ผลของการเติมโอการะอบแห้งเพื่อทดแทนโปรตีนจากยีสต์สกัดในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล

Effect of Addition of Dried Okara for Replacement of Protein from Yeast Extract for Ethanol Production from Sugar Cane Molasses

กัณฐวุฒิ บุญมี

Kanthawut Boonmee

อาจารย์ประจำ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต
ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000
Lecturer in Master of Science (Biotechnology) of Biotechnology Faculty, Rangsit University,
Phahonyothin Rd., Lak-hok, Patumtanee, Thailand 12000
E mail: Kanthawut.b@rsu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการเติมกากถั่วเหลือง (โอการะ) อบแห้งเพื่อทดแทนโปรตีนจากยีสต์สกัดในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งโอการะที่ 30, 32, 34 และ 36 ชั่วโมง อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งโอการะคือ 32 ชั่วโมง เนื่องจากมีปริมาณความชื้นไม่เกินมาตรฐาน และเก็บรักษาโอการะอบแห้งที่อุณหภูมิห้องได้ 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการศึกษาผลของการเติมโอการะอบแห้งในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลโดย *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ SC-90 ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ในกากน้ำตาลเจือจางปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 165 กรัมต่อลิตร ที่มีกล้าเชื้อร้อยละ 10 ของน้ำหมัก (%v/v) และทำการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมสภาวะในการหมักที่พีเอช 4.5 อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาระดับการเติมโอการะอบแห้ง 2 ระดับคือ ร้อยละ 0.0 และ 7.5 (%w/v) เปรียบเทียบกับการเติมยีสต์สกัดร้อยละ 0.2 (%w/v) เป็นตัวอย่างควบคุม ทำการหมักเป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าการเติมโอการะร้อยละ 7.5 (%w/v) มีค่า Fermentation Efficiency เท่ากับร้อยละ 98.41 สูงกว่าการเติมยีสต์สกัดร้อยละ 0.2 (%w/v) มีค่าเท่ากับร้อยละ 97.27 ดังนั้นการเติมโอการะร้อยละ 7.5 (%w/v) จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล โดยใช้เวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง มีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 71.49 กรัมต่อลิตร, และค่าผลได้ของเอทานอลต่อน้ำตาลเท่ากับ 0.50 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ไป การผลิตเอทานอลจากโอการะอบแห้งมีต้นทุนถูกกว่าการใช้ยีสต์สกัด จึงมีความเป็นไปได้ในการนำโอการะอบแห้งมาใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม

คำสำคัญ: *กากถั่วเหลือง, โอการะ, กากน้ำตาล, เอทานอล, กระบวนการหมัก*

Abstract

This research studied effect of addition of dried soybean pulp (Okara) to replace protein from yeast extract for ethanol production from sugar cane molasses. In this study, appropriate drying times for Okara were 30, 32, 34 and 36 hours at drying temperature of 60°C. The results showed that optimal drying time of Okara was 32 hours in which the moisture contents of Okara did not exceed the standard and dried Okara can be stored at room temperature for 1 week. Then, the effect of the addition of dried Okara for ethanol production from sugar cane molasses by *Saccharomyces cerevisiae* strain SC-90 was studied by using diluted 165 grams per liter reducing sugar molasses with starter cultures for fermentation at 10 %v/v and ethanol production was in 5 liter fermenter with control conditions for fermentation of pH 4.5, agitation speed 100 rpm and temperature 35°C. Dried Okara were added in 2 levels: 0 and 7.5 percent by weight per volume (%w/v) and addition of yeast extract of 0.2 percent by weight per volume (%w/v), which was the control sample fermentation, for 120 hours. The result showed that fermentation efficiency of addition of dried Okara at 7.5 %w/v was 98.41% which is higher than the addition of yeast extract of 0.2% (w/v) which yielded 97.27%. The result showed the optimal condition for ethanol production from molasses was the addition of dried Okara at 7.5 %w/v. Fermentation time was 72 hours and the amount of ethanol was equivalent to 71.49 grams per liter and yield of ethanol to sugar was 0.50 g ethanol per gram of sugar consumed. Production of ethanol from the dried Okara has lower production costs than using yeast extract. Therefore it is possible to bring the dried Okara for industrial production scale.

