไปเป็นช่วง ๆ แทนที่จะเติมสารอาหารทั้งหมดลงไปในทีเดียวซึ่งจะก่อให้เกิดการยับยั้งการเจริญได้ การเติมอาหารลงไปเป็นช่วง ๆ จะช่วยปรับปรุงผลผลิต (Productivity) ของการหมัก โดยจะมีการรักษาระดับความเข้มข้นของสารอาหารให้ต่ำกว่าระดับที่ก่อให้เกิดการยับยั้ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเจริญ กระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ ในช่วงเริ่มต้นจะคล้ายกับการหมักแบบแบตช์ คือจะมีการใส่สารอาหารและจุลินทรีย์ลงไปทำการหมักซักระยะ เมื่อสารอาหาร (แหล่งคาร์บอน) เริ่มหมดและจุลินทรีย์ถูกจำกัดการเจริญ ก็จะมีการเติมสารอาหารใหม่ลงไปทำให้เกิดการหมักขึ้นอีกครั้ง โดยในระหว่างเติมสารอาหารลงไปนั้นก็จะมีการควบคุมความเข้มข้นของสารอาหารในถังหมักให้คงที่ ข้อดีของการหมักแบบเฟดแบตช์ได้แก่ ให้ผลผลิตที่สูงเนื่องจากสามารถจำกัดเวลาในการหมักแบบเฟดแบตช์ได้ มีความยืดหยุ่นสูง มีการดำเนินการแบบ Semi-Stationary Method ในขณะที่ อาจจะเริ่มมีการกลายพันธุ์ของจุลินทรีย์ และในขณะที่อาจจะเกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ มีการปรับสภาวะให้เหมาะสม เช่น สภาวะการเจริญ หรือสภาวะการผลิต และช่วงอายุของการเลี้ยงจุลินทรีย์ เป็นต้น ส่วนข้อเสียของการหมักแบบเฟดแบตช์ได้แก่ กระบวนการหมักแบบนี้จะมีช่วงเวลาที่ไม่สามารถทำการหมักได้ เช่น ในขั้นตอนการทำความสะอาดถังหมัก การปล่อยถังหมักให้แห้ง การฆ่าเชื้อในถังหมัก การลดอุณหภูมิ การเพิ่มอุณหภูมิ และการเติมอาหารลงไปเพื่อทำการหมัก มีความต้องการในการใช้พลังงานสูง หรือมีการใช้เครื่องมือราคาแพง เช่น ใช้คอมพิวเตอร์ในการควบคุมกระบวนการ มีความเสี่ยงสูงในการใช้คนดำเนินงาน เนื่องจากอาจจะทำให้เกิดการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค หรือผลิตภัณฑ์ที่เป็นพิษจากจุลินทรีย์เหล่านั้นได้จากการสัมผัสของคนกับเครื่องมือ มีการสึกหรอ และฉีดขาดของเครื่องมือมาก เนื่องจากมีการฆ่าเชื้อหลายครั้ง (Roehr, 2001)

3. Semi-Continuous Process

กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous Process) มีชื่อเรียกอีกว่า Outflow-Inflow หรือ Overflow Process หรืออาจจะเรียกอีกอย่างว่า Repeated Fed-Batch Culture ก็ได้ การหมักแบบนี้จะมีลักษณะแบบมีการถ่ายเทของเหลวให้ไหลไปอย่างต่อเนื่อง โดยของเหลวนั้นจะมีสารอาหารและหัวเชื้อจุลินทรีย์อยู่ด้วย ของเหลวที่ผ่านการหมัก หรือน้ำหมักที่ได้จะถูกถ่ายเทโดยการปั๊ม จากถังหมักถังแรกซึ่งเปรียบเสมือนถังหัวเชื้อ ให้ผ่านไปยังถังหมักถังที่สอง ในขณะที่ถังหมักแรกมีการหมักเกิดขึ้น ในถังหมักที่สองก็จะมีการเติมสารอาหารลงไปเพิ่ม และปล่อยให้มีการหมักเกิดขึ้น หลังจากนั้นก็จะมีการปั๊มน้ำหมักจากถังที่สองไปสู่ถังหมักถังที่สาม และจะมีการเติมสารอาหารลงไปอย่างช้า ๆ และปล่อยให้เกิดการหมักอีก การหมักแบบนี้นิยมใช้ในอุตสาหกรรมดังต่อไปนี้ การผลิตน้ำส้มสายชู การผลิตเพนนิซิลิน การผลิตยีสต์ขนมปัง เป็นต้น ข้อดีของกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง คือ ไม่ต้องมีถังแยกสำหรับหัวเชื้อ ยกเว้นในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการ ไม่เสียเวลาไปกับช่วงเวลาที่ไม่สามารถทำการหมักได้ เช่น ช่วงเวลาทำความสะอาดถังหมัก การฆ่าเชื้อในถังหมัก ลดการสึกหรอหรือฉีกขาดของเครื่องมือจากการฆ่าเชื้อได้ ไม่ต้องมีการควบคุมมาก ส่วนข้อเสียของกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง การหมักแบบนี้จะมี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ราคาค่อนข้างสูง ถ้ามีการหมักในระดับปริมาณที่มาก มีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนและการกลายพันธุ์ อันเนื่องมาจากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลายาวนาน อาจมีความสับสนได้ เนื่องจากการปนรวมกันของเซลล์จุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (Roehr, 2001)

4. Continuous Process

กระบวนการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องนี้ สามารถลดช่วงเวลาว่างที่ไม่สามารถดำเนินการหมักลงได้ ที่พบในการหมักแบบแบตช์ เช่น ช่วงเวลาในการล้างถังหมัก และเครื่องมือต่าง ๆ เวลาการเติมสารอาหารลงไปเพื่อทำการหมักครั้งใหม่ และเวลาที่เชื้อเจริญในระยะ Lag Phase การหมักแบบต่อเนื่อง จะทำการถ่ายเทสารน้ำหมักที่ประกอบด้วยสารอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์ต้องการ โดยการปั๊มอาหารอย่างต่อเนื่องเข้าสู่ถังหมักที่มีใบกวน ซึ่งมีหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่พร้อมจะทำงานในขณะเกิดการหมัก น้ำตาลจะถูกใช้ไป และได้ผลผลิตเป็นเอทานอลกับเซลล์จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นมา เอทานอลจะถูกเก็บออกทางด้านบนของถังหมัก ซึ่งจะมีเซลล์จุลินทรีย์และมีน้ำตาลที่เหลือจากการหมักปนออกมาด้วย ในการหมักแบบนี้จะมีการให้อากาศทั่วถังหมักเพื่อให้จุลินทรีย์เติบโตได้ในการหมักแบบนี้จะทำให้เกิดเซลล์จุลินทรีย์ขึ้นใหม่อยู่ตลอดเวลา จุลินทรีย์มีการเจริญแบบ Exponential อยู่ตลอดเวลา มีการนำเอาอาหารเข้าสู่ถังหมัก และนำเอาผลิตภัณฑ์ออกจากถังหมักจะมีอัตราคงที่ (Steady State) การหมักแบบนี้จะทำให้ได้เซลล์จุลินทรีย์ประมาณ 10-12 กรัมต่อลิตร ข้อดีของการหมักแบบต่อเนื่อง คือเป็นการใช้เครื่องจักรและใช้อุปกรณ์อัตโนมัติในกระบวนการหมักขนาดใหญ่ การดำเนินงานเป็นแบบต่อเนื่องจึงใช้พลังงานน้อย ใช้ถังหมักขนาดเล็ก และไม่ต้องเสียเวลาที่ไม่สามารถทำการหมักได้ เช่น เวลาล้างถังหมัก หรือเติมอาหารลงถังหมัก และเวลา ที่ใช้ฆ่าเชื้อในถังหมัก เป็นต้น การดำเนินงานสามารถควบคุมสภาวะได้คงที่จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพคงที่ มีความอันตรายน้อย จากการใช้คนดำเนินการ มีความเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคและพิษของจุลินทรีย์นั้นต่อวัสดุอุปกรณ์ โดยมีการปรับปรุงมาใช้เครื่องจักรกลแทน มีการสึกหรอหรือฉีกขาดของเครื่องมือน้อย จากการทำการฆ่าเชื้อ แต่ข้อเสียของการหมัก แบบต่อเนื่องคือ วัตถุที่จะนำมาใช้ต้องมีคุณภาพที่เหมาะสมกับสภาวะที่ใช้ในการหมักแบบต่อเนื่อง อาจมีปัญหาได้เมื่อใช้อัตราการหมักสูง มีความยืดหยุ่นน้อย เมื่อจะมีการปรับเปลี่ยนในกระบวนการหมัก เช่น การปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของอาหาร อุณหภูมิ และความเข้มข้นของออกซิเจน การฆ่าเชื้อในอาหารอย่างต่อเนื่อง จะใช้เครื่องมือควบคุมที่มีราคาสูง เช่น เครื่องมือที่มีระบบอัตโนมัติ การหมักแบบต่อเนื่องจะมีการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ออกอย่างต่อเนื่องก็อาจจะมีการนำเอาสารอาหารซึ่งมีราคาแพงออกไปด้วย ซึ่งจะทำให้เกิดการสิ้นเปลือง (Roehr, 2001)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอล

1. สารอาหารและแร่ธาตุ เซลล์ยีสต์จะประกอบด้วย ธาตุที่เป็นโครงสร้าง (Building Blocks) ต่าง ๆ เช่น C, H, O, N, P และ S ซึ่งจะเป็นองค์ประกอบของสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน โพลีแซกคาไรด์ กรดนิวคลีอิก และไขมัน รวมทั้งยังมีอนินทรีย์สาร เช่น โพแทสเซียม (K^+) และแมกนีเซียม (Mg^+) และยังประกอบด้วยแร่ธาตุ (Trace Element) อีกหลายชนิด สารอาหาร และแร่ธาตุเหล่านี้มีความจำเป็นต่อครงสร้างและการทำงานของเซลล์ยีสต์

ยีสต์ต้องการสารอาหาร (Macroelement) เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตโดยมีความต้องการอยู่ในระดับ 10^{-3} โมล่าร์ เช่น C, H, O, N, P, K, Mg, S, Ca, Zn, และ Mn เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีความต้องการธาตุอาหารรอง (Microelement) อยู่ในระดับ 10^{-6} โมล่าร์ เช่น Cu, Cd, Co, Mo, Ni และ B เป็นต้น โดยสามารถสรุปสารอาหารและแร่ธาตุเพื่อใช้ในการเจริญ และการทำงานของยีสต์ได้ในตารางที่ 2-1

