รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การหมักเปลือกทุเรียนแบบกึ่งแห้งเพื่อผลิตไบโอเอทานอล

A Semi-Solid State Fermentation of Bioethanol using Durian Fruit-Hull as Nutrient Source

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร. ดวงฤทัย นิคมรัฐ

สาขาวิทยาการสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ผู้ร่วมวิจัย

ดร. ไพศาล การถาง

น.ส. กนกอร สุดโต

บทคัดย่อ

จากการวิจัยเรื่องการหมักเปลือกทุเรียนแบบกึ่งแห้งเพื่อผลิตไบโอเอทานอล เป็นการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และประยุกต์ใช้ของเสีย (Residue/waste) ที่ได้จากการเกษตร เป็นจุดเริ่มต้นของความจำเป็นเร่งด่วนในการพัฒนาเพื่อใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยการนำประโยชน์ของเปลือกทุเรียนที่เป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีในท้องถิ่น เพื่อมาแปรรูปหมักให้ได้แอลกอฮอล์ เพื่อใช้ประโยชน์เป็นพลังงานเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมัน อันก่อให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น เพื่อการลดปริมาณสารที่จะต้องกำจัดก่อนปล่อยออกจากโรงงานอุตสาหกรรม

เทคโนโลยีการหมักแอลกอฮอล์ที่ได้จากการวิจัยนี้ มีหลักการประกอบด้วยขั้นตอนการทำประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ 6 ขั้นตอน การคือ 1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการผลิตเชื้อเริ่มต้น และ การผลิตเชื้อเริ่มต้นที่บริสุทธิ์ และว่องไวในปริมาณที่มากพอสำหรับการหมักเพื่อใช้ในกระบวนการหมักทั้งเปลือกทุเรียน และน้ำหมัก 2) การทำอาหารเลี้ยงเชื้อ ถังหมัก และอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง ให้สะอาด ปราศจากเชื้อ 3) การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมักเปลือกทุเรียน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยเพื่อให้ได้แป้งและน้ำตาลตามที่ต้องการ 4) การกรองแยกน้ำหมักที่ได้เพื่อการหมักแอลกอฮอล์ ด้วยเชื้อยีสต์ สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อย 5) การปรับสภาพขั้นตอนการหมักให้เหมาะสมเพื่อการหมักแอลกอฮอล์ในระดับขนาดกลางและใหญ่ 6) การกลั่นแยกแอลกอฮอล์ที่ได้จากน้ำหมัก และเมื่อทำการหมักและการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์ในขนาดกลาง (50 liters) ผ่านเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ พบว่าได้ปริมาณของแอลกอฮอล์ที่มากกว่าการหมักที่ได้ในชุมชน (41% และ12% ตามลำดับ) ทั้งนี้เนื่องมาจากประสิทธิภาพของเครื่องกลั่นในห้องปฏิบัติการที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ดี แม่นยำกว่าการกลั่นด้วยอุปกรณ์การกลั่นในชุมชน แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ได้ทั้งสองกรณีอยู่ในช่วงไม่ต่างกันมาก คือ 90-95%

นอกจากยังในกระบวนการหมักเปลือกทุเรียน เราสามารถลดเวลาในการหมักด้วยการใช้เปลือกทุเรียนที่ผ่านการต้มสุกนานเพื่อช่วยเร่งการย่อยให้เกิดแป้งและน้ำตาลได้เร็ว (จาก 2-3 เดือน เป็น 20-30 วัน) และ ในขั้นตอนการนำน้ำหมักไปทำการหมักแอลกอฮอล์ต่อ จำเป็นต้องมีการเติมอาหารน้ำตาล (C source) เช่นโมลาส และ/หรือ น้ำอ้อย น้ำตาลทราย เพื่อช่วยการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลให้ได้ 20-22% BRIX ซึ่งพบว่าอาหารเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์อย่างยิ่ง ส่วนการหมักขนาดเล็กแล้วขยายขนาดเพื่อเป็นขนาดกลาง และใหญ่ จำเป็นต้องมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นการหมักเปลือกทเรียน และในขั้นการหมักน้ำหมักที่