Keywords: *Soy pulp, Okara, Molasses, Ethanol, Fermentation*

---

1. บทนำ

ปัจจุบันสังคมโลกกำลังตื่นตัวหาทางออกเพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนน้ำมัน โดยแสวงหาแหล่งพลังงานทดแทนจากแหล่งทรัพยากรที่ทดแทนได้ (Renewable resources) เพื่อใช้เป็นพลังงานทางเลือกทดแทนพลังงานประเภทใช้แล้วหมดไป เช่น น้ำมัน ก๊าซธรรมชาติ และถ่านหิน ด้วยเหตุนี้จึงมีการค้นคว้าวิจัยเพื่อลดปริมาณการใช้แหล่งพลังงานจากฟอสซิล และเพื่อให้มีแหล่งพลังงานเพียงพอสำหรับประชากรโลกที่เพิ่มขึ้น การใช้ชีวมวลผลิตพลังงานทดแทนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เนื่องจากวัตถุดิบที่สามารถพบได้จำนวนมาก ปัจจุบันมีการนำชีวมวลชนิดต่างๆ มาผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงทดแทน (Wheals, Basso, Alves and Amorim, 1999) การผลิตเอทานอลส่วนใหญ่ได้จากกระบวนการหมัก (Fermentation) โดยใช้จุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae* วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตส่วนใหญ่เป็นประเภทแป้งและน้ำตาล เช่น มันสำปะหลัง อ้อย และกากน้ำตาล โดยกากน้ำตาลเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย สามารถหาได้ง่าย และราคาถูก ดังนั้นการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลจึงมีต้นทุนต่ำกว่าการใช้วัตถุดิบชนิดอื่น

(ปริษฎางค์ วงศ์ปราชญ์, 2547) ได้ศึกษาการปรับปรุงการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อย โดยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* SKP1 และปรับความเข้มข้น

ของน้ำตาลรวมเริ่มต้นเท่ากับ 165 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตเอทานอลได้ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 72.7 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 9.20 ปริมาตรต่อปริมาตร โดยใช้เวลา 72 ชั่วโมง นอกจากนี้ในการผลิตเอทานอลให้มีประสิทธิภาพต้องมีการเพิ่มสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Saita and Slaughter, 1984) พบว่าการเติมแอมโมเนียลงไปจะส่งเสริมการเจริญของยีสต์ทำให้เซลล์มีความหนาแน่น ทำให้กระบวนการหมักเกิดดีขึ้น (Laopaiboon, Thanonkeo and Jaisil and Laopaiboon, 2007) พบว่าการผลิตเอทานอลจากน้ำข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนของ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048 ในกระบวนการหมักแบบกะได้เอทานอลเพิ่มขึ้น ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าแหล่งไนโตรเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญในกระขวนการผลิตเอทานอล โดยอัตราส่วน C:N ratio ที่เหมาะสมในกาผลิตเอทานอล คือ 35.2 (Manikandan and Viruthagiri, 2010)

กากถั่วเหลืองหรือโอการะ (Okara) คือผลพลอยได้จากการผลิตนมถั่วเหลือง ที่น่าสนใจเพราะมีราคาถูก คือ 7 บาท/กิโลกรัม พบว่ามีงานวิจัยศึกษาการนำกากถั่วเหลืองไปใช้ประโยชน์ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากกากถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีนสูง และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นรวมถึงแร่ธาตุอื่นๆ เช่น ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และแร่ธาตุเหล่านี้ยีสต์สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ (Frey, Kirby and Schultz, 1936).