สำหรับแร่ธาตุ ยีสต์มีความต้องการแร่ธาตุเหมือนกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ เช่น K, Mg มีความต้องการมากในระดับมิลลิโมล่าร์ ส่วนแร่ธาตุบางอย่าง เช่น Mn, Ca, Fe, Zn, Cu, Ni, Co และ Mo มีความต้องการที่น้อยในระดับไมโครโมล่าร์ แร่ธาตุยังมีส่วนสำคัญต่อโครงสร้าง เมแทบอลิซึม และการทำงานของเซลล์ยีสต์ เช่น K มีความสำคัญโดยใช้เป็น โคแฟกเตอร์ สำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ Oxidative Phosphorylation Protein Biosynthesis และ Carbohydrate Metabolism Mg มีส่วนสำคัญต่อโครงสร้างและการทำงานของเมแทบอลิซึม เช่น Transphosphorylation Enzyme ที่มีความจำเพาะกับ Mg^{2+} เพื่อทำหน้าที่ในการ Synthesis Expression และ Translation ของดีเอนเอ ส่วน Ca ก็มีความต้องการสำหรับการเจริญของยีสต์ เช่นกัน แต่ต้องการในระดับไม่เกิน 10^{-9} โมล่าร์ ดังนั้นการเติมแร่ธาตุให้กับยีสต์ต้องคำนึงถึงความเหมาะสมด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2-2

2. Growth Factor จะเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีความต้องการเพียงเล็กน้อยสำหรับยีสต์ แต่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างพลังงานของยีสต์ Growth Factor ได้แก่ Vitamin Purine และPyrimidine Nucleoside และ Nucleotide Amino Acid Fatty Acid Sterol Polyamine Choline และMeso-Inosital เป็นต้น (Walker, 1998)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2-1 สารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับยีสต์ (Walker, 1998)

สารอาหาร	แหล่งที่มา	การทำงาน
C	น้ำตาล	เป็นโครงสร้างหลักของยีสต์ โดยรวมกับ H, O และ N เป็นส่วนสำคัญในกระบวนการสลายคาร์บอนเพื่อให้ได้พลังงาน
H	โปรตอนจากสิ่งแวดล้อมในการหมัก	มีส่วนในกระบวนการขนส่งโปรตอนของยีสต์ เพื่อรักษาระดับพีเอชของเซลล์ยีสต์ให้คงที่ (pH 5-6)
O	อากาศ	มีส่วนในกระบวนการหายใจ และการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการออกซิไดซ์ มีส่วนสำคัญในกระบวนการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัว และ Ergosterol
N	เกลือ ยูเรีย กรดอะมิโน และ NH_4^+	มีส่วนสำคัญต่อโครงสร้างและการทำงานเหมือนกับกรดอินทรีย์ ไนโตรเจน ในโปรตีนและเอนไซม์
P	ฟอสเฟต	เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านพลังงาน มีส่วนสำคัญต่อโครงสร้างของกรดนิวคลีอิก และเยื่อหุ้มเซลล์
K	เกลือ K^+	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ และรักษาระดับไอออน
Mg	เกลือ Mg^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ และโครงสร้างของเซลล์
S	ซัลเฟต เมไทโอนีน	เป็นหมู่ Sulphydryl ให้กับกรดอะมิโน และ วิตามิน
Ca	เกลือ Ca^{2+}	มีส่วนสำคัญในกระบวนการส่ง Signal Transduciton
Cu	เกลือคอปเปอร์	Redox Pigment
Fe	เกลือ	มีส่วนสำคัญใน Heam-Proteins และ Cytochromes
Mn	เกลือ Mn^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์
Zn	เกลือ Zn^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์
Ni	เกลือ Ni^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ Urease
Mo	Na_2MoO_4	เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไนเตรท และวิตามิน B12

3. อุณหภูมิ ระดับอุณหภูมิที่ยีสต์ใช้หมักแอลกอฮอล์ได้ดี ที่ใช้กันอยู่ตามโรงงานอุตสาหกรรมทั่วไปนั้นอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่สูงจะส่งผลทางกายภาพต่อเซลล์ยีสต์ โดยทำให้การเจริญของยีสต์ลดลง และยังส่งผลให้ผนังเซลล์แข็งตัว ทำให้การส่งผ่านของสารอาหารที่จำเป็นต่อเซลล์ลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงยังลดกระบวนการหายใจของยีสต์อีกด้วย (Panchal, 1998)

4. pH ยีสต์ชอบเจริญในสภาวะที่เป็นกรดพอสมควร คือในระดับ pH 3.8-5.5 แต่ในการหมักจึงนิยมปรับ pH ให้มีช่วง 4-4.8 ทั้งนี้นอกจากยีสต์จะเจริญได้ดีที่ระดับ pH ดังกล่าวแล้ว ยังช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่ด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2-2 ความเข้มข้นของแร่ธาตุที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ (Walker, 1998)

แร่ธาตุ	ความเข้มข้น
H^+	1.0 ไมโครโมล่าร์ (pH 6.0)
K^+	2-4 มิลลิโมล่าร์
Mg^{2+}	2-4 มิลลิโมล่าร์
Mn^{2+}	2-4 มิลลิโมล่าร์
Ca^{2+}	น้อยกว่า ไมโครโมล่าร์
Cu^{2+}	1.5 ไมโครโมล่าร์
Fe^{2+}	1-3 ไมโครโมล่าร์
Zn^{2+}	4-8 ไมโครโมล่าร์
Ni^{2+}	10-90 ไมโครโมล่าร์
Mo^{2+}	1.5 ไมโครโมล่าร์
Co^{2+}	0.1 ไมโครโมล่าร์
B^+	0.4 ไมโครโมล่าร์

5. ความเข้มข้นของน้ำตาล มีผลต่อการผลิตเอทานอล ถ้าใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลมากกว่า 15 % (w/v) จะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลลดลงได้ โดยน้ำตาลจะไปส่งผลให้ค่าแรงดันออสโมติก (Osmotic Pressure) สูงขึ้น โดยจากการทดลองของ Panchal and Strewart (1980) และ D'Amore, Panchal, and Strewart (1988) ได้ทำการศึกษาผลของแรงดันออสโมติกต่อการหมักของยีสต์ในอาหารที่มีการแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาล พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลมากขึ้น การเจริญของยีสต์ และประสิทธิภาพในการหมักจะลดลง ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าแรงดันออสโมติก จะทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเอทานอลภายในเซลล์ยีสต์ ซึ่งจะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอลได้ หรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวิถีไกลโคลิซีสได้ โดยความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้กันทั่วไปในการหมักคือ 20 % (w/v) ถ้าหากใช้น้ำตาลที่ความเข้มข้นสูงกว่านี้จะไปมีผลต่อการเจริญของยีสต์ได้ โดยจะทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า "Cabtree-Effect" ได้ ชนิดของน้ำตาลก็มีความสำคัญเหมือนกัน โดยน้ำตาลบางชนิดยีสต์โดยทั่วไปไม่สามารถหมักได้ ซึ่งจะแสดงให้เห็นตามตารางที่ 2-3

6. ความเข้มข้นของเอทานอล เอทานอลที่ได้จากการหมักเอง กลับมีผลมายับยั้งการเจริญและการหมักของยีสต์จะเห็นได้ว่า ถ้าเอทานอลที่ได้มีความเข้มข้นสูงขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์จะลดลง ซึ่งจะทำให้อัตราการหมักลดลงไปด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2-3 ความสามารถของยีสต์กลุ่ม *Saccharomyces* และ *Kluyveromyces* ในการหมักน้ำตาลชนิดต่าง ๆ (Roehr, 2001)

Carbon Number of Basic Subunit	Type of Basic subunit	Sugar	Basic unit	Yeasts		
				S. cerevisiae	*S. uvarum*	*K. fragilis*
6	aldose	Glucose	glucose	+	+	+
		Maltose	glucose	+	+	-
		Maltotriose	glucose	+	+	-
		Cellobiose	glucose	-	-	-
		Trehalose	glucose	+/-	+/-	-
		Galactose	galactose	+	+	+
		Mannose	mannose	+	+	+
		Lactose	glucose, galactose	-	-	+
		Melibiose	glucose, galactose	-	+	
	ketose	Fructose	fructose	+	+	+
		Sorbose	sorbose	-	-	-
	aldose and ketoses deoxy sugar	Sucrose	glucose, fructose	+	+	+
		Raffinose	glucose, fructose, galactose	+/-	+	+/-
		Rhamnose	6-deoxymannose	-	-	-
		Deoxyribose	2- deoxyribose	+/-	+/-	+/-
5	aldose	Aldose sugar	arabinose	-	-	-
			xylose	-	-	-

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลโดยการหมัก

วัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตเอทานอลโดยใช้กระบวนการหมักสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

1) วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ผลผลิตการเกษตรพวกธัญพืช เช่น ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้างฟ่าง และพืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันเทศ และมันฝรั่ง เป็นต้น

2) วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล และข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น

3) วัตถุดิบประเภทเส้นใย ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด เศษไม้ และของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ เป็นต้น การเลือกใช้วัตถุดิบในการหมักเอทานอลจะถูกพิจารณาจากปัจจัยต่าง ๆ คือ

1) วัตถุดิบมีปริมาณพอเพียงสำหรับป้อนสู่โรงงานได้ตลอดปี หาได้ง่าย และราคาถูก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2) สามารถผลิตเอทานอลต่อหน่วยของวัตถุดิบ และต่อหน่วยพื้นที่เพาะปลูกได้ปริมาณที่สูง

3) พลังงานสมดุลของระบบเป็นบวก

4) วัตถุดิบนั้นจะต้องไม่แย่งอาหารของมนุษย์

การผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมในปัจจุบัน จะใช้วัตถุดิบทางการเกษตรที่แตกต่างกันไปตามแต่ละประเทศ เช่น ประเทศบราซิลจะใช้น้ำอ้อยที่มีอยู่มากในประเทศมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต มีกำลังการผลิตทั้งประเทศในปี พ.ศ. 2542 ประมาณ 16,000 ล้านลิตรต่อปี ประเทศสหรัฐอเมริกา จะใช้ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบประมาณ 85 % ในการผลิตเอทานอล ที่เหลือจะใช้ข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์เป็นวัตถุดิบ มีกำลังการผลิตทั้งประเทศในปี พ.ศ. 2541 ประมาณ 5,300 ล้านลิตรต่อปี ประเทศแคนนาดาใช้ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบประมาณ 85 % ที่เหลือจะใช้แป้งสาลีดิบ มีกำลังการผลิตทั้งประเทศในปี พ.ศ. 2541 ประมาณ 240 ล้านลิตรต่อปี เป็นต้น (Wheals, Basso, Alves, & Amorim, 1999)

