



## รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล  
เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน

โดย  
นางสาวฉัตรฉริกา ปะมาคะโม  
สาขาวิชาเคมี  
รหัสนักศึกษา 5940201103

## รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล  
เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน

PRODUCTION OF ETHANOL FROM SUGAR TOGETHER WITH MOLASSER  
AS AN ALTERNATIVE TO THE ETHANOL PRODUCTION OF THE FACTORY

นางสาวฉัตรฉริกา ปะมาคะโม

โครงการสหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

พ.ศ.2562

## กิตติกรรมประกาศ

การที่ข้าพเจ้าได้เข้ามาฝึกปฏิบัติงานในโครงการสหกิจศึกษาของมหาวิทยาลัยราชภัฏ นครราชสีมา ณ บริษัทไทยเอทานอลพาวเวอร์ จำกัด (มหาชน) ในแผนกควบคุมคุณภาพ ตั้งแต่วันที่ 18 พฤศจิกายน พ.ศ.2562 จนถึงวันที่ 6 มีนาคม พ.ศ.2563 ส่งผลให้ข้าพเจ้าได้รับความรู้และประสบการณ์ต่าง ๆ และการปรับตัวเข้ากับสังคม และผู้ร่วมงานในสถานประกอบการ ซึ่งนับเป็นประสบการณ์ที่มีค่าอย่างยิ่งสำหรับข้าพเจ้า รายงานสหกิจศึกษาฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับการช่วยเหลือและความอนุเคราะห์จากบุคลากรหลาย ๆ ฝ่าย ข้าพเจ้าในฐานะผู้จัดทำรายงาน ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับบุคคลต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ นางสาวจันทร์พิมพ์ แซ่ก้วย หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ และเจ้าหน้าที่ในแผนกควบคุมคุณภาพทุก ๆ ท่านที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวคิดที่เป็นประโยชน์ ชี้แนะแนวทางการความรู้และแนวทางแก้ไขปัญหาต่าง ๆ เป็นอย่างดีตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรารุช ธนะมูล อาจารย์นิเทศสหกิจศึกษา รวมไปถึงคณาจารย์สาขาวิชาเคมี และคณะกรรมการสหกิจศึกษาของมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมาทุกท่าน ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลืออย่างดียิ่งในปฏิบัติการ ตลอดจนตรวจสอบความถูกต้องของการเขียนเล่มรายงาน ขอขอบพระคุณครอบครัวและเพื่อน ๆ ทุกคนที่ให้การสนับสนุนและให้กำลังใจในการแก้ไขปัญหาลดอดมา จนทำให้ประสบความสำเร็จลงด้วยดี

ฉัตรฉริกา ปะมาคะโม

หัวข้อรายงาน	การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน
ผู้จัดทำ	นางสาวฉัตรฉริกา ปะมาคะโม รหัสนักศึกษา 5940201103
สาขาวิชา	เคมี
คณะที่ศึกษา	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
อาจารย์นิเทศ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราวุธ ณะมูล
พนักงานที่ปรึกษา	นางสาวจันทร์พิมพ์ แซ่ก้วย

### บทคัดย่อ

การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล 2 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกับกากน้ำตาล (20 : 80 และ 30 : 70) และความเข้มข้นของน้ำตาล (14 ถึง 20) ผลที่ได้จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาลที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการทดลอง คือ ที่อัตราส่วน 30:70 ที่ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx มีค่า เปอร์เซ็นต์เอทานอล เท่ากับ 6.75, 7.76, 8.74 และ 10.10 ตามลำดับ ซึ่งมีค่า Reducing sugar เท่ากับ 0.2500, 0.2500, 0.2450 และ 0.2083 ตามลำดับ และเวลาที่ใช้ในการทดลอง 168 ชั่วโมง

**REPORT TITLE** PRODUCTION OF ETHANOL FROM SUGAR TOGETHER WITH  
MOLASSER AS AN ALTERNATIVE TO THE ETHANOL PRODUCTION  
OF THE FACTORY

**BY** MISS CHATCHARIKA PAMACAMO 5940201103

**SUBJECT** CHEMISTRY

**FACULTY** SCIENCE AND TECHNOLOGY

**PROFESSOR** ASSISTANT PROFESSOR DR.VARAVUT TANAMOOL

**ADVISOR** MISS CHANPIM SAE-KUAI

### **ABSTRACT**

Production of ethanol from sugar together with molasses As an alternative to the ethanol production of the factory was applied with 2 affected factors including The ratio between sugar and molasses (20 : 80 to 30 : 70) and sugar concentration (14 to 20), respectively. The results demonstrated that Ethanol production from sugar fermentation with molasses was the most suitable condition from the experiment at the ratio of 30:70 at the sugar concentration of 14,16,18 and 20 Bx with the percentage of ethanol. The values of 6.75, 7.76, 8.74 and 10.10 respectively, were reduced to 0.2500, 0.2500, 0.2450 and 0.2083 respectively and the time used in the experiment was 168 hours.

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญในการทำงาน	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการปฏิบัติงาน	1
1.3 ขอบเขตของการทำงาน	2
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการปฏิบัติงาน	2
บทที่ 2 การทบทวนเอกสารหรืองานวิจัย	
2.1 กากน้ำตาล (molasses)	3
2.2 เอทานอล	4
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล	8
2.4 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	9
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินงาน	
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	13
3.2 วัสดุดิบและสารเคมี	13
3.3 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน	14
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 ผลการศึกษาผลผลิตเอทานอล	16
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	
5.1 สรุปผลการทดลอง	20
บรรณานุกรม	21
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก วิธีการเตรียมสารละลาย	24

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 ตารางผลการทดลองที่อัตราส่วนที่ 30:70	16
ตารางที่ 4.2 ตารางผลการทดลองที่อัตราส่วนที่ 20:80	17

## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาล กับ %Ethanol ที่อัตราส่วน 20:80	18
รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาล กับ %Ethanol ที่อัตราส่วน 30:70	19



# บทที่ 1

## บทนำ

ชื่อสถานประกอบการ	บริษัทไทยเอทานอล พาวเวอร์ จำกัด (มหาชน) ตั้งอยู่เลขที่ 88 หมู่ที่ 6 ถนนมิตรภาพ ตำบลโนนศิลา อำเภอโนนศิลา จังหวัดขอนแก่น 40110
ลักษณะการประกอบการ	ผลิตเอทานอลบริสุทธิ์ 99.5%
ตำแหน่งงานที่ได้รับมอบหมาย	นักศึกษาฝึกงานแผนกควบคุมคุณภาพ
พนักงานที่ปรึกษา	นางสาวจันทร์พิมพ์ แซ่ก้วย หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญในการทำงาน

เอทานอล (Ethanol) เป็นสารแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยมีเอทิลีนเป็นวัตถุดิบหรือผลิตโดยกระบวนการทางชีวเคมี คือ การนำพืชผลทางการเกษตรจำพวกแป้งและน้ำตาล เช่น มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวฟ่างหวาน อ้อย กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ และผ่านกระบวนการย่อยสลายและหมัก เปลี่ยนจากแป้งและน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ แอลกอฮอล์ดังกล่าวนี้เรียกว่า เอทานอล หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ติดไฟง่าย มีความไวไฟและค่าออกเทนสูง สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย อาทิ ใช้ผลิตอาหาร และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม รวมถึงใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันเบนซินหรือใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงในเครื่องยนต์เบนซิน

ปัจจุบันมันสำปะหลังซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเอทานอลของโรงงานค่อนข้างขาดแคลนเนื่องจากเกิดปัญหาภัยแล้งและปัญหาทางเศรษฐกิจที่ส่งผลให้ราคาของมันสำปะหลังตกต่ำ จากเหตุผลดังกล่าวกลุ่มผู้วิจัยจึงสนใจนำน้ำตาลทรายดิบและกากน้ำตาลมาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตเอทานอล เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน โดยมีปัจจัยในการทดลองครั้งนี้ คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลทรายดิบกับกากน้ำตาล ความเข้มข้นของน้ำตาล และเวลาในการหมักเอทานอล