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาและพัฒนาการผลิตเอทานอลจากโอการะให้มีประสิทธิภาพ โดยศึกษาการอบแห้งโอการะเป็นการเพิ่มอายุการเก็บรักษา และศึกษาการใช้โอการะอบแห้งเป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทนการใช้ยีสต์สกัดในการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิต และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไปในอนาคต

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและพัฒนาการอบแห้งโอการะเพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษา

2. เพื่อศึกษาผลของการเติมโอการะอบแห้งเพื่อทดแทนโปรตีนจากยีสต์สกัดในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล

3. วิธีการวิจัย

3.1 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยทำการศึกษาปริมาณความชื้นและปริมาณโปรตีนของโอการะที่ได้รับจากโรงงานอุสาหกรรม และศึกษาสภาวะในการอบแห้งโอการะ จำนวน 4 สิ่งทดลอง (กลุ่มตัวอย่าง) โดยใช้เวลาในการอบแห้งโอการะที่ 30, 32, 34 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและโปรตีน โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการอบแห้งโอการะ ทำการบรรจุในถุงพลาสติก และเก็บที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ในการวิจัยทำการศึกษาปริมาณการเติมโอการะอบแห้งที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร จำนวน 3 สิ่งทดลอง (กลุ่มตัวอย่าง) โดยศึกษาระดับการเติมโอการะอบแห้ง 2 ระดับคือ ร้อยละ 0.0 และ 7.5 (%w/v) และมีการหมักโดยเติมยีสต์สกัดร้อยละ 0.2 (%w/v) เป็นตัวอย่างควบคุม โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance ;ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.1.1 วัตถุดิบ

กากน้ำตาล (Molasse) ได้จากโรงงานประจวบอุตสาหกรรม/ประเทศไทย และกากถั่วเหลือง (Okara) ได้จากบริษัทออไรซ่าอินเตอร์เนชั่นแนลจำกัด/ประเทศไทย จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตเอทานอลจากกากถั่วเหลืองอบแห้ง คือ *Saccharomyces cerevisiae* SC-90 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) โดยทำการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Fermenter) (Biostat B/B.Braun/Germany) ขนาด 5 ลิตร

3.1.2 การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* SC-90 จะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) โดยเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น ก่อนการใช้งานจะมีการถ่ายเชื้อลงสู่อาหารใหม่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงนำหัวเชื้อบริสุทธิ์ไปใช้ในการหมักเอทานอล โดยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* SC-90 ที่ใช้สำหรับเป็น Stock culture จะมีการถ่ายเชื้อสู่อาหาร PDA ทุก 1 เดือน

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล

การศึกษาวิจัยนี้ เป็นงานวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการผู้วิจัยจึงมีการใช้เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูลแบบการสังเกตุ (Observation) โดยตรงจากการทดลอง โดยมีการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ในการทดลองเพื่อทำการผลิตเอทานอลจากโอการะ และติดตามกระบวนการหมัก โดยอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมักคือถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Fermenter) อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ทางเคมี คือ เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง เครื่องชั่งละเอียด, เครื่องเขย่าหลอด ,เครื่องบรรจุสุญญากาศ, เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge), ตู้อบลมร้อน, เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Crude Protein), เครื่องย่อยโปรตีน, เครื่องกลั่นโปรตีน และ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ และอุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ทางจุลินทรีย์คือ ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) และหม้ออบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave)

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การศึกษาสภาวะในการอบแห้งโอการะที่มีผลต่อปริมาณโปรตีนและอายุการเก็บรักษา

ทำการศึกษาปริมาณความชื้นและปริมาณโปรตีนของโอการะที่ได้รับจากโรงงานอุสาหกรรม และศึกษาสภาวะในการอบแห้งโอการะ โดยใช้เวลาในการอบแห้งโอการะที่ 30, 32, 34 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ณัชชา สุพิชญางกูร, 2545) ทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและโปรตีน (AOAC, 2000) ตรวจวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการอบแห้งโอการะ ทำการบรรจุในถุงพลาสติก และเก็บที่อุณหภูมิห้อง สามารถจัดสิ่งทดลองได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การจัดสิ่งทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เพื่อศึกษาเวลาในการอบแห้งโอการะที่มีผลต่อปริมาณโปรตีนและปริมาณความชื้น