สถานการณ์การผลิตเอทานอลในต่างประเทศ

จากรายงานของบริษัทบางจากปิโตเลียม จำกัด (มหาชน) การผลิตเอทานอลของโลกมีมากกว่า 30,000 ล้านลิตรต่อปี โดยบราซิลเป็นประเทศที่ผลิต และใช้เอทานอลมากที่สุดประมาณ 13,000 ล้านลิตรต่อปี สำหรับสหรัฐอเมริกาได้พัฒนาเชื้อเพลิงทดแทนตั้งแต่ปี ค.ศ. 1979 โดยสหรัฐอเมริกา มีการผลิตเอทานอลรวม 7,000 ล้านลิตรต่อปี เป็นอันดับสองรองจากบราซิล ส่วนประเทศสหภาพยุโรปมีปริมาณการผลิตเอทานอลรวม 2,000 ล้านลิตรต่อปี โดยมีฝรั่งเศสเป็นผู้ผลิตรายใหญ่ที่สุด สำหรับในเอเชีย มีปริมาณการผลิตเอทานอลรวม 5,500 ล้านลิตรต่อปี โดยจีนเป็นผู้ผลิตรายใหญ่ที่สุด รองลงมาคือประเทศอินเดีย ส่วนเกาหลีใต้และญี่ปุ่นเป็นผู้นำเข้ารายใหญ่

การจำหน่ายเอทานอลในตลาดโลกมีปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น โดยมีการค้าเอทานอลในตลาดโลกปีละประมาณ 3,500-4,000 ล้านลิตร ในอนาคตปริมาณการค้าในตลาดโลกจะขยายตัวเพิ่มมากขึ้นอีก ทวีปอเมริกาเป็นทวีปที่มีการส่งออกมากเป็นอันดับหนึ่ง ประเทศที่มีการส่งออกมากที่สุดคือบราซิล ปีละ 1,000 ล้านลิตร รองลงมาคือทวีปยุโรป ประเทศที่ส่งออกมากที่สุดคือฝรั่งเศส และทวีปเอเชีย มีการส่งออกเอทานอลเป็นอันดับสามของโลก ประเทศที่ส่งออกมากที่สุดคือประเทศจีน (พิชิต เดชนีรนาท, 2546)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ความเป็นมาเกี่ยวกับการผลิตเอทานอลในประเทศไทย

แนวความคิดที่จะผลิตพลังงานทดแทน เอทานอลในประเทศไทยนั้นเริ่มมาจาก ม.ร.ว. เทพฤทธิ์ เทวกุล ได้ริเริ่มโครงการเอทานอล ต่อมา พ.ศ. 2524 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย สร้างโรงงานต้นแบบผลิตแอลกอฮอล์ที่ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5 ขนาดกำลังการผลิต 1,500 ลิตรต่อวัน ในปีพ.ศ. 2528 มีการเริ่มโครงการโรงกลั่นเชื้อเพลิงทำแก๊สโซฮอล์ในโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา หอกลั่นแอลกอฮอล์ในโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา เริ่มผลิตแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 95 โดยมีกำลังการผลิต 25 ลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งในขณะนั้นสามารถผลิตแอลกอฮอล์ความบริสุทธิ์ร้อยละ 91 จากอ้อย และแอลกอฮอล์ความบริสุทธิ์ร้อยละ 95 จากกากน้ำตาล (Molasses) โดยกรมสรรพสามิตรเป็นผู้ให้การสนับสนุนวัตถุดิบกากน้ำตาล และบริษัท แสงโสม จำกัด ให้การสนับสนุนเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ ในขณะที่การปิโตรเลียมแหล่งประเทศไทย (ปตท.)ให้การสนับสนุนงานติดตาม ศึกษา วิจัย และพัฒนาตลอดจนสร้างสถานีบริการน้ำมันชนิดแก๊สโซฮอล์ ปีพ.ศ. 2538 กลุ่มบริษัทสุราทิพย์ ช่วยปรับปรุงหอกลั่นในสวนจิตรลดาให้มีประสิทธิภาพ สามารถขยายกำลังการผลิตให้พอเพียงสำหรับการทดลองใช้ผสมน้ำมันเบนซิน โดยมีกำลังการผลิตแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ได้ 250 ลิตรต่อชั่วโมง ทางด้านการปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย (ปตท.) ได้ร่วมกับโครงการส่วนพระองค์ ทำการทดสอบการใช้แก๊สโซฮอล์ภาคสนามกับรถยนต์ในโครงการ จำนวน 10 คัน ปีพ.ศ. 2540 ปตท. ร่วมมือกับองค์การความร่วมมือนานาชาติญี่ปุ่น หรือ JICA (Japan International Cooperation Agency) ทำการศึกษาการใช้แก๊สโซฮอล์ และดีโซฮอล์ในรถยนต์โดยทำการทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการณ์ และภาคสนาม ปีพ.ศ. 2543 ปตท. ลงนามบันทึกข้อตกลงความร่วมมือโครงการพลังงานสะอาด อากาศบริสุทธิ์ (Clean Energy Clean Air) กับองค์การขนส่งมวลชลกรุงเทพ (ขสมก.) และองค์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์ (ร.ส.พ.) ในโครงการใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิง มีพิธีปล่อยรถโดยสารของ ขสมก.จำนวน 6 คัน และในปีเดียวกันนี้ คณะรัฐมนตรีมีมติเห็นชอบในหลักการโครงการผลิตแอลกอฮอล์จากพืชเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงตามที่กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเสนอ และมอบหมายให้กระทรวง อุตสาหกรรมรับไปแต่งตั้งคณะกรรมการเอทานอลแห่งชาติ โดยให้มีหน้าที่ตรวจสอบ และศึกษาความเป็นไปได้ในการนำแอลกอฮอล์จากพืชมาผสมกับน้ำมันเชื้อเพลิงหรือใช้แทนน้ำมันเชื้อเพลิง พิจารณาปัญหาและอุปสรรค ตลอดจนเสนอแนวทางในการนำโครงการผลิตแอลกอฮอล์จากพืชเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงมาดำเนินการในเชิงพาณิชย์ (คณะกรรมาธิการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2546) ในการนี้รัฐจะสนับสนุนให้ภาคเอกชนลงทุนจัดตั้งโรงงานผลิตเอทานอลเป็นเชื้อเพลิงและให้กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ทำหนดแผนการผลิตอ้อย และมันสำปะหลังเพื่อรองรับ และให้สอดคล้องกับการลงทุนผลิตเอทานอล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากการศึกษาสถานภาพของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตน้ำมันแก๊สโซฮอล์ ซึ่งดำเนินการโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประกอบกับแผนยุทธศาสตร์มันสำปะหลังและแผนพัฒนาการผลิตอ้อยปี 2545-2549 ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ในการประชุมคณะรัฐมนตรี เมื่อวันที่ 14 พฤษภาคม 2545 ได้มีมติรับทราบตามข้อสรุปในด้านวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล ดังนี้

1. พืชที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบผลิตเอทาอลมากที่สุดคือมันสำปะหลัง ซึ่งมีปริมาณส่วนเกินของตลาดประมาณ 4 ล้านตันต่อปี สามารถผลิตเอทานอลได้ประมาณ 2 ล้านลิตรต่อวัน

2. การใช้อ้อยเป็นวัตถุดิบผลิตเอทานอลไม่เหมาะสม เพราะปริมาณการผลิตอ้อยยังไม่เพียงพอกับความต้องการของอุตสาหกรรมน้ำตาล

3. กากน้ำตาลสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบผลิตเอทานอลได้เฉพาะส่วนที่เหลือจากการบริโภค ซึ่งมีประมาณ 0.8 ล้านตันต่อปี ผลิตเอทานอลได้ประมาณ 600,000 ลิตรต่อวัน

จากการประชุมของคณะรัฐมนตรีเมื่อวันที่ 30 กรกฎาคม 2545 ได้มีมติอนุมัติการขอตั้งโรงงานผลิตและจำหน่ายเอทานอลของผู้ประกอบการทั้ง 8 ราย ตามข้อเสนอของคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ ได้แก่ บริษัท พรวิไล อินเตอร์เนชั่นแนล กรุ๊ป เทรดดิ้ง จำกัด บริษัท ไทยอะโกร เอ็นเนอร์ยี่ จำกัด บริษัท อินเตอร์เนชั่นแนล แก๊สโซฮอล์คอร์ปอเรชั่น จำกัด บริษัท แสงโสม จำกัด บริษัท ไทยง้วนเอทานอล จำกัด บริษัท น้ำตาลของแก่น จำกัด บริษัท อัลฟ่า เอ็นเนอร์จี จำกัด และ บริษัท ไทย เนชั่นแนล พาวเวอร์ จำกัด (สุรพงษ์ เจริญรัถ, 2546)

ปัจจุบันประเทศไทยมีโรงงานผลิตเอทานอลเพื่อใช้ผลิตน้ำมันก๊าซโซฮอล์จำนวน 3 แห่ง คือ บริษัท พรวิไล อินเตอร์เนชั่นแนลกรุ๊ปเทรดดิ้ง จำกัด บริษัท ไทย อะโกรเอ็นเนอร์ยี่ จำกัด และ บริษัท ไทยแอลกอฮอล์ จำกัด (มหาชน) โดยใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ มีปริมาณการผลิตรวมกัน 3 แสนลิตรต่อวัน (สิทธิพงศ์ จันทรดาเกด, 2548 ก) และก่อนสิ้นปีพ.ศ. 2548 จะมีโรงงานผลิตเอทานอลพร้อมดำเนินการอีกจำนวน 3 ราย คือ บริษัท ไทยง้วน เอทานอล จำกัด บริษัท อินเตอร์เนชั่นแนลแก๊สโซฮอล์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด และ บริษัท ขอนแก่นแอลกอฮอล์ จำกัด โดยใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบ ซึ่งเมื่อรวมทั้ง 6 บริษัท จะทำให้มีกำลังการผลิตเอทานอลรวมกัน 660,000 ลิตรต่อวัน (สิทธิพงศ์ จันทรดาเกด, 2548 ข)

มันสำปะหลัง (Cassava)

ถิ่นกำเนิดของมันสำปะหลังอยู่ในประเทศเอมริกาใต้ บราซิล และ เม็กซิโก มีการเรียกชื่อต่าง ๆ กันตามรากศัพท์ภาษา อังกฤษ สเปน โปรตุเกส เช่น Cassava Mandioca Yucca Tapioca และ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Manioc ในทางพฤษศาสตร์มันสำปะหลังเป็นพืชในวงศ์ (Class) ใบเลี้ยงคู่ (Dicotyledonease) ตระกูล (Family) Euphobiaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta Crantz.*

ในประเทศไทยนี้มีพันธุ์มันสำปะหลังที่นิยมปลูกอยู่ 9 ชนิด ได้แก่ ระยอง 1 ระยอง 2 ระยอง 3 ระยอง 5 ระยอง 60 ระยอง 90 เกษตรศาสตร์ 50 ศรีราชา 1 และ พันธุ์ห้านาที (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยจอมขวัญ, 2546)