### 1.2 วัตถุประสงค์ของการปฏิบัติงาน

เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอีกหนึ่งทางเลือก เมื่อวัตถุดิบประเภทมันสำปะหลังขาดแคลนและมีราคาสูง

### 1.3 ขอบเขตของการทำงาน

3.1 การปฏิบัติงานในครั้งนี้ ได้ดำเนินงานในแผนกควบคุมคุณภาพ บริษัทไทยเอทานอล พาวเวอร์ จำกัด (มหาชน) ตั้งแต่วันที่ 18 พฤศจิกายน พ.ศ.2562 จนถึงวันที่ 6 มีนาคม พ.ศ.2563

3.2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกับกากน้ำตาล ความเข้มข้นของน้ำตาล และเวลาในการหมักเอทานอล

### 1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการปฏิบัติงาน

4.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล

## บทที่ 2

### การทบทวนเอกสารหรืองานวิจัย

#### 2.1 กากน้ำตาล (molasses)

- molasses เป็นคำที่มาจากรากศัพท์ภาษาละติน คือ mel
- mel มีความหมายเช่นเดียวกับคำว่า honey หรือหมายถึง น้ำผึ้ง
- mel ถูกปรับเปลี่ยนด้วยภาษาสเปน ไปเป็นคำว่า malaza
- malaza หมายถึง crude-honeylike substance ในภาษาฝรั่งเศส หรือคำว่า melasse ซึ่งใช้ในภาษาเยอรมันและดัชต์ด้วย
- สุดท้าย malaza มีการพัฒนาทางภาษากลายเป็นคำว่า molasses



รูปที่ 2.1 กากน้ำตาล

ที่มา : <https://sistacafe.com/summaries/3079>

กากน้ำตาล (molasses) เป็นของเหลวที่มีลักษณะหนืดข้น มีสีดำอมน้ำตาล ซึ่งเป็นผลผลิตอย่างหนึ่งในกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย โดยมีอ้อยเป็นวัตถุดิบ กากน้ำตาลนี้ จะแยกออกจากกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายในขั้นตอนสุดท้าย ด้วยการแยกออกจากเกล็ดน้ำตาลโดยวิธีการปั่น (Centrifuge) ซึ่งไม่สามารถตกผลึกเป็นเกล็ดน้ำตาลได้ด้วยวิธีทั่วไป และไม่นำกลับมาใช้ผลิตน้ำตาลทรายอีก (<https://puechkaset.com/กากน้ำตาล>)

##### 2.1.1 ชนิดกากน้ำตาล

2.1.1.1 black-strap molasses กากน้ำตาลจากผลพลอยได้การผลิตน้ำตาลทรายขาว เรียกกากน้ำตาลชนิดนี้ว่า black-strap molasses เป็นกากน้ำตาลเหนียวข้นที่มีสีดำอมน้ำตาล จะมีปริมาณน้ำตาลประมาณ 50 – 60%

2.1.1.2 refinery molasses กากน้ำตาลจากผลพลอยได้การผลิตน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ เรียกกากน้ำตาลชนิดนี้ว่า refinery molasses เป็นกากน้ำตาลที่เข้มข้นน้อยกว่า และมีสีจางกว่าชนิด black-strap molasses จะมีปริมาณน้ำตาลอยู่ประมาณร้อยละ 48

2.1.1.3 invert molasses กากน้ำตาลจากการผลิตโดยตรง หรือที่เรียกว่า invert molasses เป็นกากน้ำตาลที่ผลิตได้จากการนำน้ำตาลอ้อยมาระเหยเข้มข้น มีน้ำตาลประมาณร้อยละ 77

## 2.1.2 ประโยชน์กากน้ำตาล

2.1.2.1 กากน้ำตาล ใช้เป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตเอทานอล เพื่อใช้เป็นส่วนผสมของ น้ำมันเบนซิน 91 หรือ 95 หรือที่เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ ทั้งนี้ กากน้ำตาลปริมาณ 1 ตัน จะผลิตเอทานอลได้ประมาณ 250 ลิตร

2.1.2.2 กากน้ำตาลถูกใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์และสุรา อุตสาหกรรมผลิตกรดมะนาวและกรดแลคติก อุตสาหกรรมผลิตเครื่องปรุงรส อุตสาหกรรมผลิตยีสต์และขนมปัง และอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์

2.1.2.3 กากน้ำตาลใช้เป็นส่วนผสมของหมัก หรือใช้ผสมในอาหารชั้น เพื่อเพิ่มแหล่งคาร์โบไฮเดรต และเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยกระตุ้นการหมักให้เกิดรวดเร็วมากขึ้น เพราะช่วยเพิ่มปริมาณแบคทีเรียผลิตกรด นอกจากนี้ ยังช่วยปรับปรุงรสของอาหารหยาบ และส่งเสริมการเติบโตของแบคทีเรียใน กระเพาะ

2.1.2.4 กากน้ำตาลใช้เป็นส่วนผสมของปุ๋ยหมักหรือสารปรับปรุงดิน เพราะในกากน้ำตาลมีธาตุอาหารที่ครบถ้วน

2.1.2.5 กากน้ำตาลใช้เป็นส่วนผสมของน้ำหมักชีวภาพ เป็นแหล่งอาหารสำคัญเพื่อให้จุลินทรีย์ผลิตกรดเตบิโต และช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทางธาตุอาหาร และกลิ่นของน้ำหมัก

2.1.2.6 กากน้ำตาลเป็นผลพลอยได้ที่สร้างรายได้ให้แก่อุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล ด้วยการส่งจำหน่ายยังต่างประเทศเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ทั้งในอุตสาหกรรม และการเกษตร โดยส่งออกเป็นอันดับ 2 ของโลก รองจากประเทศบราซิล เพราะบราซิลเป็นประเทศผลิตน้ำตาลอันดับแรกของโลก

## 2.2 เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ สูตร  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  สามารถผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี และกระบวนการหมักวัตถุดิบจำพวกแป้ง และน้ำตาลด้วยจุลินทรีย์ นิยมนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตสารเคมีอื่น ๆ หรือนำมาใช้ประโยชน์โดยตรง เช่น ใช้เป็นตัวทำละลาย เครื่องดื่ม และเชื้อเพลิง เป็นต้น

### 2.2.1 ลักษณะเฉพาะ

สถานะ : ของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยง่าย และมีกลิ่นเฉพาะตัว

สูตร :  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

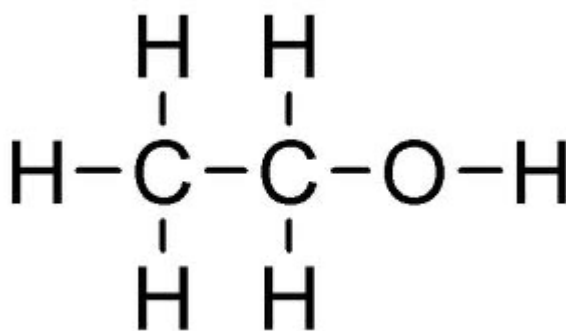
น้ำหนักโมเลกุล : 46.07 กรัม/โมล

จุดเยือกแข็ง :  $-114.1$  องศาเซลเซียส

จุดเดือด :  $78.32$  องศาเซลเซียส

ความหนาแน่น :  $0.7893$  กรัม/มิลลิลิตร

การละลายน้ำ : ละลายได้ดีมาก



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเอทานอล

ที่มา : <http://share.psu.ac.th/blog/eng-biodiesel/21082>

ปัจจุบันแอลกอฮอล์ หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) หรือ เอทานอล (ETHANOL) มีบทบาทสำคัญ และเกี่ยวข้องกับ การดำเนินชีวิตประจำวันของมนุษย์ในทุกด้าน โดยเข้าไปเป็นองค์ประกอบหลักในสินค้าและผลิตภัณฑ์หลายชนิด ทั้งด้านอาหาร และยา นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังมีบทบาทสำคัญในกลุ่มธุรกิจพลังงาน โดยเป็นส่วนหนึ่งของน้ำมันเชื้อเพลิง ได้แก่ E10 E20 และ E85 เป็นต้น สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) ได้กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ของเอทานอล สำหรับใช้ในด้านต่าง ๆ ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