สิ่งทดลอง	เวลาที่ใช้ในการอบแห้ง (ชั่วโมง)
1	30
2	32
3	34
4	36

3.3.2 การศึกษาผลของการเติมโอการะอบแห้งในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล

ศึกษาระดับการเติมโอการะอบแห้ง 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0.0 และ 7.5 (%w/v) ลงในน้ำหมักปริมาตร 3 ลิตร (Balakumar and Arasaratnam, 2014) และมีการหมักโดยเติมยีสต์สกัดร้อยละ 0.2 (%w/v) เป็นตัวอย่างควบคุม (Damiano and Wang, 1985) มีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำโดยมีรายละเอียดการจัดสิ่งทดลองดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การจัดสิ่งทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ของการศึกษาปริมาณการเติมโอการะอบแห้งที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร

สิ่งทดลอง	กากน้ำตาล (มิลลิลิตร)	โอการะอบแห้ง (%w/v)	ยีสต์สกัด (% w/v)
1	3,000	0	-
2	3,000	7.5	-
control	3,000	-	0.2

3.3.2.1 การเตรียมน้ำหมักและสภาวะในการหมัก

นำกากน้ำตาลมาเจือจางให้มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 165 กรัมต่อลิตร ในน้ำหมักปริมาตร 3 ลิตร บรรจุลงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการเติมโอการะอบแห้งตามสูตร นำถังหมักไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้น้ำหมักเย็นก่อน แล้วเติมกล้าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* SC-90 อายุ 24 ชั่วโมง ลงไปร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อปริมาตรน้ำหมัก (%v/v) ปรับสภาวะของถังหมักให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ไม่มีอากาศ และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (ปริษฎางค์ วงศ์ปราชญ์, 2547)

3.3.2.2 การสุ่มตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์การหมักเอทานอล

เก็บตัวอย่างน้ำหมักในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 และ 120 ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อจนสิ้นสุดการหมัก นำข้อมูลมาเปรียบเทียบระดับการเติมโอการะอบแห้งที่เหมาะสม โดยวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วย Ebulliometer, การวัดการเจริญของเชื้อในรูปน้ำหนักเซลล์แห้งโดยวัดค่า O.D. ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 660 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน และการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic Acid Method (DNS) (Miller, 1969) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้คำนวณหาค่าพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการหมักเอทานอลจากกากถั่วเหลืองอบแห้ง ปริมาณเอทานอล%, ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร), อัตราการเจริญจำเพาะ (μ), ผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาล ($Y_{x/s}$), ผลได้ของเอทานอลต่อน้ำตาล ($Y_{p/s}$), อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ (q_p), อัตราการผลิตเอทานอล (Q_p) และคำนวณหาประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล (Fermentation efficiency) โดยกำหนดให้ผลได้ของเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎีเท่ากับ 0.51 และค่าความถ่วงจำเพาะของเอทานอลเท่ากับ 0.79 กรัมต่อลิตร

3.4 วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ โดยมีการใช้สถิติศาสตร์ มาเป็นเทคนิควิธีวิเคราะห์เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการอบโอการะ และเพื่อหาปริมาณการเติมโอการะอบแห้งที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยนำข้อมูลที่ได้จากการสังเกตุ (Observation) มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลองด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยโปรแกรมสำเร็จรูป และมีการคำนึงถึงปัจจัยด้านต้นทุน

ของวัตถุดิบ และต้นทุนในการผลิตเอทานอล ประกอบการพิจารณา

4. ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาสภาวะในการอบแห้งโอการะ

พบว่าโอการะได้รับจากโรงงานอุสาหกรรมมีปริมาณความชื้นร้อยละ 71.59 ± 0.06 และปริมาณโปรตีนร้อยละ 10.64 ± 0.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการอบแห้งโอการะ ปริมาณความชื้นและโปรตีนของโอการะอบแห้ง แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณความชื้นและปริมาณโปรตีนของโอการะอบแห้งเวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