องค์ประกอบของมันสำปะหลัง

องค์ประกอบของมันสำปะหลังประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 4 องค์ประกอบได้แก่ ปริมาณแป้ง ปริมาณไซยาไนด์ ปริมาณเปลือก (เยื่อใย) และสารประกอบที่ทำให้เกิดสีในเนื้อแป้ง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยจอมขวัญ, 2546) โดยองค์ประกอบทั้งหมดในมันสำปะหลังจะแสดงให้เห็นในตารางที่ 2-4

กระบวนการผลิตมันเส้น และมันอัดเม็ด

กระบวนการผลิตมันเส้น และมันอัดเม็ดสามารถสรุปขั้นตอนได้ดังแสดงในภาพที่ 2-5

ประโยชน์ของมันเส้น มันเส้นสะอาด และมันอัดเม็ด

มันเส้น มันเส้นสะอาด และมันอัดเม็ดจะถูกส่งออกไปต่างประเทศเช่น จีน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ ไต้หวัน ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย สิงคโปร์ แอฟริกาใต้ และสหภาพยุโรป เช่น เนเธอแลนด์ โปรตุเกส สเปน เป็นต้น โดยจีนจะใช้มันเส้นเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตกรดซิตริก ส่วนสหภาพยุโรปจะนำเข้ามันอัดเม็ดทดแทนธัญพืชภายในประเทศสำหรับใช้ผลิตอาหารสัตว์ (สมัชชา โยชน์ชัยสาร, 2546, หน้า 5-11; 2547, หน้า 3-7; 2548, หน้า 3-8) นอกจากนี้มันเส้นและมันเส้นสะอาด ยังใช้ในการผลิตมันอัดเม็ดในอุตหสากรรมภายในประเทศอีกด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

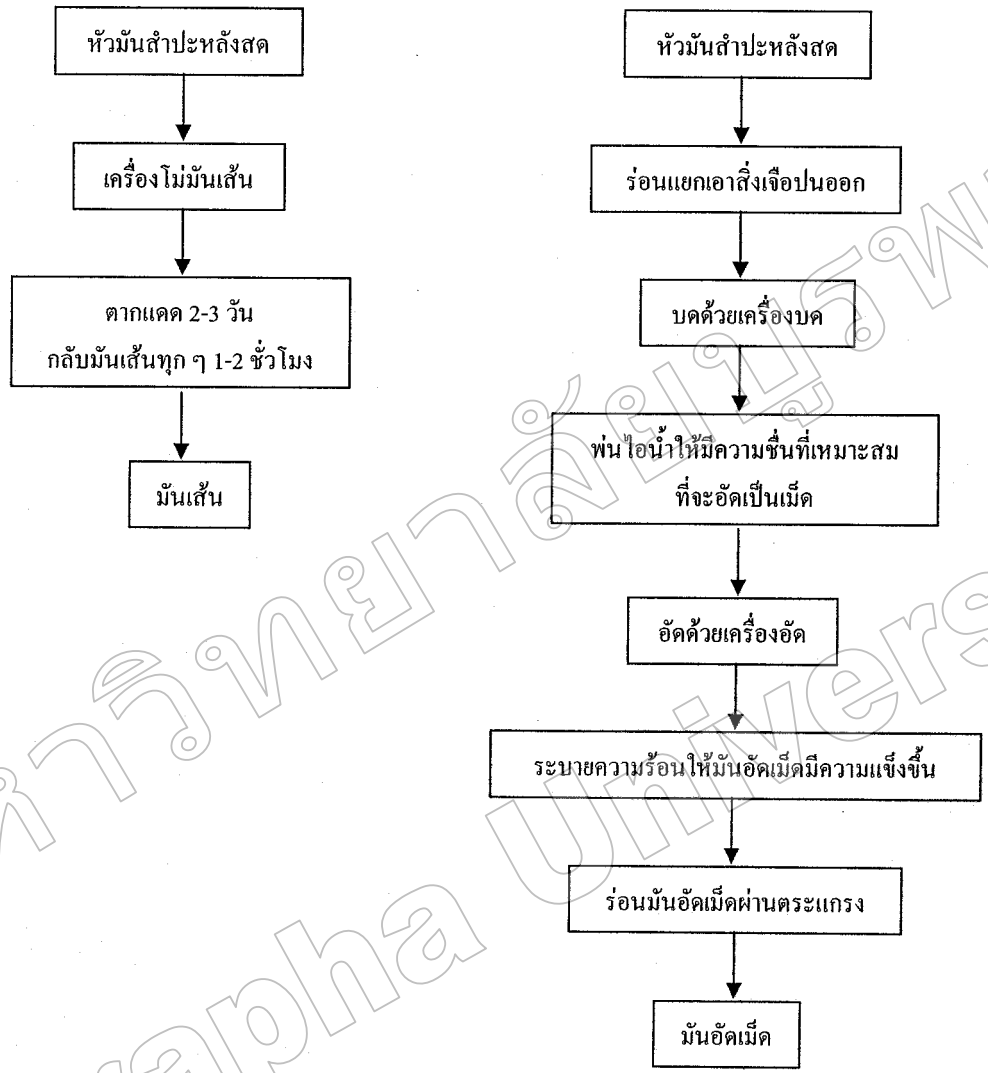
ตารางที่ 2-4 องค์กระกอบของหัวมันสำปะหลัง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกูล ปียะจอมขวัญ, 2546)

	เจริญศักดิ์ (1989)	Balagopalan (1988)	Beynum (1985)	Grace (1977)	Gomez (1985)	Shipman (1967)	Sriroth (1998)
ความชื้น (%)	63.28	59.40	66.00	70.25	*	70.00	53.02
คาร์โบไฮเดรต (%)	29.73	38.10	26.00	26.58	*	24.00	25.00
โปรตีน (%)	1.18	0.70	1.00	1.12	1-2	1.00	2.18
ไขมัน (%)	0.08	0.20	0.30	0.41	0.2-0.5	3.00**	0.21
เถ้า (%)	0.85	1.00	*	0.54	1.5-2	*	*
เยื่อใย (%)	0.99	0.60	1.00	1.11	0.07	2.00	1.71
โพแทสเซียม (mg/kg)	0.26	*	*	*	*	*	*
ฟอสฟอรัส (mg/kg)	0.04	4.00	*	*	*	*	*
กรดไฮโดรไซยานิก (ppm.)	173	15-400	*	*	*	*	110.40
เหล็ก (mg/kg)	*	*	*	*	*	*	*
วิตามินซี (mg/kg)	*	252	*	*	*	*	*

* ไม่มีรายงาน

** รวมทั้งเกลือแร่และน้ำตาล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-5 แผนภูมิกระบวนการผลิตมันเส้นและมันอัดเม็ด (เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ และคณะ, 2546)

กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้ง มีขั้นตอน คือ

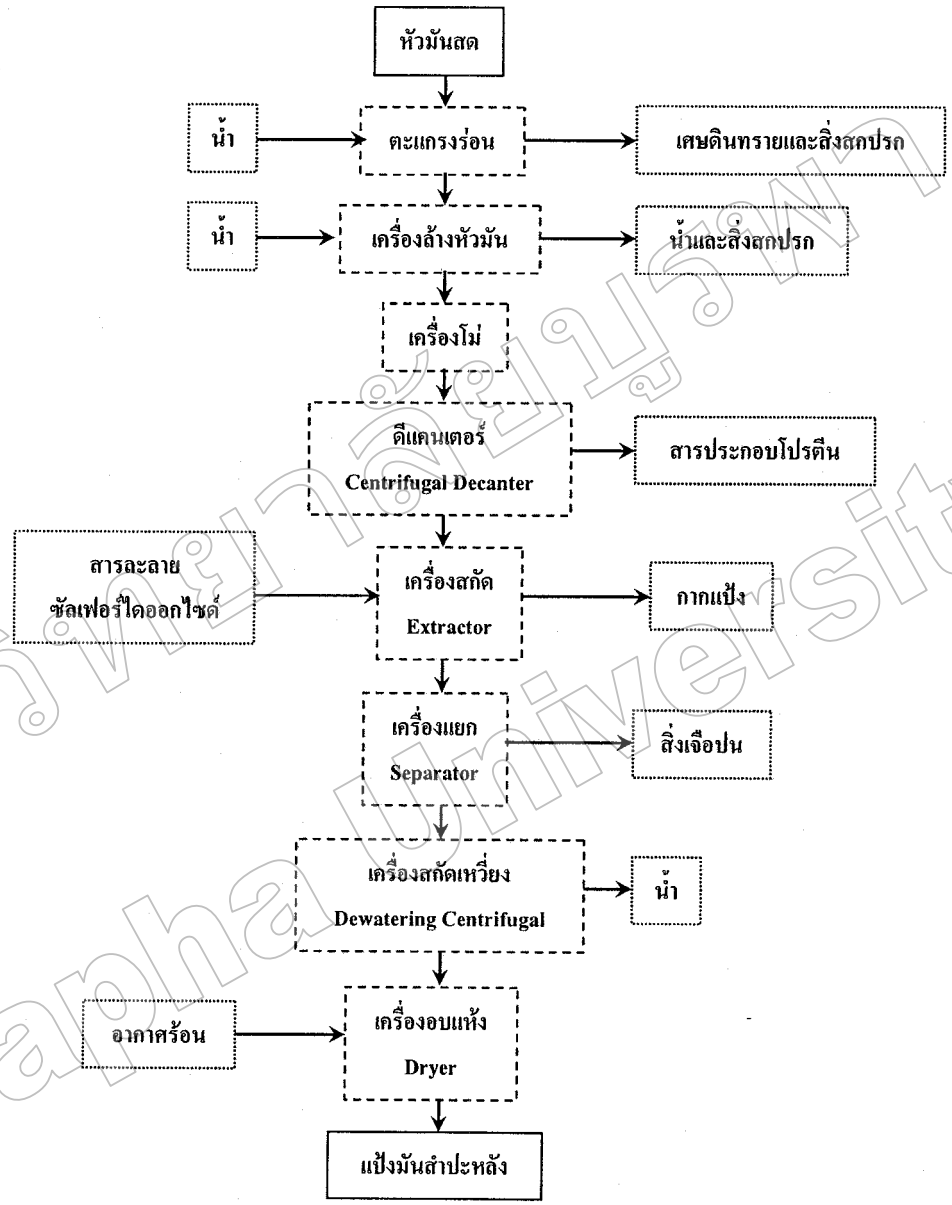
นำหัวมันสดเข้าเครื่องชั่งน้ำหนัก วัดเปอร์เซ็นต์แป้งที่มีในหัวมัน ทำความสะอาด และเตรียมหัวมัน เริ่มตั้งแต่นำหัวมันสดเข้าเครื่องร่อนเพื่อแยกเอาดินออก จากนั้นลำเลียงเข้าสู่เครื่องล้างเพื่อทำความสะอาดหัวมันอีกครั้งแล้วจึงนำเข้าสู่เครื่องสับ และขูดเปลือกเพื่อให้หัวมันมีขนาดเล็กลงและแยกเอาเปลือกออกก่อนเข้าสู่เครื่องบด เมื่อผ่านเครื่องโม่แล้วจะถูกส่งเข้าเครื่องแยกสารประกอบโปรตีนออกด้วยแรงเหวี่ยง (Centrifugal Decanter) โดยใช้หลักการที่ของเหลวมีความถ่วงจำเพาะต่างกัน หลังจากผ่าน Decanter แล้ว น้ำแป้งจะถูกลำเลียงเข้าสู่เครื่องสกัด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(Extractor) แยกกากและน้ำแป้งออกจากกัน ในขั้นนี้นิยมใส่สารละลายซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพื่อฆ่าจุลินทรีย์ กากนี้จะถูกนำไปตากแห้งเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบทำอาหารสัตว์ต่อไป น้ำแป้งหลังจากผ่านเครื่องสกัด แล้วจะถูกส่งเข้าสู่เครื่องแยก (Separator) เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกต่าง ๆ รวมทั้งยางและเมือกออกจากน้ำแป้ง น้ำแป้งที่ได้จะผ่านเข้าเครื่องแยกน้ำด้วยแรงเหวี่ยง หรือเครื่องสลัดเหวี่ยง (Dewatering Centrifuge) เพื่อให้ได้แป้งชื้นส่งเข้าหน่วยอบแป้ง แป้งชื้นที่สะอาดจะถูกรวบรวมในถัง (Buffer Tank) เพื่อรอการอบแห้งขั้นสุดท้าย ในกระบวนการอบแห้งแบบพาหะลมซึ่งใช้อากาศร้อน แป้งที่ชื้นจะวนเวียนอยู่ในเครื่องอบจนแห้งกระบวนการแบบนี้ทำให้มั่นใจว่าจะได้แป้งที่สะอาด มีคุณภาพ และความชื้นต่ำ (ประมาณ 12.5 %wb) หลังจากแป้งเย็นตัวลงแล้วก็จะถูกบรรจุถุงรอการส่งขาย (บุณยพัต สุภานิช, 2546) ซึ่งจะแสดงขั้นตอนการผลิตแป้งมันสำปะหลังดังภาพที่ 2-6