➤ กลุ่มที่ 1 เอทานอลใช้ทางด้านเภสัชกรรม (มอก. 640-2553 เล่ม 1) เป็นมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่ครอบคลุมเฉพาะแอลกอฮอล์ใช้ทางเภสัชกรรมเท่านั้น ซึ่งแอลกอฮอล์ในกลุ่มนี้มีความบริสุทธิ์สูง มีปริมาณสารปนเปื้อนต่ำ วัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของการผลิตยา และเวชภัณฑ์ โดยแอลกอฮอล์มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ดี ละลายน้ำได้ดี สามารถสกัดหรือดึงสารสำคัญออกจากวัตถุดิบเพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในยาบางชนิด นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค เหมาะสำหรับการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค เช่น แอลกอฮอล์ 70% อีกด้วย

➤ กลุ่ม 2 เอทานอลใช้ทางด้านอุตสาหกรรม (มอก. 640-2553 เล่ม 2) เป็นมาตรฐานผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมที่ครอบคลุมเฉพาะแอลกอฮอล์ใช้ทางอุตสาหกรรม ซึ่งแอลกอฮอล์ในกลุ่มนี้มีความบริสุทธิ์ ใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับผลิตสินค้า เช่น น้ำส้มสายชู ซอสปรุงรส เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และเป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง อย่างเช่น น้ำหอม สบู่ เป็นต้น

➤ กลุ่มที่ 3 เอทานอลใช้ทางด้านเชื้อเพลิง (มอก. 640-2553 เล่ม 3) เป็นมาตรฐานผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมที่ครอบคลุมเฉพาะแอลกอฮอล์ใช้ทางด้านเชื้อเพลิง ซึ่งแอลกอฮอล์ในกลุ่มนี้ให้ความสำคัญในเรื่องของปริมาณความเข้มข้นแอลกอฮอล์เป็นหลัก (ดีกรี) เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของแอลกอฮอล์มีส่วนสำคัญในการนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิง แอลกอฮอล์กลุ่มนี้จะมีสารปนเปื้อนจำนวนมาก ไม่เหมาะต้องการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา

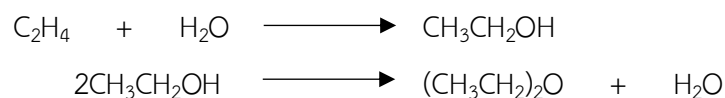
ความสำคัญของแอลกอฮอล์ นอกจากใช้ทางด้านเภสัชกรรม อุตสาหกรรม และเชื้อเพลิง ดังที่กล่าวข้างต้นแล้ว ยังพบมีการนำไปใช้ในงานวิจัยและพัฒนา (Research and development) เช่น ด้านไบโอเทคโนโลยี นำไปใช้เป็นสารสกัดพืชสมุนไพร ด้านอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ นำไปใช้ทำความสะอาดวงจรอิเล็กทรอนิกส์ ด้านห้องปฏิบัติการ นำไปใช้เป็นสารละลาย สารมาตรฐาน และด้วยแอลกอฮอล์ยังมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค เช่น แอลกอฮอล์ 70% จึงได้รับความนิยมนำไปใช้ทำความสะอาดอุปกรณ์และเครื่องมือเครื่องจักรในการผลิต

(<http://www.liquor.or.th/aic/detail/ความสำคัญของแอลกอฮอล์>)

## 2.2.2 กระบวนการผลิต

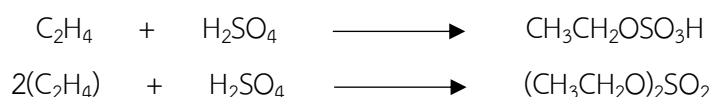
### 2.2.2.1 การสังเคราะห์

การสังเคราะห์เอทานอลสามารถสังเคราะห์ได้จากเอทิลีน ( $C_2H_4$ ) ด้วย 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 คือ ไตรเอทิลไฮเดรชันเอทิลีน ด้วยการทำปฏิกิริยาของเอทิลีนกับไอน้ำที่ความเข้มข้นเท่ากันที่ความดัน 5-8 เมกกะพาสกาล อุณหภูมิ 250-300 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา คือ กรดฟอสฟอริก-ซิลิกาเจล และทังสแตนออกไซด์-ซิลิกาเจล ทำให้ได้แอลกอฮอล์เข้มข้น 10-25% ดังสมการ

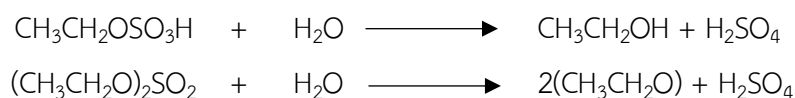


วิธีที่ 2 คือ อินไดเรคไฮเดรชันเอทิลีน โดยขั้นแรกใช้เอทิลีนความบริสุทธิ์ 35-95% ทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถันทำให้ได้เอทานอลความเข้มข้นไม่เกิน 35%

ดังสมการ



ขั้นที่ 2 การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเอทิลซัลเฟตใน 2 แบบ จนได้เอทานอล

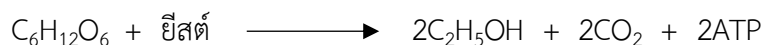


การสังเคราะห์วิธีนี้สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้ 50-60% ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ทั้งนี้ วิธีการผลิตเอทานอลด้วยการสังเคราะห์นี้ปัจจุบันไม่ได้รับความนิยมเนื่องจากมีต้นทุนสูง และไม่คุ้มค่ากับการลงทุน

### 2.2.2.2 การหมักของจุลินทรีย์

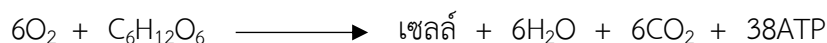
เป็นวิธีการดั้งเดิม และนิยมใช้ในการผลิตเอทานอลในปัจจุบัน เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ กระบวนการไม่ยุ่งยากซับซ้อน และสามารถหาวัตถุดิบในการผลิตได้ง่าย วัตถุดิบเหล่านี้ที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ มันสำปะหลัง อ้อย ข้าวโพด และกากน้ำตาล

การผลิตเอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ เป็นกระบวนการหมักโดยใช้ยีสต์ที่ผลิตแอลกอฮอล์หมัก วัตถุดิบจำพวกแป้ง น้ำตาล และเซลลูโลส ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 10-15% ภายใต้ภาวะไร้อากาศ และผ่ากระบวนการกลั่นเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์บริสุทธิ์



จากสมการจะใช้กลูโคส 1 กรัม สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 0.511 กรัม คาร์บอนไดออกไซด์ 0.489 กรัม ทั้งนี้ ในสภาวะความเป็นจริงจะเกิดแอลกอฮอล์น้อยกว่า 0.511 กรัม เนื่องจากยีสต์จะนำน้ำตาลบางส่วนมาใช้สำหรับการเจริญเติบโต และเปลี่ยนเป็นสารอื่นๆ เช่น กลีเซอรอล และซันนิเทค เป็นต้น

แต่หากมีออกซิเจน ยีสต์จะใช้น้ำตาลสำหรับการสังเคราะห์เซลล์ทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ



### 2.2.3 ยีสต์สำหรับการหมัก

การใช้ยีสต์สำหรับการหมักวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์จะขึ้นกับชนิดของคาร์โบไฮเดรตหรือวัตถุดิบที่ใช้ สำหรับการหมักวัตถุดิบประเภทแป้ง และน้ำตาลทั่วไปจะใช้ยีสต์จำพวก *Saccharomyces* sp. มีลักษณะเป็นรูปไข่ รูปทรงกลม หรือทรงกระบอก เช่น *S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. uvarum* เป็นต้น โดยทั่วไปนิยมใช้ *S. cerevisiae* เนื่องจากสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ดี ทนต่อความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงได้ (<https://www.siamchemi.com>)

#### 2.2.4 ลักษณะของยีสต์ที่ดี

- สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้สูง เหลือน้ำตาลน้อย
- ทนต่อฤทธิ์ของแอลกอฮอล์ได้ดี
- ทนต่อสภาวะ pH ต่ำ และเป็นกรดได้ดี
- สามารถรวมตัวกัน และตกตะกอนได้ดี
- ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย และทนต่อสภาวะต่าง ๆ ในการหมักได้ดี

#### 2.2.5 ประโยชน์ของเอทานอล

2.2.5.1 ใช้เป็นสารตั้งต้นหรือตัวทำละลาย เช่น การผลิตเครื่องสำอาง ยา น้ำหอม เป็นต้น

2.2.5.2 ใช้ผสมในเชื้อเพลิงเพื่อเพิ่มค่าออกเทน และลดปริมาณเชื้อเพลิงบางชนิด เช่น น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E10 (แอลกอฮอล์ 1 ส่วน น้ำมันเบนซิน 9 ส่วน) E20 (แอลกอฮอล์ 2 ส่วน น้ำมันเบนซิน 8 ส่วน)

2.2.5.3 เป็นส่วนผสมของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่าง ๆ

2.2.5.4 ใช้สำหรับการฆ่าเชื้อหรือล้างแผล เช่น แอลกอฮอล์ 75%

2.2.5.5 ใช้สำหรับการทำความสะอาด และฆ่าเชื้อในส่วนผสมของน้ำยาฆ่าเชื้อ

### 2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล

#### 2.3.1 สายพันธุ์ยีสต์

ปกติยีสต์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญต่ำกว่าแบคทีเรีย ซึ่งมีรายงานหลายฉบับกล่าวว่า ยีสต์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ในช่วง 30-35 °C (Banat et al., 1992)

#### 2.3.2 ชนิดและความเข้มข้นของสับสเตรท

สับสเตรทหรือแหล่งคาร์บอนมีความสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์และการผลิตเอทานอล การใช้สับสเตรทที่มีความเข้มข้นสูง ๆ ในการหมักเอทานอลมีผลช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ การใช้สับสเตรทความเข้มข้นสูง ๆ มีผลยับยั้งการเจริญและการหมักเอทานอล การยับยั้งส่วนหนึ่งเกิดจากแรงดันออสโมซิส ทำให้เซลล์เกิดพลาสโมไลซิสเมื่ออยู่ในน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 14 % โดยน้ำหนัก และมีผลยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลลดลง (สาวิตรี, 2540; Lachance, 1990; Panchal and Tavares; 1990)

#### 2.3.3 อุณหภูมิ

ยีสต์ในห้วงปฏิบัติการและในระดับอุตสาหกรรมเจริญได้ดีเมื่ออุณหภูมิอยู่ในช่วง 20-30 °C (Walker, 1998)



### 2.3.4 พีเอชเริ่มต้นของอาหาร

การปรับพีเอชของอาหารมีความสำคัญอย่างมากโดยเฉพาะการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากยีสต์เจริญได้ดีที่พีเอชระหว่าง 4.5-6.5 แต่การเจริญได้ดีในสถานะที่เป็นกรดหรือด่างขึ้นอยู่กับสปีชีส์ พีเอชของอาหารมีผลต่ออัตราการหมัก อีกทั้งมีบทบาทในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นอีกด้วย (Walker, 1998)

## 2.4 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

### 2.4.1 กล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 2. กล้องจุลทรรศน์

ที่มา : <https://www.sjgadget.com/product>

กล้องจุลทรรศน์แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แบบใช้แสงธรรมดาและแบบใช้แสงอิเล็กตรอน

2.4.1.1 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา (COMPOUND MICROSCOPE) แบ่งออกเป็น 2 ชนิดด้วยกัน คือ กล้องจุลทรรศน์อย่างง่ายหรือแว่นขยาย (Compound Microscope or Magnifying glass) ซึ่งใช้เพียงเลนส์นูนเพียงอันเดียวเป็นตัวช่วยในการขยายวัตถุให้ดูใหญ่ขึ้นและภาพที่ได้จะเป็นภาพเสมือน และ กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน (Compound Light Microscope) เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีระบบเลนส์ที่ทำหน้าที่ขยายภาพ 2 ชุดด้วยกัน คือ เลนส์ใกล้วัตถุ และเลนส์ใกล้ตา กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อนที่ใช้งานทั่วไปในห้องปฏิบัติการจะเป็นชนิด Light field Microscope หรือ Bright field Microscope หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้คือ เมื่อแสงไฟจากหลอดไฟเป็นแหล่งกำเนิดแสงจะถูกรวบรวมแสงโดย condenser lens ไปตกที่วัตถุที่วางบนแท่นวางวัตถุ (Specimen stage) จากนั้นเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) จะเป็นตัวขยายวัตถุให้ได้ภาพที่ใหญ่ขึ้นแล้วจะส่งต่อไปยัง เลนส์ใกล้ตา (ocular lens) เพื่อขยายภาพสุดท้าย

2.4.1.2 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้อิเล็กทรอนิกส์ เป็นเครื่องมือที่พัฒนามาจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา เหตุผลที่ทำให้ประสิทธิภาพของเครื่องมือนี้ขึ้นมาเนื่องจากว่า ประสิทธิภาพในการขยายภาพของกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแบบธรรมดาไม่สามารถศึกษารายละเอียดของโครงสร้างภายในของสิ่งมีชีวิตและสิ่งที่มีขนาดเล็กมาก ๆ อย่างเช่น ดีเอ็นเอ (Deoxyribo nucleic acid : DNA) ที่ไม่สามารถมองเห็นได้ (เนียรวรรณ มีเจริญ, 2561)

#### 2.4.2 เครื่อง DMA 4500 Density meter



รูปที่ 2. เครื่อง DMA 4500 Density meter

ที่มา : (<http://th.cnlifescientz.com/density-meter/dma-4500-m-density-meter.html>)

เครื่อง DMA 4500 Density meter ใช้ในการวิเคราะห์ % ethanol ที่ได้จากกระบวนการกลั่น คุณสมบัติกล้อง U-View™ จะแสดงและจัดเก็บภาพเคลื่อนไหวของเซ็นเซอร์ U-tube แบบสั่น และตัวอย่างทั้งหมดที่เต็มไปด้วยภาพที่เกี่ยวข้องกับตัวอย่างที่มองเห็นได้อย่างชัดเจนและชัดเจนจะถูกเก็บไว้ในหน่วยความจำข้อมูล การตรวจสอบภาพเหล่านี้ในภายหลังช่วยให้มั่นใจได้ว่ากระบวนการวัดที่สมบูรณ์ U-View™ และ FillingCheck™ มีคุณลักษณะการตรวจจับฟองอากาศแบบเรียลไทม์แบบอัตโนมัติช่วยควบคุมลำดับการวัดทั้งหมดและช่วยให้สามารถตรวจสอบผลลัพธ์ได้ในภายหลังซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งเมื่อใช้ระบบการสุ่มตัวอย่างอัตโนมัติ (<http://th.cnlifescientz.com/density-meter/dma-4500-m-density-meter.html>)