เวลาการอบแห้ง (ชั่วโมง)	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน[ns] (ร้อยละ)
30	2.52[a] ± 0.04	62.47 ± 3.30
32	2.29[b] ± 0.03	63.91 ± 1.40
34	2.04[c] ± 0.09	65.22 ± 0.40
36	2.02[c] ± 0.10	64.43 ± 1.80

ค่าเฉลี่ยที่ตัวอักษร [a, b, c] ที่ต่างกันตามแนวตั้ง = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (P □ 0.05)

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (P □ 0.05)

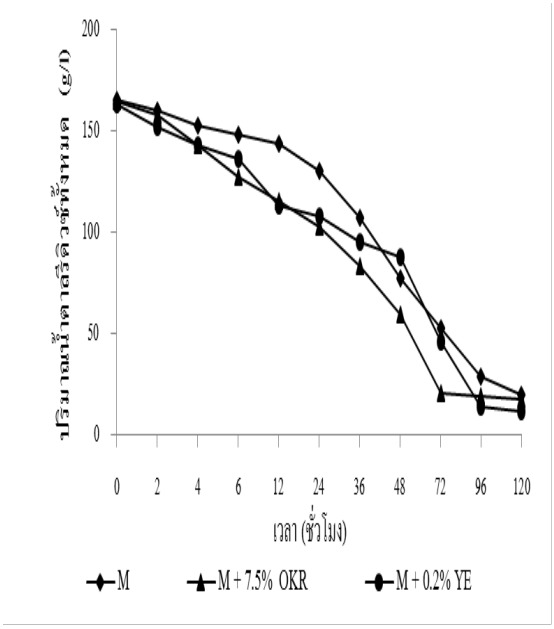
จากตารางที่ 3 พบว่าปริมาณความชื้นเมื่อใช้เวลาในการอบแห้งโอการะที่ 30-36 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่เวลา 32, 34 และ 36 ชั่วโมง มีค่าไม่เกินมาตรฐานในอาหารแห้งจำพวกธัญญาหารที่กำหนดไว้เท่ากับร้อยละ 2.5 (USDA, 2002) และเมื่อพิจารณาถึงปริมาณโปรตีนพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาต้นทุนในการผลิต จึงเลือกเวลาในการอบแห้งโอการะที่ 32 ชั่วโมง เพราะมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่า เมื่อทำการบรรจุในถุงพลาสติก และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสามารถเก็บได้ 1 สัปดาห์ โดยที่ปริมาณความชื้นและปริมาณจุลินทรีย์ไม่เกินมาตรฐาน เมื่อนำโอการะอบแห้งไปบดละเอียดเพื่อใช้ในการหมักเอทานอลมีลักษณะทางกายภาพแสดงดังภาพที่ 1

(ก) (ข) (ค)

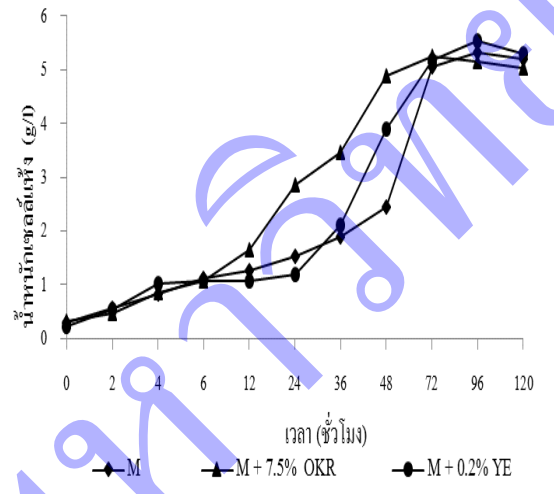
รูปที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของโอการะสด(ก) โอการะอบแห้ง (ข) และโอการะอบแห้งบดละเอียด (ค)

4.2 การศึกษาผลของการเติมโอการะอบแห้งในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล

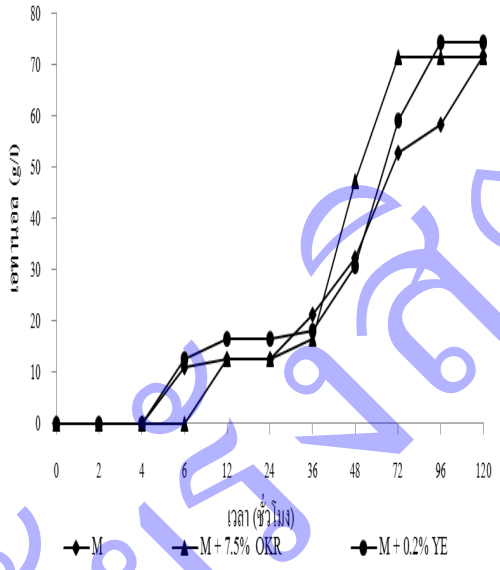
พบว่าที่ 0-72 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว แปรผกผันกับปริมาณเอทานอลและปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เพิ่มขึ้น แต่หลังจากชั่วโมงที่ 72 ค่าต่างๆ มีแนวโน้มคงที่ เนื่องจากเซลล์ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการเจริญ และการผลิตเอทานอลโดยใช้โอการะอบแห้งเป็นแหล่งไนโตรเจน ทดแทนการใช้ยีสต์สกัดได้ แสดงดังรูปที่ 2-4



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กับระยะเวลาในการผลิตเอทานอลที่มีการเติมโอการะอบแห้งที่ระดับต่างกัน ของเชื้อ *S. cerevisiae* SC-90 โดย M = กากน้ำตาล, OKR = โอการะ, YE = ยีสต์สกัด



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเซลล์ยีสต์กับระยะเวลาในการผลิตเอทานอลที่มีการเติมโอการะอบแห้งที่ระดับต่างกัน ของเชื้อ *S. cerevisiae* SC-90 โดย M = กากน้ำตาล, OKR = โอการะ, YE = ยีสต์สกัด



รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับระยะเวลาในการผลิตเอทานอลที่มีการเติมโอการะอบแห้งที่ระดับต่างกัน ของเชื้อ S. cerevisiae SC-90 โดย M = กากน้ำตาล, OKR = โอการะ, YE = ยีสต์สกัด

จากรูปที่ 2-4 พบว่าสิ่งทดลองที่ 1 (กากน้ำตาล+ 0.0% โอการะ), สิ่งทดลองที่ 2 (กากน้ำตาล+7.5% โอการะ) และสิ่งทดลองที่ 3 (กากน้ำตาล+0.2% ยีสต์สกัด) ใช้เวลาในการหมัก 120 ชั่วโมง, 72 ชั่วโมง และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าสิ่งทดลองที่ 1 มีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 71.89 กรัมต่อลิตร, ปริมาณเซลล์ยีสต์เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 164.72 กรัมต่อลิตร สิ่งทดลองที่ 2 มีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 7149 กรัมต่อลิตร, ปริมาณเซลล์ยีตส์เริ่มต้นเท่ากับ 0.32 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 163.98 กรัมต่อลิตร สิ่งทดลองที่ 3 มีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 74.45 กรัมต่อลิตร, ปริมาณเซลล์ยีตส์เริ่มต้นเท่ากับ 0.22 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 163.00 กรัมต่อลิตร

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพและประสิทธิผลของการเติมโอการะอบแห้งทดแทนการใช้ยีสต์สกัดในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล จึงนำผลการทดลองที่ได้คำนวณเป็นค่าบ่งชี้ (Parameter) แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าบ่งชี้ (Parameter) จากการศึกษาการผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* SC-90 ในชั่วโมงที่มีอัตราการผลิตเอทานอลสูงสุดในทุกสิ่งทดลอง