ประโยชน์ของแป้งมันสำปะหลัง

จากคุณสมบัติของแป้งมันที่มีความเหนียวและนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างไม่จำกัด ทำให้มีความสนใจมาทดลองผลิตแป้งแปรรูป (Modified Starch) จากมันสำปะหลัง โดยใช้กระบวนการผลิตทั้งกระบวนการแปรรูปทางกายภาพ หรือใช้กระบวนการทางเคมี (ศักดิ์ชัย เหลืองสถิตกุล, 2545) ทำให้ทุกวันนี้เรานำเอาทั้งแป้งมัน และแป้งมันสำปะหลังแปรรูปมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมาย เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ใช้ผลิตน้ำเชื่อมกลูโคส น้ำเชื่อมฟรุกโตส และ ไซโคลเดกซ์ทริน ใช้ผลิตลูกกวาด ทอฟฟี่ ใช้ผลิตอาหารอื่น ๆ หรือสารเคมีบางชนิด เช่น ผงชูรส ไลซีน เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป.) เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารอื่น เช่น ใช้น้ำเชื่อมกลูโคสที่ได้มาผลิตเอทานอล อุตสาหกรรมกระดาษ เช่น ใช้เคลือบกระดาษเพื่อเพิ่มความมันเงา และความสามารถในการพิมพ์ให้แก่กระดาษ เพิ่มความเหนียว รวมทั้งเพิ่มความต้านทานต่อน้ำมัน ใช้สำหรับฟอกเยื่อกระดาษ ใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัว อุตสาหกรรมสิ่งทอ เช่น ใช้เคลือบเส้นด้ายให้เส้นด้ายมีความแข็งแรงเพิ่มความต้านทานต่อการเสียดสีและความยืดหยุ่นของเส้นด้ายระหว่างทอ ใช้ทางเภสัชกรรม เช่น ใช้เป็นสารยึดเกาะ หรือสารแตกตัว (Disintegrated) ในการผลิตยาเม็ด ใช้เป็นสารเพิ่มปริมาณ (Filler) เป็นต้น (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยจอมขวัญ, 2546) นอกจากนี้แป้งมันสำปะหลังแปรรูปยังถูกส่งออกไปยังต่างประเทศ ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น ฮ่องกง ไต้หวัน มาเลเซีย เกาหลีใต้ ศรีลังกา บังกลาเทศ และอินโดนีเซีย เป็นต้น (สมัชชา โยชน์ชัยสาร, 2546, หน้า 5-11; 2547, หน้า 3-7; 2548, หน้า 3-8) โดยประเทศญี่ปุ่นเป็นตลาดหลักที่มีการนำเข้าแป้งมันสำปะหลังแปรรูปจากไทยมากกว่าร้อยละ 50 ของยอดส่งออกทั้งหมด (ศักดิ์ชัย เหลืองสถิตกุล, 2545)



ภาพที่ 2-6 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้ง (บุณยพัต สุภานิช, 2546)

สถานการณ์การผลิตและส่งออกมันสำปะหลังของไทย

ในปีการผลิต 2547/2548 (ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2547 ถึง กันยายน 2548) สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรคาดคะเนว่าจะมีพื้นที่เก็บเกี่ยวมันสำปะหลังทั้งประเทศรวม 6,696 ล้านไร่ และได้ผลผลิตจำนวน 22,193 ล้านตัน เนื่องจากในปีที่ผ่านมาระดับราคาหัวมันสำปะหลังสดที่เกษตรกรขายได้อยู่ในเกณฑ์ดี ประกอบกับมันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกดูแลรักษาง่ายและให้ผลตอบแทน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ที่งดงาม จึงเป็นสาเหตุจูงใจให้เกษตรกรขนายการผลิต โดยในหลายจังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการปลูกมันสำปะหลังเพื่อทดแทนอ้อยโรงงานมากขึ้น

มันสำปะหลังที่ผลิตได้จะนำไปแปรรูปเป็น มันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมัน โดยมีอัตราส่วนในการแปรรูปดังนี้ (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป.)

หัวมันสด	1 กิโลกรัม ได้แป้งมันสำปะหลังเฉลี่ย	0.20 กิโลกรัม (20%)
หัวมันสด	1 กิโลกรัม ได้มันเส้นเฉลี่ย	0.40 กิโลกรัม (40%)
หัวมันสด	1 กิโลกรัม ได้มันอัดเม็ดเฉลี่ย	0.37 กิโลกรัม (37%)
มันเส้น	1 กิโลกรัม ได้มันอัดเม็ดเฉลี่ย	0.93 กิโลกรัม (93%)

โดยมีสัดส่วนของผลผลิต การแปรรูป และการส่งออกมันสำปะหลังของไทย แสดงได้ดังภาพที่ 2-7 และภาพที่ 2-8

ข้อดีของการใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล

1. มันสำปะหลังจะให้ผลผลิตเอทานอลปริมาณมาก เมื่อเทียบต่อพื้นที่ที่ใช้เพาะปลูก

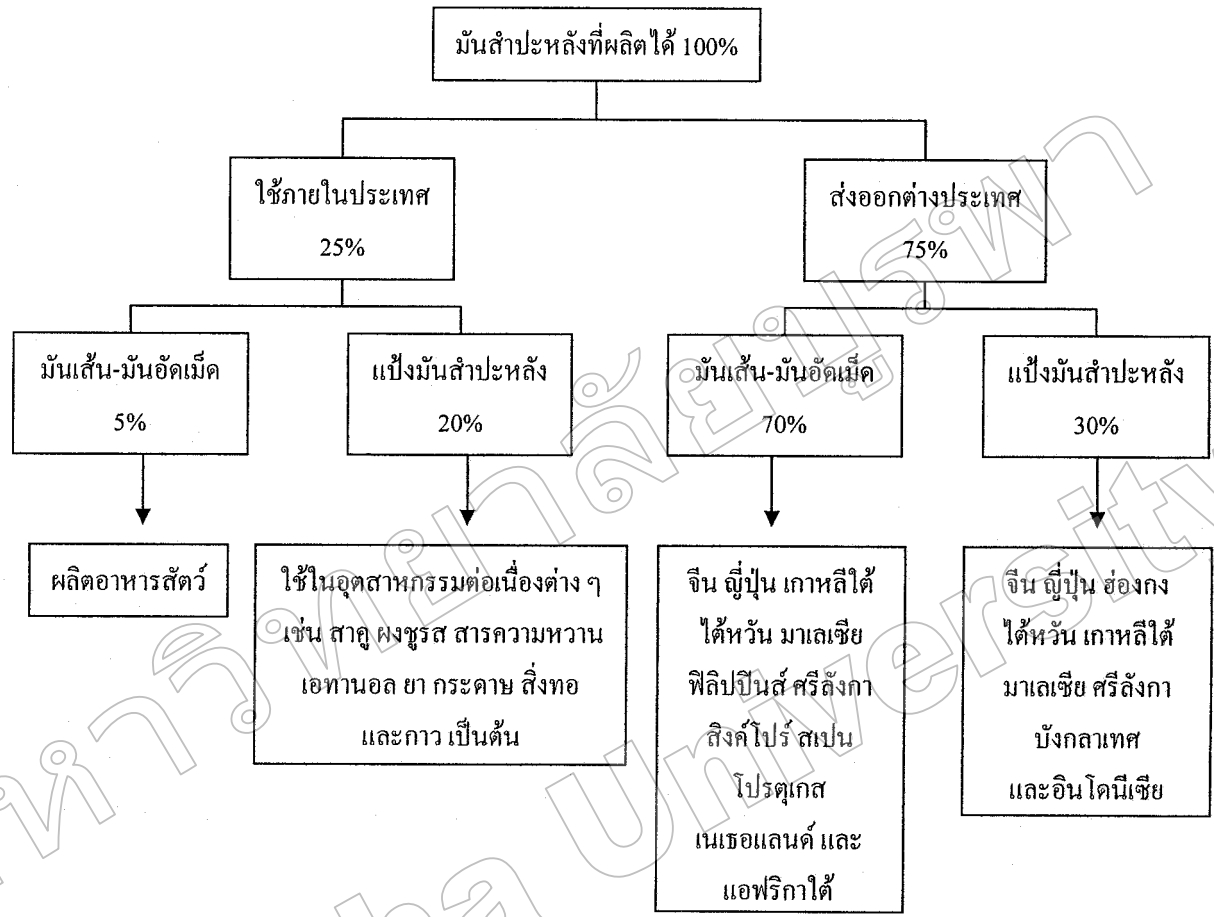
2. สามารถเพาะปลูกได้ในดินที่มีคุณภาพต่ำ เมื่อเทียบกับอ้อย ดังนั้นจึงสามารถนำไปปลูกในพื้นที่ที่ไม่สามารถเพาะปลูกพืชอย่างอื่นได้