ต้องการเติมยีสต์ที่ผ่านการกระตุ้นอยู่ในระยะ log phase ไม่ต่ำกว่า 1-10 X 10^{11} เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยมีการ inoculate เติมอย่างน้อย 1: 50 ของปริมาตรของน้ำหมัก

ในการพัฒนากระบวนการหมักเพื่อการนำไปใช้ในชุมชน จำเป็นต้องมีการปรับขั้นตอนกระบวนการหมักแบบชาวบ้านให้มีมาตราฐานมากขึ้น ต้องมีการเรียนรู้และปรับให้เหมาะสมตามสถานการณ์ มีการฝึกฝนการกลั่น การใส่ใจในเรื่องของอุณหภูมิ ติดตามอุณหภูมิ

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิจัยเรื่องนี้ ทีมคณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำหรับทุนจากงบประมาณผลประโยชน์จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ที่ได้สนับสนุนงานวิจัยนี้ ให้สามารถทำลุล่วงไปได้จนสำเร็จ และขอขอบคุณนายนันทศักดิ์ ทรัพย์กิตติวุฒิ นักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิทยาการสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากรธรรมชาติชั้นปีที่ 2 และ นายณัฐพล สัตถาผล นักศึกษาคณะสถาปัตย์กรรมศาสตร์และการออกแบบ ที่ได้มาช่วยในขั้นตอนการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ผสม การปรับปรุงคุณภาพการหมัก การกรอง การเปลี่ยนถ่ายน้ำหมัก ตรวจเช็คดูเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

นอกจากนี้ในระหว่างงานวิจัยที่ขาดอุปกรณ์เครื่องมือที่สำคัญในงานวิจัย ทีมงานวิจัยต้องขอขอบคุณอย่างยิ่งในความเอื้อในด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีในขั้นตอนการเตรียมน้ำหมักเพื่อยายขนาดจากเล็กเป็นขนาดกลาว จนถึงขั้นตอนการตรวจสอบปริมาณและ ความบริสุทธิ์ ของแอลกอฮอล์ ของทีมงานวิจัยของ ดร. สมเกียรติ เตชกาญจนารักษ์ จากศูนย์พันธุวิศวกรรมศาสตร์ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และท้ายสุดต้องขอขอบคุณ ดร. ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล อาจารย์ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี พระจอมเกล้าธนบุรี ที่ได้เอื้อเฟื้อให้เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบดูประสิทธิภาพของการหมัก

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิติกรรมประกาศ	ข
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทุเรียน	5
2.2 แอลกอฮอล์	6
2.3 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์	7
3 วิธีการดาเนินการวิจัย	
3.1. การเตรียมเปลือกทุเรียน และเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดแยก	13
3.2 การทดสอบในระหว่างกระบวนการหมักเปลือกทุเรียนให้เป็นแอลกอฮอล์	13
3.3 กระบวนการหมักน้ำตาลที่ได้จากเปลือกทุเรียนให้ได้แอลกอฮอล์ในระดับขนาดกลาง	16
3.4. การถ่ายทอดนำเสนอผลงานขั้นตอนกระบวนการหมักแอลกอฮอล์	17
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