ค่าบ่งชี้	สิ่งทดลองในชั่วโมงที่		
	120	72	96
	M	M + 7.5% OKR	M + 0.2% YE
μ (h^{-1})	0.0239^{c} ± 0009	0.0388^{a} ±.0003	0.0336^{b} ±.0005
$Y_{x/s}$ (g_x/g_s)	0.0345^{b} ±.0003	0.0344^{b} ±.0007	0.0356^{a} ±.0003
$Y_{p/s}$(g_p/g_s)	0.4951^{b} ±.0005	0.5019^{a} ±.0003	0.4961^{b} ±.0003
q_p(g_p/g_s.h)	0.0118^{c} ±.0004	0.0195^{a} ±.0001	0.0166^{b} ±.0002
Q_p(g_p/l.h)	0.5990^{c} ±.0004	0.9930^{a} ±.0038	0.7467^{b} ±.0028
F.E. (%)	97.07^{b} ±.1067	98.41^{a} ±.0495	97.27^{b} ±.0636

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษร ^{a,b,c} ที่ต่างกันตามแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (P □ 0.05) โดย M =กากน้ำตาล, OKR= โอการะ, YE = ยีสต์สกัด และ F.E. = Fermentation Efficiency

จากตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาค่าบ่งชี้ประสิทธิภาพในการหมักและผลิตเอทานอลจากค่า $Y_{p/s}$, q_p, Q_p และ Fementation efficiency (%) พบว่าสิ่งทดลองที่มีการเติมโอการะอบแห้งร้อยละ 7.5 มีค่าบ่งชี้ดังกล่าวมากที่สุด แสดงให้เห็นถึงการเติมโอการะอบแห้งสามารถใช้ปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลได้

5. การอภิปรายผล

เมื่อพิจารณาจากการเจริญของ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ SC-90 พบว่าในชั่วโมงที่ 72 ของสิ่งทดลองที่มีการเติมโอการะอบแห้งร้อยละ 7.5 มีค่า μ และค่า $Y_{p/s}$ สูงสุด คือ 0.0388 ±.0003 (h^{-1}) และ 0.5019 ±.0003 (g_p/g_s) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ายีสต์สามารถเจริญเติบโตและใช้สารอาหารหมักเป็นเอทานอลได้ดี เมื่อพิจารณาค่า $Y_{x/s}$ พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.0344 ±.0007 (g_x/g_s) แสดงให้เห็นถึงยีสต์การนำสารอาหารในโอการะอบแห้งไปใช้ในการสร้างเซลล์ได้ ดังนั้นการเติมโอการะอบแห้งที่ร้อยละ 7.5 เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปใช้เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลทดแทนการใช้ยีสต์สกัดเพื่อลดต้นทุนการผลิต ได้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 71.49 กรัมต่อลิตร แต่มีข้อจำกัด คือ โอการะอบแห้งผสมกับกากน้ำตาลทำให้มีความข้นหนืดมากดังนั้นอัตราการกวน (Mixing rate) จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญของการผสมระหว่างเซลล์, อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการผลิตและปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการ เพราะจะส่งผลโดยตรงต่อต้นทุนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม จึงควรศึกษาระดับการเติมโอการะอบแห้งที่ปริมาณต่างๆ ต่อไปในอนาคต

เมื่อพิจารณาต้นทุนของโอการะอบแห้งสามารถคิดได้จากต้นทุนของโอการะสดที่ขายในราคากิโลกรัมละ 7 บาท โดยโอการะ 1 กิโลกรัมเมื่อนำไปอบแห้งแล้วเหลือ 400 กรัม ซึ่งเท่ากับว่า 400 กรัม ราคา 7 บาท เมื่อบวกเพิ่มค่าไฟในการอบแห้งทำให้ราคาโอการะอบแห้ง 400 กรัม จะมีราคาเท่ากับ 9 บาท โอการะอบแห้งร้อยละ 7.5 = 225 กรัม ต่อน้ำหมัก 3 ลิตร จึงมีราคาต้นทุนการผลิต 5 บาท เมื่อทำการเปรียบเทียบกับราคาของยีสต์สกัด 500 กรัม ราคา 975 บาท ในการหมักใช้ยีสต์สกัดร้อยละ 0.2 = 6 กรัม ต่อน้ำหมัก 3 ลิตร จึงมีต้นทุนการผลิต 12 บาท ดังนั้นการใช้โอการะอบแห้งมีราคาต้นทุนในการผลิตน้อยกว่าการใช้ยีสต์สกัด สามารถกล่าวโดยสรุปได้ว่าข้อดีของการใช้โอการะอบแห้งคือเป็นการลดต้นทุนการผลิต

และนอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบที่เหลือจากอุตสาหกรรมอาหารได้อีกด้วย

6. บทสรุป

สภาวะในการอบแห้งโอการะมีผลต่อปริมาณความชื้นและอายุการเก็บรักษาเวลาในการอบแห้งที่เหมาะสมที่สุดคือ 32 ชั่วโมง มีปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 2.04 ไม่เกินมาตรฐานในอาหารแห้งจำพวกธัญญาหารร้อยละ 2.5 (USDA, 2002) และสามารถเก็บรักษาได้นาน 1 สัปดาห์ และมีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 63.91 ของน้ำหนักแห้ง เหมาะที่นำไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล พบว่าการเติมโอการะอบแห้งร้อยละ 7.5 เหมาะสมที่สุด ได้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 71.49 กรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาต้นทุนด้านวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล พบว่าต้นทุนการใช้โอการะอบแห้ง คือ 1.66 บาท / น้ำหมัก 1 ลิตร เปรียบเทียบกับต้นทุนการใช้ยีสต์สกัด คือ 3.00บาท / น้ำหมัก 1 ลิตร พบว่าการใช้โอการะอบแห้งมีต้นทุนถูกกว่า 1.34 บาท / น้ำหมัก 1 ลิตร และยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบที่เหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองอีกด้วย

7. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัย หน่วยงานของรัฐบาล และหน่วยงานเอกชน ที่สนับสนุนวัตถุดิบในการวิจัย และขอขอบคุณผู้ที่ให้การช่วยเหลือ และให้ความร่วมมือในการวิจัยทุกท่าน

8. เอกสารอ้างอิง

ฉัชชา สุพิชญางกูร. (2545). การสกัดและการศึกษาคุณลักษณะของโปรตีนจากโอคารา วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปริษฎางค์ วงศ์ปราชญ์. (2547). การปรับปรุงการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อยโดย *Saccharomyces cerevisiae* SKP1 ในการเลี้ยงเชื้อแบบ เฟด - แบตช์. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

AOAC. (2000). Official Method of Analysis. 17th ed. The Association of official analytical Chemistry, Arlington, Virginia

Balakumar, S. & Arasaratnam, V. (2014). Enhanced production of ethanol by high gravity glucose fermentation at temperatures above 40°C by *Saccharomyces cerevisiae* S1 using a soya flour supplemented medium J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka, 42 (2): 111 - 117

Damiano, D. & Wang, S.S. (1985). Improvement in ethanol concentration and fermenter ethanol productivity in yeast fermentations using whole soy flour in batch and continuous recycle systems. Biotechnology Letters, **7** (2): 135 - 140.

Frey, C.N., Kirby, G.W. & Schultz, A. (1936). Yeast physiology. Manufacture and uses. Industry Engineer Chemistry, 28 (8): 879 - 881.

Laopaiboon, L., Thanonkeo, P., Jaisil, P. & Laopaiboon, P. (2007). Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed- batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23 (10): 1497 – 1501.

Manikandan, K. & Viruthagiri, T. (2010). Optimization of C/ N ratio of the medium and Fermentation conditions of Ethanol Production from Tapioca

Starch using Co – Culture of *Aspergillus niger* and *Sachormyces cerevisiae*. International Journal of Chem. Tech Research, 2 (2): 947 - 955.

Miller, G.L. (1969). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, 31: 426-428.

Saita, M. & Saughter, J.C. (1984). Acceleration of the rate of fermentation by Saccharomyces cerevisiae in the present of NH_4 , Microbial technology, 6: 375-378.

USDA. (2002). National Nutrient Databast for Standard Referernce, Release 22.

Wheals, A.E., Basso, L.C., Alves, D.M. & Amorim, H.V. (1999). Fuel ethanol after 25 years. Trends Biotechnology. 17: 482-487.

มหาวิทยาลัยรังสิต