3. สามารถทนต่อความแห้งแล้งและโรคพืชได้

4. มันสำปะหลังจะมีโปรตีนอยู่ในใบและลำต้นปริมาณสูง (17 %) ซึ่งสามารถนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ได้

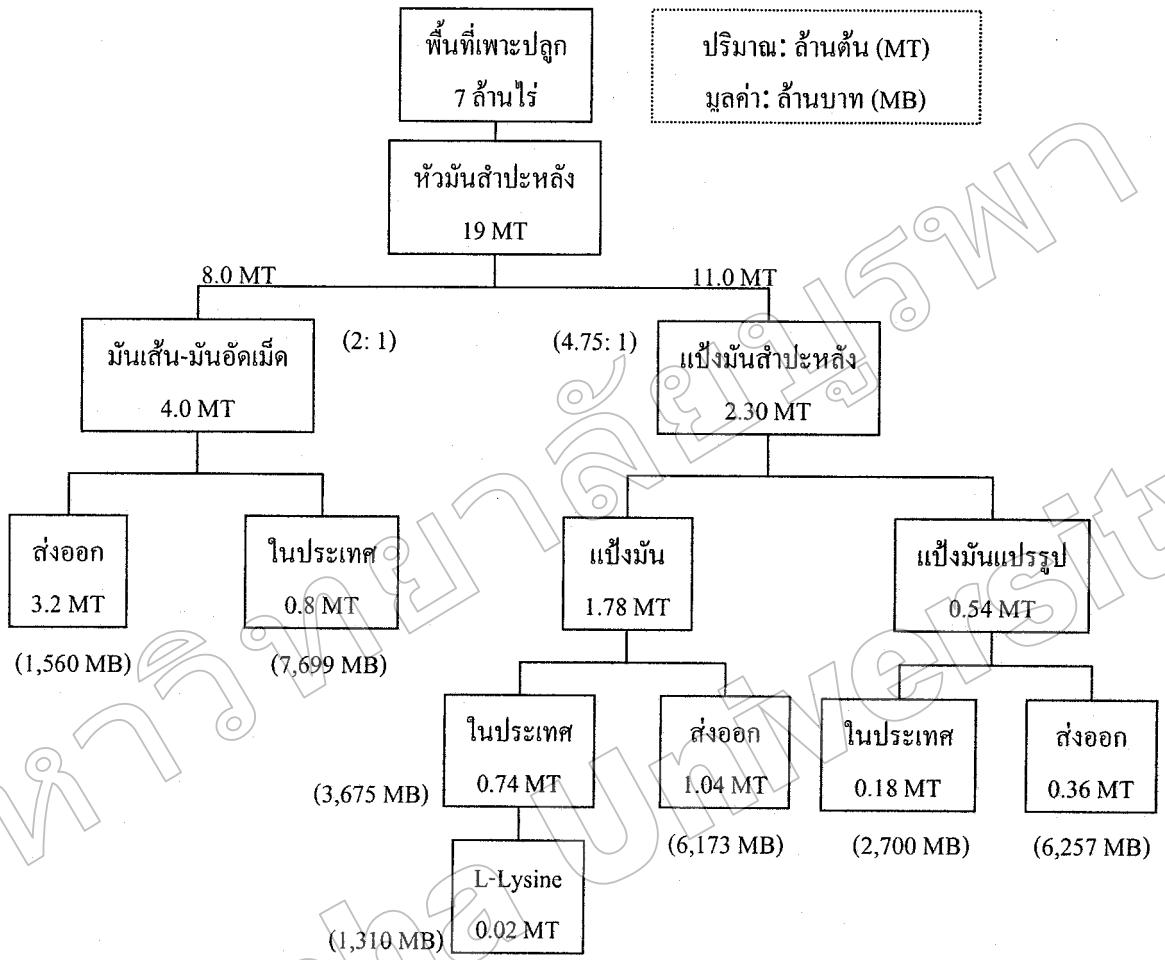
5. มันสำปะหลังเมื่อทำให้แห้ง โดยให้มีความชื้นเหลือน้อยกว่า 20 % จะสามารถเก็บได้นานเป็นปี (Roehr, 2001)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-7 ภาพรวมสัดส่วนการใช้และการส่งออกมันสำปะหลังของไทย ปีพ.ศ. 2547/48
(สมัชชา โยชน์ชัยสาร, 2546, หน้า 5-11; 2547, หน้า 3-7; 2548, หน้า 3-8)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-8 ภาพรวมอุตสาหกรรมจากมันสำปะหลังปี 2543 (ศักดิ์ชัย เหลืองสถิตกุล, 2545)

การหมักเอทานอลโดยใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. วัตถุดิบและการเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้ากระบวนการหมัก

วิธีการเตรียมมันสำปะหลังก่อนการหมักขึ้นอยู่กับประเภทของมันสำปะหลัง ถ้าเป็นหัวมันสำปะหลังสด ก่อนเข้ากระบวนการต้องทำการปอกเปลือก และล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำไปบดให้ละเอียดเพื่อให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีขึ้นในกระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรณีที่เป็นมันเส้น จะต้องนำมันเส้นมาโม่แห้งโดยใช้เครื่อง Hammer Mill และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อใช้ในการย่อยด้วยเอนไซม์ต่อไป (เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ และคณะ, 2546) ส่วนถ้าใช้แป้งมันสำปะหลัง จะนำมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์โดยไม่ต้องผ่านการเตรียม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. กระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล

กระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลนั้นอาจจะใช้กรดหรือเอนไซม์ เป็นตัวย่อยแป้ง ซึ่งในทางปฏิบัติอาจจะใช้ทั้งกรดและเอนไซม์ หรือเอนไซม์อย่างเดียวตลอดก็ได้ ในที่นี้จะกล่าวถึงการใช้เอนไซม์เพียงอย่างเดียวโดยตลอด เนื่องจากของเสียจากกระบวนการที่ใช้กรดเป็นตัวไฮโดรไลซ์บำบัดได้ยาก ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง และการย่อยแป้งในปัจจุบันนิยมใช้เอนไซม์

ในกระบวนการที่ใช้เอนไซม์เพียงอย่างเดียวประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ ๆ คือ

2.1 การต้มสุก และย่อยแป้ง (Cooking) ในที่นี้จะหมายรวมถึงกระบวนการใหญ่ ๆ 2 กระบวนการ คือ

2.1.1 Gelatinization เป็นการให้ความร้อนกับแป้งที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป ซึ่งจะทำให้เส้นใยของแป้งบวมและมีความหนืดสูงมากขึ้นจนกลายเป็นแป้งเปียก

2.1.2 Liquefaction เป็นการใช้เอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส (α-Amylase) มาย่อยแป้งให้มีความหนืดลดลง ซึ่งจะได้แป้งที่มีโมเลกุลลดลง

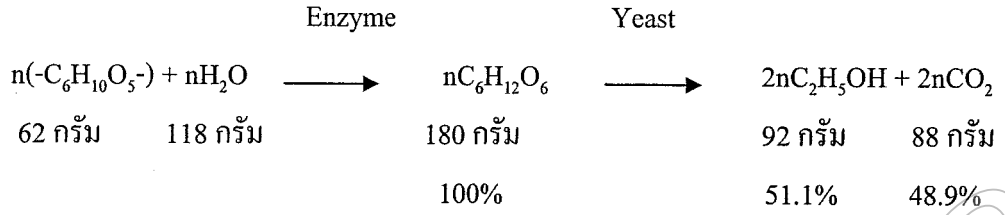
กระบวนการทั้งสองสามารถทำพร้อมกันหรือคนละขั้นตอนก็ได้

2.2 Saccharification เป็นกระบวนการที่ทำต่อจากกระบวนการย่อยแป้ง โดยการปรับอุณหภูมิและ pH ลง เนื่องจากเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase หรือ β-Amylase) ทำงานได้ดีที่สภาวะอุณหภูมิและ pH ต่ำกว่า α-Amylase โดยเอนไซม์ชนิดนี้จะทำหน้าที่ตัดโมเลกุลของแป้งให้เล็กลงจนกลายเป็นน้ำตาลกลูโคส (Glucose)

3. กระบวนการหมักเอทานอล

เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้กลายเป็นเอทานอล โดยใช้ยีสต์ซึ่งที่นิยมใช้กันโดยทั่วไปคือ *Saccharomyces cerevisiae* กระบวนการหมักสามารถเป็นได้ทั้งกระบวนการแบบแบตช์ (Batch Fermentation) และแบบต่อเนื่อง (Continuous Fermentation) ซึ่งทั้งการใช้ยีสต์ใหม่และการรีไซเคิลยีสต์ กระบวนการหมักนี้ใช้เวลา 48-72 ชั่วโมง จะมีความเข้มข้นของเอทานอลในสารละลาย 8-11 % (v/v) ความเข้มข้นของน้ำตาลในสารละลายที่ใช้ในกระบวนการหมักต่างกันจะทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้มีค่าไม่เท่ากัน เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักมีค่าสูงก็จะลดค่าใช้จ่ายในการกลั่นแยกเอทานอล แต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลในสารละลายมีค่าสูงขึ้นปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้ตามทฤษฎีจะมีค่าลดลง โดยตามทฤษฎี ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาล กูลโคสเป็นแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 51.1 และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.9 โดยน้ำหนัก และมีความร้อนเกิดขึ้นตามสมการเคมีที่แสดงดังภาพที่ 2-9

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-9 สมการเคมีของการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล และเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

ในทางปฏิบัติ น้ำตาล 95% เท่านั้นที่ถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ที่เหลือยีสต์จะใช้ในการเจริญ และเปลี่ยนเป็นผลพลอยได้อื่น ๆ ตามที่กล่าวมาแล้ว (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

4. กระบวนการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมัก

โดยทั่วไปมักใช้การกลั่นแยกเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอล ขึ้นไปถึงระดับที่ไม่สามารถกลั่นต่อได้ กล่าวคือเกิดเป็นสารผสมอะซีโอโทรปิก (Azeotropic Mixture) (เอทานอล 95.5 % (v/v)) หรือของผสมสารที่มีจุดเดือดคงที่ จากนั้นจึงใช้กระบวนการแยกต่าง ๆ เช่น กระบวนการกลั่นแยกแบบอะซีโอโทรปิก (Azeotropic Distillation), กระบวนการเพอร์แวปเปอร์เรชั่น (Pervaporation), กระบวนการดูดซับ (Adsorption) เพื่อให้เอทานอลบริสุทธิ์ (เอทานอล 99.9 % (v/v)) การกลั่นแยกในขั้นตอนแรกนี้จะใช้หอกลั่นจำนวน 2 หอ โดยที่หอแรกมีการป้อนไอน้ำเข้าไปโดยตรง เนื่องจากสารละลายที่ได้จากถังหมักจะมีสารจำพวกกากของเส้นใยและสารอินทรีย์ต่าง ๆ ปะปนอยู่ด้วยค่อนข้างมาก ดังนั้นการใช้หม้อต้มซ้ำกับหอแรกนี้จึงไม่เหมาะสม เพราะอาจจะทำให้เกิดการอุดตันภายในหม้อต้มซ้ำได้ง่าย เอทานอลที่ได้จากหอนี้จะมีความเข้มข้นประมาณ 60 % (v/v) สารละลายเอทานอลนี้จะถูกนำไปทำให้เข้มข้นขึ้นในหอที่ 2 ซึ่งเป็นหอกลั่นแบบธรรมดาต่อไป

5. กระบวนการทำเอทานอลให้บริสุทธิ์ (99.5 % (v/v))

วิธีการทำให้เอทานอลบริสุทธิ์โดยทั่วไปสามารถทำได้จาก 3 กระบวนการดังนี้

5.1 กระบวนการกลั่นแยกแบบอะซีโอโทรปิก เป็นกระบวนการกลั่นแยกสารละลายที่ไม่สามารถกลั่นแยกให้บริสุทธิ์ต่อไปได้อีกแล้ว ให้สามารถกลั่นแยกให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้นโดยการเติมสารอีกตัวเข้าไป (Entrainer) เพื่อรบกวนสมดุลของสารละลายทำให้สามารถกลั่นแยกต่อไปได้ สาร Entrainer เช่น เบนซีน เป็นต้น

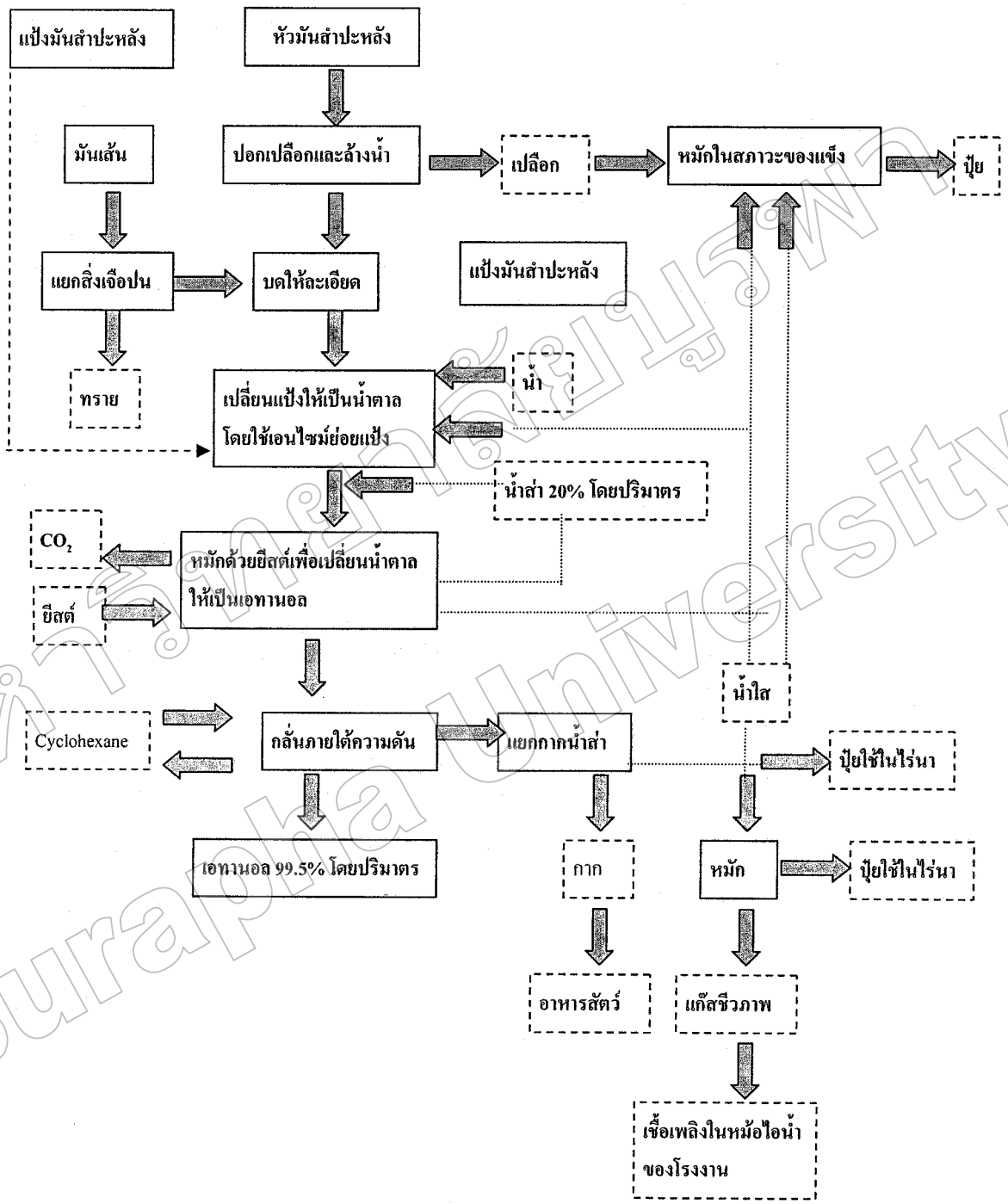
5.2 กระบวนการเพอร์แวปพอเรชั่น เป็นการแยกองค์ประกอบออกจากสารละลายโดยอาศัยเยื่อแผ่นสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติในการเลือกผ่านซึ่งอาศัยความแตกต่างระหว่างความ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สามารถในการดูดซับและการแพร่ของสารต่างชนิดกันผ่านเยื่อเป็นหลักในการแยก ตัวอย่างเยื่อแผ่น เช่น PVA (Polyvinyl Alcohol) ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำได้ดี และน้ำมีคุณสมบัติในการแพร่ผ่านเยื่อแผ่นชนิดนี้ได้น้อยกว่าเอทานอลจึงทำให้เอทานอลมีความเข้มข้นมากขึ้นและแพร่ผ่านเยื่อแผ่นออกไป

5.3 กระบวนการดูดซับ เป็นการใช้สารดูดซับเพื่อดูดซับไอน้ำหรือความชื้นออกจากสารผสม สารดูดซับเช่น โพแทสเซียมอะลูมิโนซิลิเกต (สุวิทย์ เตีย, 2545) กรรมวิธีการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังสรุปไว้ดังภาพที่ 2-10

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-10 กรรมวิธีผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง แสดงกรณีตัวอย่างในโรงงานต้นแบบผลิตแอลกอฮอล์ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่มีขนาดกำลังผลิตเอทานอลไร้น้ำ 1,500 ลิตรต่อวัน (คณะกรรมการการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2545)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Casey, Magnus and Ingledew (1983) ทำการทดลองหมักเอทานอลด้วยยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Brewing Yeast) โดยใช้ เวอร์ต (wort) ที่ความเข้มข้น 28 % เป็นอาหาร และเพิ่มสารอาหารเข้าไปคือ 0.8% Yeast Extract, 24 ppm Ergosterol และ 0.24 % (v/v) Tween 80 ทำให้สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นมากกว่า 14 % (v/v) ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 5 วัน ในขณะที่การหมักเวอร์ตอย่างเดียวโดยไม่เพิ่มสารอาหาร การหมักจะเสร็จสิ้นเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน และพบว่าการเพิ่มแหล่งไนโตรเจน และ ลิปิด จะช่วยเพิ่ม น้ำหนักเซลล์ (Cell Mass) และลดเวลาการหมักและช่วยเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลให้สูงขึ้น

Damiano and Wang (1985) ได้ทำการปรับปรุงการผลิตเอทานอลโดยการหมักแบบแบตช์ และแบบต่อเนื่อง จาก *Saccharomyces cerievisiae* โดยใช้แป้งถั่วเหลือง (Soy Flour) เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอล และเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก โดยพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งถั่วเหลือ 2 กรัมต่อลิตรจะเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก 20.2 % โดยให้ค่า Recycle Ratio (R) 90 % และถ้าเพิ่มความเข้มข้นของแป้งถั่วเหลืองเป็น 1 กรัมต่อลิตร จะเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก 15.5 % และให้ค่า Recycle Ratio (R) 95 % เมื่อทำการหมักแบบต่อเนื่อง ร่วมกับวิธีการใช้เซลล์หมักซ้ำ (Cell Recycle) ด้วยการกรองเซลล์แบบ Ultrafiltration Membrane เปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแป้งถั่วเหลือง ซึ่งผลการหมักแบบแบตช์ก็ให้ผลคล้ายกัน

Viegas, Correia and Novais (1985, a) ทำการทดลองหมักเอทานอลแบบแบตช์ ด้วยยีสต์ *Saccahromyces bayanus* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยใช้อาหารอย่างง่ายที่ประกอบด้วย สารสกัดจากยีสต์, $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO_4, $MgSO_4.7H_2O$ และ กลูโคส มีการเติมสารอาหาร คือแป้งถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งโปรตีน และลิปิด เพื่อช่วยเพิ่มอัตราการเจริญ และการรอดชีวิต ของยีสต์ในระหว่างการหมัก พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณแป้งถั่วเหลืองเป็น 4 % (w/v) ในอาหารอย่างง่ายที่มีปริมาณกลูโคสอยู่ 300 กรัมต่อลิตร สามารถช่วยเพิ่มจำนวนการรอดชีวิตของเซลล์ยีสต์ได้ และช่วยให้การหมักเอทานอลให้เอทานอลที่ความเข้มข้น 12.8 % (w/v) ภายในเวลา 64 ชั่วโมง