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Muhammad Arshad และคณะ (2017) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลในระดับเชิงพาณิชย์ โดยใช้เทคโนโลยีการหมักที่ความเข้มข้นน้ำตาลสูง โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ที่มีการกลายพันธุ์ ในการหมักเอทานอลที่ความเข้มข้นน้ำตาลสูง (VHG) ในระดับอุตสาหกรรม มีการประเมินผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมัก ที่ความเข้มข้น Brix° (32, 36 และ 40) และผลของอัตราการไหลของอากาศที่แตกต่างกัน (0.00, 0.20, 0.40 และ 0.60 vvm) จากการทดสอบพบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 12.2% (v / v) ที่สภาวะความเข้มข้นน้ำตาล 40 Brix° อัตราการไหลของอากาศ 0.2 vvm และที่ความเข้มข้นน้ำตาล 40 Brix° นั้นจะมีน้ำตาลที่เหลือจากการหมักแบบ VHG ประมาณ 12.5–18.5 g/L ในขณะที่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตสามารถอยู่นานถึง 50 ชั่วโมงของการหมักและมีปริมาณเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการหมัก นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ น้ำ และไอน้ำของกระบวนการหมักนั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของ Brix และอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอล จากการทดลองนี้พบว่าการหมักแบบ VHG ด้วยสภาวะการไหลของอากาศอย่างต่อเนื่อง เป็นเทคนิคที่สามารถใช้ลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลในระดับเชิงพาณิชย์ได้

Woranee Mungkalasiri และคณะ (2018) ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลทรายดิบในประเทศไทย เนื่องจากปัจจุบันอุตสาหกรรมมีความต้องการกากน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น ซึ่งกากน้ำตาลนับเป็นหนึ่งในวัตถุดิบหลักในการผลิตเอทานอลของประเทศไทย ทำให้ปัจจุบันมีการศึกษาถึงความเป็นไปได้ ในการนำน้ำตาลทรายดิบมาใช้เป็นวัตถุดิบทดแทนในการผลิตเอทานอล อย่างไรก็ตามแม้ว่าน้ำตาลทรายดิบจะมีปริมาณน้ำตาลและความบริสุทธิ์สูงกว่ากากน้ำตาล แต่จะเห็นได้ว่าราคาต้นทุนของน้ำตาลทรายดิบนั้นสูงกว่า ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการประเมินสัดส่วนที่เหมาะสมของน้ำตาลทรายดิบต่อกากน้ำตาลในการนำมาผลิตเอทานอล โดยพิจารณาจากมูลค่าของประสิทธิภาพการหมัก และวิเคราะห์อัตราส่วนของน้ำตาลทรายดิบต่อกากน้ำตาลจาก 0% : 100% ถึง 100% : 0% ผลการวิจัยพบว่าอัตราส่วนของน้ำตาลทรายดิบและกากน้ำตาล (ในการทดลองที่ 1) ที่อัตราส่วน 20% : 80% ได้ประสิทธิภาพการหมักสูงสุดที่ 82.71% และหากมีการเติมเอนไซม์ (การทดลองที่ 2) จะเพิ่มประสิทธิภาพการหมักให้เป็น 84.27% ที่อัตราส่วน 60% : 40% ยิ่งไปกว่านั้นการเพิ่มเอนไซม์และสารอาหาร (ทดลองที่ 3) จะทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการหมักเป็น 85.98% ในอัตราส่วน 80% : 20% ซึ่งผลลัพธ์เหล่านี้จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลทรายดิบที่มากขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการหมักเอทานอลดีขึ้น นอกจากนี้ผลทางเศรษฐกิจแสดงให้เห็นว่า อัตราส่วน 80% : 20% จากการทดลองที่ 3 สามารถให้ประสิทธิภาพการหมักสูงสุด และจากการใช้อัตราส่วน 20% : 80% พบว่าสามารถให้ผลลัพธ์ทางเศรษฐกิจที่ดีที่สุด (กำไร) และมีประสิทธิภาพการหมักสูง (ประมาณ 85%) ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อราคาน้ำตาลทรายดิบและกากน้ำตาลเปลี่ยนแปลงจะส่งผลให้การ

ทดลองที่ 3 เป็นสภาวะการหมักที่เหมาะสมกว่าการทดลองที่ 1 และการทดลองที่ 2 เนื่องจากการทดลองที่ 3 สามารถพิสูจน์ผลลัพธ์ทางเศรษฐกิจได้ดีที่สุด

AN Jayanti และคณะ (2019) ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากกากน้ำตาลด้วยยีสต์ (ผลของการปรับสภาพและอุณหภูมิการหมัก) พบว่าอุตสาหกรรมเอทานอลบางแห่งในอินโดนีเซียที่ใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลนั้นได้ผลผลิตที่น้อย ซึ่งงานวิจัยนี้จะศึกษาถึงปัจจัยของกากน้ำตาลและความผันผวนของอุณหภูมิในการผลิตเอทานอล โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกากน้ำตาลก่อนการบำบัดด้วย  $H_2SO_4$  และอุณหภูมิการหมักในการผลิตเอทานอลโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ใช้การออกแบบแบบแฟกทอเรียลบล็อกมี 2 ปัจจัย ปัจจัยแรกคือผลกระทบก่อนหมักในกากน้ำตาล (ที่มีและไม่มี การปรับสภาพก่อนการหมัก) และปัจจัยที่สอง คืออุณหภูมิของการหมัก ( $29\text{ }^{\circ}C$ ,  $32\text{ }^{\circ}C$  และ  $35\text{ }^{\circ}C$ ) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน หรือ ANOVA และดำเนินการต่อด้วยการทดสอบเพิ่มเติม Duncan Multiple Range Test หรือ HSD (ความแตกต่างที่สำคัญอย่างยิ่ง) ที่ระดับความแตกต่างที่ 5% ผลการศึกษาพบว่ากากน้ำตาลที่ปรับสภาพด้วย  $H_2SO_4$  ก่อนนำไปหมักด้วยอุณหภูมิของการหมักที่มีระดับความเชื่อมั่น 99.95% ( $\alpha = 0.05$ ) พบว่าการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลที่ได้รับการปรับสภาพด้วย  $H_2SO_4$  ก่อนนำไปหมักที่อุณหภูมิ  $32\text{ }^{\circ}C$  สามารถใช้น้ำตาลไป 10.9% บริกซ์ คิดเป็นน้ำตาลรวม 12.15% น้ำตาลรีดิวซ์ 57.21 g/L และได้เอทานอล 8.30% คิดเป็นผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 68.67%

Thapat Silalertruksa และคณะ (2015) ศึกษาการประเมินความยั่งยืนของการผลิตเอทานอลจากอ้อยและกากน้ำตาลในประเทศไทย โดยใช้ตัวบ่งชี้ที่มีประสิทธิภาพในเชิงนิเวศ ซึ่งการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการผลิตเอทานอลจากอ้อยและกากน้ำตาลในประเทศไทย โดยใช้ตัวบ่งชี้ความยั่งยืนทางสิ่งแวดล้อมและเศรษฐกิจรวมกันเรียกว่า "ประสิทธิภาพเชิงนิเวศเศรษฐกิจ" ประเมินสถานการณ์โรงกลั่นชีวภาพของโรงงานอ้อยสี่แห่งในประเทศไทย มูลค่าการส่งออกทั้งหมด (US \$) และการปล่อยก๊าซเรือนกระจกวงจรชีวิต (GHG) (กิโลกรัม  $CO_2eq$ ) ถูกเลือกเป็นตัวชี้วัดสำหรับการแสดงลักษณะเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อมตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าระบบการกลั่นชีวภาพที่ใช้ในเครื่องจักรกลทางการเกษตรร่วมกับการใช้ชานอ้อยเพื่อผลิตกระแสไฟฟ้านั้นมีประสิทธิภาพเชิงเศรษฐกิจนิเวศได้สูงสุด ซึ่งประโยชน์ที่ได้รับนั้นมาจากการเพิ่มมูลค่าของโรงกลั่นชีวภาพรวมถึงสามารถลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจกได้ เมื่อเปรียบเทียบกับสถานการณ์พื้นฐานพบว่าระบบใหม่นำเสนอผลลัพธ์ในการปรับปรุงประสิทธิภาพเศรษฐกิจเชิงนิเวศได้ประมาณ 20–70% จากแนวคิดโรงกลั่นชีวภาพก่อให้เกิดการลดการปล่อยก๊าซ GHG ประกอบกับเอทานอลจากกากน้ำตาลรวมถึงการผลิตและเก็บเกี่ยวอ้อยสี่เขียวยังช่วยลดการปล่อยก๊าซ GHG แบบการบูรณาการด้านการใช้ประโยชน์จากชีวมวลในโรงงานน้ำตาลจากอ้อยทั้งหมด ซึ่งจะช่วยเพิ่มความยั่งยืนของระบบการผลิตน้ำตาลจากอ้อยได้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงาน

#### 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.1 Density meter
- 3.1.2 Shaker incubator
- 3.1.3 Refractometer
- 3.1.4 pH meter
- 3.1.5 กล้องจุลทรรศน์
- 3.1.6 ชุดกลั่น
- 3.1.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง
- 3.1.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.1.9 ขวดรูปชมพู่ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- 3.1.10 ปีกเกอร์ ขนาด 50, 150, 600 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 3.1.11 กระจกบอขวด ขนาด 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 3.1.12 ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
- 3.1.13 หลอด Centrifuge
- 3.1.14 แท่งแก้วคนสาร

#### 3.2 วัสดุดิบและสารเคมี

- 3.2.1 ยีสต์
- 3.2.2 ยูเรีย
- 3.2.3 กากน้ำตาล
- 3.2.4 น้ำตาลทรายดิบ
- 3.2.5 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH)
- 3.2.6 ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein ;  $C_{20}H_{14}O_4$ )
- 3.2.7 คอปเปอร์ซัลเฟตเพนทาไฮเดรต (Copper (II) sulfate pentahydrate ;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )
- 3.2.8 โซเดียมไฮดรอกไซด์ + โพแทสเซียมทาร์เทต 4 ไฮเดรต (Sodium hydroxide ; NaOH + Potassium sodium tartrate 4-hydrate ;  $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$ )

### 3.3 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

#### 3.3.1 การเตรียมน้ำตาลและกากน้ำตาล

➤ การเตรียมตัวอย่าง Starter ที่ความเข้มข้นน้ำตาล เท่ากับ 10 Brix  
ชั่งน้ำตาลและกากน้ำตาลตามอัตราส่วน 20:80 และ 30:70 ตามลำดับ จากนั้นละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 ml และปรับความเข้มข้นสารละลายน้ำตาลให้ได้ความเข้มข้น เท่ากับ 10 Brix

➤ การเตรียมตัวอย่างในการหมัก ที่ความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Brix  
ชั่งน้ำตาลและกากน้ำตาลตามอัตราส่วน 20:80 และ 30:70 ตามลำดับ จากนั้นละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 2000 ml และปรับความเข้มข้นสารละลายน้ำตาลให้ได้ 14 Brix จากนั้น แบ่งตัวอย่างใส่ flask ขนาด 1000 ml ปริมาตร 540ml จำนวน 3 flask

หมายเหตุ : ที่ความเข้มข้นน้ำตาล 16,18 และ 20 Brix ทำเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างน้ำตาลเข้มข้น 14 Brix

#### 3.3.2 การฆ่าเชื้ออุปกรณ์และตัวอย่าง

➤ การฆ่าเชื้อตัวอย่างและ flask ก่อนทำการหมัก  
นำภาชนะที่จะใส่ตัวอย่างไปให้ความร้อนโดยการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที พักทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ขั้นตอนนี้ทำในขณะที่ยังไม่เติมยีสต์และUrea

➤ การฆ่าเชื้อขณะเก็บตัวอย่าง  
นำปิเปตแช่ด้วยเอทานอลจากนั้นนำไปผ่านความร้อนด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์แล้วทิ้งไว้ให้เย็นก่อนที่จะเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำภาชนะที่ใส่ตัวอย่างผ่านความร้อนด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ทั้ง ก่อนและหลังการเก็บตัวอย่าง

หมายเหตุ : ควรทำความสะอาดมือด้วยเอทานอล 70% ทุกครั้งก่อนทำการเก็บตัวอย่าง

#### 3.3.3 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อ (Starter)

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในข้อ 1 แบ่งใส่ flask ขนาด1000 ml ปริมาตร 300 ml จำนวน 3 flask จากนั้นใส่ยีสต์และUrea ปริมาณ 1.0 และ 0.5 กรัมตามลำดับ และเก็บตัวอย่างชั่วโมงเริ่มต้น (ชม.ที่ 0) จากนั้น นำตัวอย่างไปปั่นด้วย Shaker incubator ควบคุมอุณหภูมิที่ 32 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 200 rpm นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 8

#### 3.3.4 ขั้นตอนการหมัก

ถ่ายกล้าเชื้อ (starter) จากข้อ 3 ที่มีจำนวนเชื้อมากกว่า  $100 \times 10^6$  cell ด้วยวิธี Aseptic technique ใส่ flask ตัวอย่างสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ปริมาตร 60 ml เติม Urea ปริมาณ 0.5 กรัม จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและเก็บตัวอย่างชั่วโมงเริ่มต้น (ชม.ที่ 0) จากนั้นนำตัวอย่าง

ไปบ่มด้วย Shaker incubator ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 100 rpm นาน 72 ชั่วโมง เพื่อวัดค่า Brix และ นับ cell

หมายเหตุ : ทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 8 ชั่วโมง

### 3.3.5 การวิเคราะห์

ลำดับ	เครื่องมือ	Analysis	Method
1	Density meter	%Ethanol	ASTM D1217
2	Refractometer	%Brix	ASTM D4095-97
3	Shaker incubator	บ่มเชื้อ	ASTM E1296
4	pH meter	วัดค่ากรด-เบส	ASTM D6423
5	Microscope	นับ cell	ASTM E1951-14

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล 2 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกับกากน้ำตาล (20 : 80 และ 30 : 70) และความเข้มข้นของน้ำตาล (14 ถึง 20) ซึ่งการทดลองในครั้งนี้ใช้กากน้ำตาลและน้ำตาลทรายมาใช้ในการกระบวนการหมักเอทานอล โดยมีรายละเอียดดังนี้

#### 4.1 ผลการศึกษาผลผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล

##### 4.1.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล

การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด 2 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกับกากน้ำตาล (20 : 80 และ 30 : 70) และความเข้มข้นของน้ำตาล (14 ถึง 20) เมื่อสิ้นสุดกระบวนการทดลองผลผลิตเอทานอลที่ได้จะมีปริมาณแตกต่างกัน

แสดงให้เห็นว่า เอทานอลที่หมักได้มีผลผลิตอยู่ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาล 20 บริกซ์ ที่อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกับกากน้ำตาล 30 : 70 มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด คือ ร้อยละ 10.10 แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ตารางผลการทดลองอัตราส่วน 30:70 ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx

เวลา (ชม.)	ความเข้มข้นน้ำตาล 14 Brix			ความเข้มข้นน้ำตาล 16 Brix			ความเข้มข้นน้ำตาล 18 Brix			ความเข้มข้นน้ำตาล 20 Brix		
	Brix	Acidity	Ethanol	Brix	Acidity	Ethanol	Brix	Acidity	Ethanol	Brix	Acidity	Ethanol
24	9.8	23.00	3.63	11.0	19.80	3.87	13.0	24.40	4.15	14.0	25.60	4.59
48	7.4	12.00	5.30	8.4	11.40	5.61	10.0	18.20	6.46	11.0	28.60	6.89
72	6.0	11.20	5.98	6.8	11.00	6.61	8.0	14.40	7.60	9.0	22.80	8.26
80	5.4	11.20	6.34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	5.0	11.00	6.75	5.8	13.20	7.53	6.6	20.47	8.64	7.6	21.00	9.32
104	-	-	-	5.0	10.40	7.76	-	-	-	-	-	-
122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-	-	5.4	12.40	8.74	5.0	15.80	10.10