Viegas, Correia and Novais (1985, b) ทำการทดลองหมักเอทานอลอย่างรวดเร็วแบบแบตช์ด้วยยีสต์ *S. bayanus* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยใช้อาหารอย่างง่าย และเติมสารอาหารที่ประกอบด้วย สารสกัดจากยีสต์ $(NH_4)_2SO_4$ KH_2PO_4 $MgSO_4.7H_2O$ และ กลูโคส และเติมแป้งถั่วเหลืองลงไป พบว่าเมื่อทำการเติมแป้งถั่วเหลืองลงไป 2 กรัมต่อลิตร จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพประสิทธิภาพในการหมัก ด้วยการเพิ่มอัตราการผลิตเอทานอล ช่วยในการย่อยน้ำตาลได้ดี และทำให้ได้เปอร์เซ็นต์เอทานอลสูงถึง 14 % (v/v)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Thomas and Ingledew (1990) ทำการทดลองหมักเอทานอลแบบแบตช์ ด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Active Dry Yeast) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทำการหมัก 8 วัน จึงเสร็จสิ้นการหมัก โดยใช้ข้าวสาลี เป็นวัตถุดิบ ซึ่งมีความเข้มข้นของแข็งละลาย 35 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีการเติมสารอาหาร เช่น Yeast Extract, Cassamino Acid หรือ Single Amino Acid เช่น Glutamic acid ลงไป พบว่า เมื่อเติม 0.9 % Yeast Extract ลงไปจะช่วยลดเวลาในการหมักจาก 8 วัน ลงเป็น 3 วันได้ และให้ค่า Final Ethanol Yield เท่ากับ 17.1 % (v/v) แต่พบว่าเมื่อเติมกรดอะมิโนอิสระที่ได้จากการย่อยข้าวสาลีด้วยเอนไซม์ Protease ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ได้มาจากภายใน และ Glycine ลงไปเป็นสารอาหารเพิ่มในการหมัก จำนวนเซลล์ยีสต์จะลดลงและระยะเวลาในการหมักจะเพิ่มขึ้น ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า มีความแตกต่างกันของแหล่งไนโตรเจนในด้านคุณภาพที่จะเหมาะสมนำมาใช้เป็นสารอาหารเพิ่มแก่ยีสต์เพื่อใช้ในการเจริญ

Jones and Ingledew (1994) ทำการทดลองหมักเอทานอลแบบแบตช์ด้วยข้าวสาลี (Wheat Mash) ที่ความเข้มข้น 36.5 กรัมของแข็งที่ละลายได้ต่อ100 มิลลิลิตร โดยใช้ยีสต์แห้ง (Dry *S. cerevisiae* yeast) จากบริษัท Alltech มีการเติมยูเรีย (Urea) ลงไป 16 mM (1 กรัมต่อลิตร) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักคือ 27 องศาเซลเซียส ใช้เวลาหมัก 55 ชั่วโมง และให้เอทานอลเข้มข้น 20.6 % (v/v) ในขณะที่การหมักข้าวสาลีโดยไม่เติมยูเรียจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 20 องศาเซลเซียส ใช้เวลาหมักประมาณ 240 ชั่วโมง และให้เอทานอลเข้มข้น 17.8 % (v/v)

Roukas (1996) ทำการทดลองผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลที่ได้จากหัวบีท โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ในรูปแบบของตัวเซลล์และแบบตรึงรูป (Immobilized) โดยทำการหมักแบบแบตช์และแบบเฟดแบตช์ ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการกวนด้วยความเร็ว 500 รอบต่อนาที โดยไม่มีการเติมอากาศ พบว่าในการหมักแบบแฟดแบตช์ จะให้ผลผลิตที่ดีกว่าการหมักแบบแบตช์ ในการหมักแบบเฟดแบตช์เมื่อใช้ยีสต์ในรูปแบบตัวเซลล์ และในรูปแบบตรึงรูปจะให้ผลที่คล้ายกันโดยจะให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 53 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้น้ำตาลเริ่มต้นเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตร และให้อัตราการเติมอาหารเท่ากับ 250 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง หรือ 4.167 มิลลิลิตร ต่อนาที ในการหมักโดยใช้โดยใช้ตัวเซลล์พบว่าจะให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 3.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อใช้น้ำตาลเริ่มต้นเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตร และให้อัตราการเติมอาหารเท่ากับ 500 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง หรือ 8.33 มิลลิลิตรต่อนาที โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอลเทียบกับทฤษฎีเท่ากับ 30.6 % ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ในการใช้น้ำตาลเท่ากับ 81 % ตามลำดับ ในการผลิตโดยใช้ยีสต์ตรึงรูปพบว่า จะให้ค่ากำลังในการผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 3.5 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อใช้น้ำตาลเริ่มต้นเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตรและให้อัตราในการเติมอาหารเท่ากับ 500 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หรือ 8.33 มิลลิลิตรต่อนาที โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอลเทียบกับทฤษฎีเท่ากับ 31.2 % และให้ค่าเปอร์เซ็นต์ในการใช้น้ำตาลเท่ากับ 73.3 % ตามลำดับ

Alfenore, Jouve and Guillouet (2002) ทำการทดลองหมักเอทานอลแบบเฟดแบตช์ ในถังหมักขนาด 20 ลิตร โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* CBS8066 และใช้อาหาร Mineral Medium ที่มีกลูโคสเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณ 9 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอช เท่ากับ 4 ให้ความดันอากาศ 0.2 bar มีการให้อากาศ ด้วยอัตราเร็ว 0.2 vvm. กวนด้วยความเร็ว 400 รอบต่อนาที ใช้กลูโคสความเข้มข้น 700 กรัมต่อลิตร เป็นอาหารสำหรับเติม (Feed) และมีการเติมวิตามินผสมลงไป 3 วิธี คือ 1) เติมวิตามินผสมในช่วงเริ่มต้นการหมัก (Initial) ที่ความเข้มข้นระดับ α (เมื่อ α คือ วิตามินผสม ที่ประกอบด้วย Pantothenic Acid 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Nicotinic Acid 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Meso-Inositol 125 มิลลิกรัมต่อลิตร Thiamine 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Pyridoxine 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Para-Aminobenzoic 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) 2) เติมวิตามินผสมในช่วงเริ่มต้นการหมัก (Initial) ที่ความเข้มข้นระดับ 2.15α 3) เติมวิตามินผสมในช่วงที่ยีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็ว (Exponential) ที่ความเข้มข้นระดับ 2.15α พบว่าการเติมวิตามินผสมทั้ง 3 วิธี จะให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 126 กรัมต่อลิตร 135 กรัมต่อลิตร และ 147 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แล้วพบว่าการเติมวิตามินผสมในช่วงที่ยีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็ว ที่ความเข้มข้นระดับ 2.15α จะให้อัตราการผลิตเอทานอลสูงสุดคือ 9.5 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง การเพิ่มปริมาณวิตามินและการให้วิตามินในช่วงที่ยีสต์มีการเจริญจะช่วยชะลอการตายของเชื้อยีสต์ได้ และยังช่วยเพิ่มการเจริญ เพิ่มค่าอัตราการผลิตเอทานอลได้อีกด้วย

Cruz, Batistote and Ernandes (2002) ทำการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีองค์ประกอบที่ซับซ้อน ต่อการกระตุ้นการเจริญและการหมักของยีสต์ โดยทำการเลี้ยงยีสต์ Baking Yeast และ Brewing Yeast ในอาหาร YNB ที่มีน้ำตาลอยู่ 2 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลมอลโตส (Maltose) ที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 15 % (w/v) และมีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงไป 3 ชนิดได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต คาสมิโนแอซิด (Casamino Acid) และ เปปโตน (Peptone) ที่ระดับความเข้มข้น1 % (w/v) ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที นาน 72 ชั่วโมง พบว่าน้ำตาลที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (2 % (w/v)) จะทำให้เกิดสภาวะ Diauxie การเจริญของยีสต์ และการผลิตเอทานอลจะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของการใช้แหล่งไนโตรเจนของยีสต์ Baking Yeast และ Brewing Yeast ซึ่งในภาวะที่น้ำตาลมีความเข้มข้นต่ำการผลิตเซลล์ยีสต์จะคล้ายคลึงกัน เมื่อใช้ เปปโตน และ คาสมิโนแอซิด เป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้ยังพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูง (15 % (w/v)) พบว่า เวลาของการหมักจะเพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณเซลล์ยีสต์จะลดต่ำลง นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าใช้ แอมโมเนียมซัลเฟต เป็น

แหล่งไนโตรเจนจะไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล ซึ่งโดยทั่วไปแล้วการใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีลักษณะโครงสร้างเป็น Peptide Form เช่น เปปโตน จะส่งผลดีต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ ซึ่งจะช่วยเพิ่มปริมาณเซลล์ เพิ่มผลผลิตเอทานอล และเพิ่มการรอดชีวิตของยีสต์ได้ ทั้ง Baking Yeast และ Brewing Yeast

Cruz, Batistote and Ernandes (2003) ทำการศึกษาผลของการสลายน้ำตาลต่อความสัมพันธ์กับแหล่งไนโตรเจนที่มีโครงสร้างซับซ้อน ต่อการเจริญของยีสต์และการหมัก โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ที่ใช้ในการทำขนมปัง (Baking Yeast) และยีสต์สายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ (Brewing Yeast) สองสายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ Ale A3 และ สายพันธุ์ Lager L52 ทำการหมักในฟลาสก์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที โดยมีการเติมแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต คาสามิโน แอซิด และ เปปโตน ลงไปปริมาณ 1 % (w/v) และใช้น้ำตาลกาแลคโตส (Galactose) เป็นแหล่งคาร์บอน ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที นาน 72 ชั่วโมง พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกาแลคโตสที่ความเข้มข้นต่ำ (2 % (w/v)) จะทำให้เกิดสภาวะ Diauxie คือใช้น้ำตาลการแลคโตสในช่วงแรกและใช้เอทานอลในช่วงหลังในการหมัก ไม่ว่าจะมีการเติมแหล่งไนโตรเจนใด ๆ ลงไปก็ตาม ส่วนการใช้น้ำตาลกาแลคโตสที่ความเข้มข้นสูง (15 % (w/v)) พบว่า ยีสต์จะมีการใช้น้ำตาลกาแลคโตสอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณน้ำหนักเซลล์และการผลิตเอทานอลนั้นจะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของแหล่งไนโตรเจน และความแตกต่างทางสายพันธุ์ของยีสต์ Baking Yeast และ Brewing Yeast โดยพบว่า Baking Yeast จะมีประสิทธิภาพในการหมักที่ดีขึ้น เมื่อใช้ คาสามิโน แอซิด เป็นแหล่งไนโตรเจน และค่าน้ำหนักของเซลล์จะมากขึ้นเมื่อใช้ peptone และ คาสามิโน แอซิด เป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับยีสต์สายพันธุ์ Ale Brewing Yeast เมื่อใช้คาสามิโน แอซิด เป็นแหล่งไนโตรเจนจะช่วยเพิ่มการผลิตเอทานอล สำหรับยีสต์สายพันธุ์ Lager Brewing Yeast พบว่าเมื่อใช้ Peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนจะช่วยเพิ่มค่าน้ำหนักเซลล์ และการผลิตเอทานอลได้ ส่วนการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต จะไม่ค่อยช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพของยีสต์ ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำตาลการแลคโตส ให้ผลที่แตกต่างจากการใช้น้ำตาลกลูโคส และมอลโตส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University