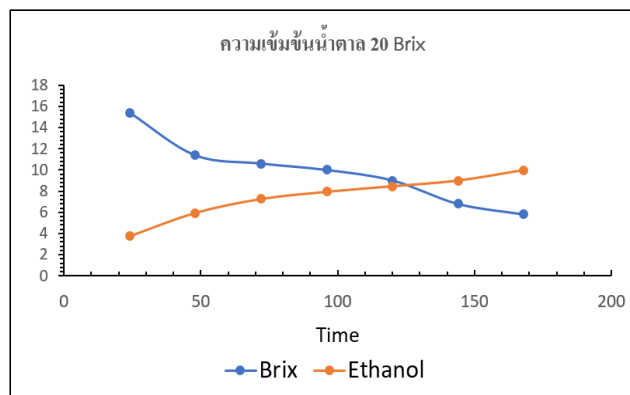
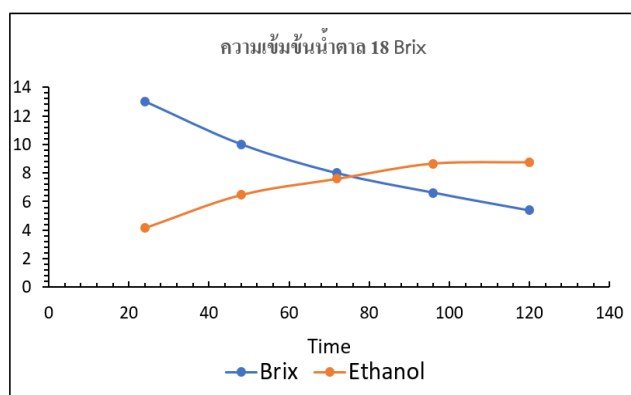
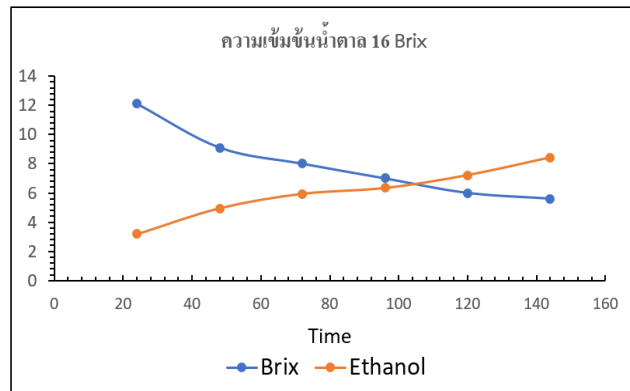
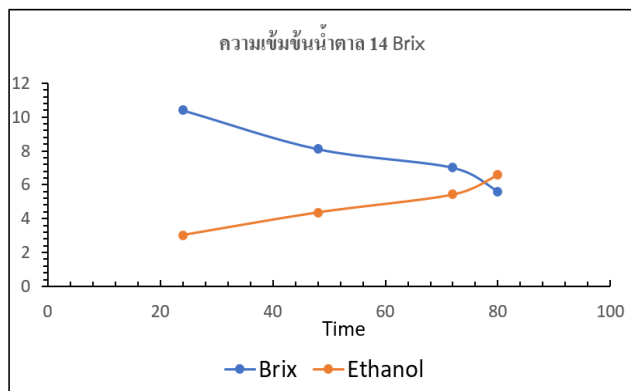


จากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วน 30:70 ใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 120 ชม. ที่ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx มีค่า เปอร์เซ็นต์เอทานอล เท่ากับ 6.75, 7.76, 8.74 และ 10.10 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ตารางผลการทดลองอัตราส่วน 20:80 ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx

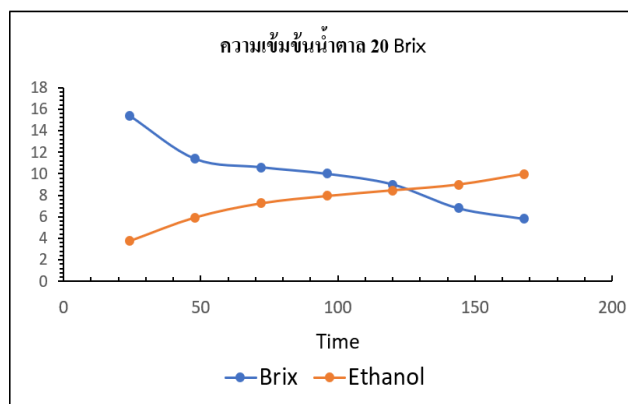
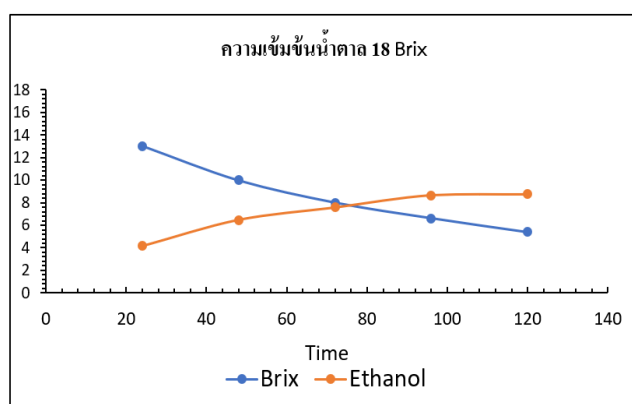
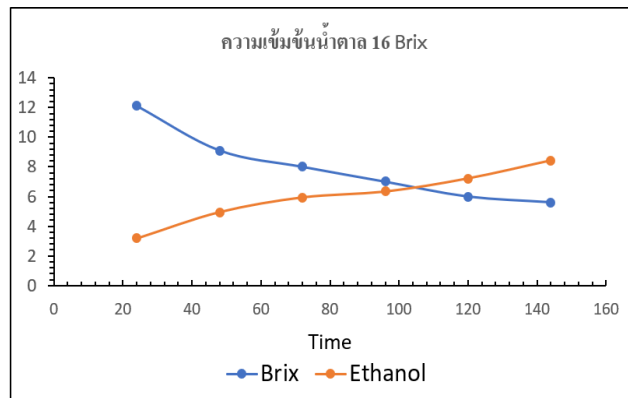
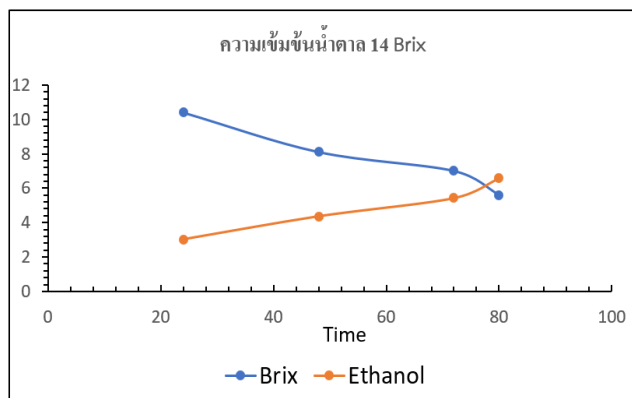
เวลา (ชม.)	ความเข้มข้นน้ำตาล 14 Brix			ความเข้มข้นน้ำตาล 16 Brix			ความเข้มข้นน้ำตาล 18 Brix			ความเข้มข้นน้ำตาล 20 Brix		
	Brix	Acidity	Ethanol	Brix	Acidity	Ethanol	Brix	Acidity	Ethanol	Brix	Acidity	Ethanol
24	10.4	28.60	3.01	12.1	37.00	3.18	14.0	38.00	3.36	15.4	37.20	3.73
48	8.1	15.60	4.36	9.1	20.20	4.94	10.4	18.80	6.21	11.4	23.40	5.93
72	7.0	18.40	5.44	8.0	19.60	5.93	9.6	20.60	6.62	10.6	21.60	7.27
80	5.6	17.40	6.57	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	-	-	-	7.0	17.40	6.36	9.0	18.00	7.27	10.0	25.00	7.95
120	-	-	-	6.0	16.20	7.22	8.0	21.22	7.79	9.0	23.80	8.45
144	-	-	-	5.6	12.90	8.42	6.8	20.20	8.51	6.8	23.80	8.98
168	-	-	-	-	-	-	5.4	23.00	9.34	5.8	23.40	9.99

จากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วน 20:80 ใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 168 ชม. ที่ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx มีค่า เปอร์เซ็นต์เอทานอล เท่ากับ 6.57, 8.42, 9.34 และ 9.99 ตามลำดับ



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Brix ตามลำดับ กับ %Ethanol ที่อัตราส่วน 20:80

จากรูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Brix ตามลำดับ กับ %Ethanol ที่อัตราส่วน 20:80 พบว่าเมื่อเวลาในการหมักเอทานอลเพิ่มขึ้น %Ethanol ก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย แต่ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลจะแปรผกผัน โดยความเข้มข้นของน้ำตาลจะลดลงเรื่อย ๆ จนสิ้นสุดอยู่ที่ 5 Brix



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Brix ตามลำดับ กับ %Ethanol ที่อัตราส่วน 30:70

จากรูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Brix ตามลำดับ กับ %Ethanol ที่อัตราส่วน 30:70 พบว่าเมื่อเวลาในการหมักเอทานอลเพิ่มขึ้น %Ethanol ก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย แต่ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลจะแปรผกผัน โดยความเข้มข้นของน้ำตาลจะลดลงเรื่อย ๆ จนสิ้นสุดอยู่ที่ 5 Brix

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาล เพื่อเป็นทางเลือกเสริมในการผลิตเอทานอลของโรงงาน โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล 2 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกับกากน้ำตาล (20 : 80 และ 30 : 70) และความเข้มข้นของน้ำตาล (14 ถึง 20) ซึ่งการทดลองในครั้งนี้ใช้กากน้ำตาลและน้ำตาลทรายมาใช้ในการหมักเอทานอล

จากการทดลองการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลร่วมกับกากน้ำตาลพบว่า ที่อัตราส่วน 20:80 ใช้เวลาในการหมัก 168 ชม. และที่อัตราส่วน 30:70 ใช้เวลาในการหมัก 120 ชม. เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จะทำการหาค่า Reducing sugar ในแต่ละความเข้มข้นของน้ำตาล ซึ่งผลการทดลองที่ได้คือ ที่อัตราส่วน 20:80 ที่ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx มีค่า Reducing sugar เท่ากับ 0.7630, 0.9028, 0.4310 และ 0.00 ตามลำดับ และที่อัตราส่วน 30:70 ที่ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx มีค่า Reducing sugar เท่ากับ 0.2500, 0.2500, 0.2450 และ 0.2083 ตามลำดับ และจากการทดลองหาเปอร์เซ็นต์เอทานอล ซึ่งผลการทดลองที่ได้คือ ที่อัตราส่วน 20:80 ที่ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx มีค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอล เท่ากับ 6.57, 8.42, 9.34 และ 9.99 ตามลำดับ และที่อัตราส่วน 30:70 ที่ค่าความเข้มข้นน้ำตาล 14,16,18 และ 20 Bx มีค่าเปอร์เซ็นต์เอทานอล เท่ากับ 6.75, 7.76, 8.74 และ 10.10 ตามลำดับ ดังนั้น จากผลที่ได้จากการทดลองพบว่า ที่อัตราส่วน 30:70 ได้ค่า เปอร์เซ็นต์เอทานอลที่เป็นไปตามทฤษฎี จึงสามารถสรุปได้ว่า ที่อัตราส่วน 30:70 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตเอทานอลสำหรับการทดลองในครั้งนี้

## บรรณานุกรม

- ณัฐธิดา เชียงจิ่ง. (2554). ผลของการใช้กากน้ำตาลและวินัสต่อสมบัติทางเคมีของกระถินหมักเพื่อเป็นอาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- บุญเทียม พันธุ์เพ็ง(2523). การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์เพื่อหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลและน้ำอ้อย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปริญญาค์ วงศ์ปราชญ์. (2547). การปรับปรุงการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อยโดย *Saccharomyces cerevisiae* SKP1 ในการเลี้ยงเชื้อแบบ เฟด-แบตช์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. *Saccharomyces cerevisiae*. ค้นเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2563, จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1509/saccharomyces-cerevisiae>.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. *Sucrose / น้ำตาลซูโครส*. ค้นเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2563, จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0978/sucrose->
- วิราวรรณ สายชล และ นพพล เล็กสวัสดิ์. (2016). เอนไซม์อินเวอร์เทส. สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- อภิขญา จันทร์มัน และ กิตติพงษ์ รัตนาภรณ์. (2015). การหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces Sc90* และการหมักด้วยจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ร่วมกัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD. Kasetsart University, Bangkok.
- Agustin Wardani. (2019). *Bioethanol production from sugarcane molasses by instant dry yeast (effect of pretreatment and fermentation temperature)*. Earth and Environmental Science.
- Jitti Mungkalasiri. (2018). *Optimization of Bioethanol Production from Raw Sugar in Thailand*. Thammasat University. 57-66
- puechkaset. (2017) กากน้ำตาล ประโยชน์ และวิธีทำกากน้ำตาล. ค้นเมื่อ 26 มกราคม 2563, จาก <https://puechkaset.com>

- MuhammadArshad and TariqHussain. (2017). **Enhanced ethanol production at commercial scale from molasses using high gravity technology by mutant *S. cerevisiae***. Brazilian Journal of Microbiology. 403-409
- Thapat Silalertruksa. (2015). **Sustainability assessment of sugarcane biorefinery and molasses ethanol production in Thailand using eco-efficiency indicator**. Applied Energy.

ภาคผนวก

**ภาคผนวก ก**  
**วิธีการเตรียมสารละลาย**

1. การเตรียม 0.1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad \frac{g}{MW} &= \frac{NV}{1000} \\ g &= \frac{0.1 \times 500 \times 40}{1000} \\ g &= 2 \text{ g} \end{aligned}$$

**วิธีการเตรียม**

➤ ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม จากนั้นนำมาละลายน้ำแล้วปรับปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะได้ 0.1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

2. การเตรียม 1% ฟีนอล์ฟทาลีน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

**วิธีการเตรียม**

➤ ชั่งฟีนอล์ฟทาลีน 5 กรัม จากนั้นนำมาละลายใน 95% เอทานอลปรับปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะได้ 1% ฟีนอล์ฟทาลีน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

3. การเตรียมคอปเปอร์ซัลเฟตเพนทาไฮเดรต ปริมาตร 2000 มิลลิลิตร

**วิธีการเตรียม**

➤ ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟตเพนทาไฮเดรต 138.556 กรัม จากนั้นนำมาละลายน้ำแล้วปรับปริมาตร 2000 มิลลิลิตร จะได้คอปเปอร์ซัลเฟตเพนทาไฮเดรต 2000 มิลลิลิตร

4. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ + โพแทสเซียมทาร์เทต 4 ไฮเดรต ปริมาตร 2000 มิลลิลิตร

**วิธีการเตรียม**

➤ ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 กรัม และชั่งโพแทสเซียมทาร์เทต 4 ไฮเดรต 692 กรัม จากนั้นนำสารทั้งสองชนิดมาละลายน้ำผสมกันปั่นด้วย Magnetic bar แล้วปรับปริมาตร 2000 มิลลิลิตร จะได้โซเดียมไฮดรอกไซด์ + โพแทสเซียมทาร์เทต 4 ไฮเดรต ปริมาตร 2000 มิลลิลิตร