1.1.1 การหมักกลั่นแอลกอฮอล์เพื่อเป็นเชื้อเพลิง

ไบโอแอลกอฮอล์ (Bioalcohol) เป็นเชื้อเพลิงที่ได้จากแอลกอฮอล์ที่ได้มาจากกระบวนการทางชีวภาพ ซึ่งต่างจากเอทานอลที่ได้มาจากการกลั่นผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมที่มีความปลอดภัยน้อยกว่า เนื่องจากมีเมทานอลปนในสัดส่วนร้อยละ 5 ซึ่งเป็นที่ทราบกันว่าเมทานอลมีอันตรายต่อร่างกาย เมื่อรับประทานอาจทำให้ตาบอดหรือเสียชีวิตได้ ในการกลั่นแบบธรรมดาพบว่าจะไม่สามารถแยกแอลกอฮอล์ทั้ง 2 ชนิดออกจากกันได้ ส่วนใหญ่เอทานอลที่ผลิตได้จะมาจากกระบวนการหมักโดยใช้ จุลินทรีย์มากกว่า (**คำวงศ์ และ คณะ 2550**) จากที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบันพบว่าได้มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำผัก ผลไม้ ของเหลือใช้ทางการเกษตรชนิดต่างๆ มาหมักให้เกิดแอลกอฮอล์เพื่อผสมเบนซิน เป็นแก๊สโซฮอล และ/ หรือใช้เป็นเชื้อเพลิงพลังงานชนิดใหม่ที่มีราคาต้นทุนต่ำ เช่น อ้อย มันสำปะหลัง และ เม็ดขนุน (http://learners.in.th/blog/nart/19123) พบว่าขณะนี้ได้มีการพัฒนาการหมักโดยเฉพาะเม็ดขนุนให้ได้สัดส่วนของเมล็ดขนุน น้ำลูกแป้งข้าวหมาก และรำข้าว และเวลาที่เหมาะสม เป็นเวลานาน 1 สัปดาห์ สามารถผลิตเอททานอลได้สูงถึง 45.63 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำไปกลั่นลำดับส่วนจะได้เอทิลแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลที่ได้จากเมล็ดขนุนพบว่ามีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าแอลกอฮอล์ในท้องตลาดประมาณ 35 บาท

ในปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากแอลกอฮอล์ที่ใช้ส่วนใหญ่เพื่อเป็นแหล่งพลังงานเชื้อเพลิง โดยใช้เอทานอลเป็นแอลกอฮอล์ที่นำไปใช้ผสมน้ำมัน (Fuel Alcohol) ปัจจุบันมีการซื้อขายเอทานอลในตลาดโลกปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยมีปริมาณเอทานอลในตลาดโลกปีละประมาณ 3,500-4,000 ล้านลิตร ทั้งนี้เนื่องจากหลายประเทศมีนโยบายสนับสนุนให้มีการใช้เอทานอลในรูปของเชื้อเพลิง เพื่อเป็นการลดมลภาวะทางอากาศ และช่วยลดภาวะวิกฤตของน้ำมัน ประเทศที่มีการส่งออกมากที่สุดในทวีปอเมริกา คือ บราซิล ปีละ 1,000 ล้านลิตรโดยส่งไปยังตลาดในแถบยุโรปตะวันออก ในยุโรปประเทศที่ส่งออกมากที่สุดคือ ฝรั่งเศส และประเทศในเอเชียที่ส่งออกมากที่สุดคือ จีน ญี่ปุ่นเป็นประเทศผู้นำเข้ารายใหญ่ที่สุดของโลกปริมาณปีละ 450 ล้านลิตรต่อปี ประเทศไทยมีการแสวงหาเชื้อเพลิงจากทรัพยากรภายในประเทศเพื่อทดแทนการนำเข้าแอลกอฮอล์ ได้มีการนำผลผลิตทางการเกษตรมาแปรรูปเป็นเชื้อเพลิง เช่น เอทานอลจากมันสำปะหลัง อ้อย ธัญพืชอื่นๆ เพื่อนำไปผสมกับน้ำมันเบนซินหรือดีเซล ซึ่งจะ

ช่วย ลดผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมโดยตรงต่อสภาวะเรือนกระจกในชั้นบรรยากาศ และสามารถลดการขาดดุลเงินตราต่างประเทศได้เป็นจำนวนมากอย่างไรก็ตาม และยังใช้ต้นทุนการผลิตต่ำว่าการผลิตน้ำมันเบนซิน และดีเซลจากปิโตรเลียม (เดชนีรนาท 2546)

1.1.2 ทุเรียน

เนื่องด้วยประเทศไทยเป็นผู้ผลิตทุเรียนรายใหญ่ของโลก ทุเรียนเป็นหนึ่งในผลไม้ที่ได้รับความนิยมในการบริโภคทั้งในและต่างประเทศ ปัจจุบันเกษตรกรสามารพัฒนาให้ทุเรียนสามารถออกผลผลิตได้เกือบตลอดปี พบว่าในปี 2551 จากพื้นที่ปลูกรวมประมาณ 694,764 ไร่ ได้ผลผลิตรวมของทุเรียนประมาณ 746,639 ตัน ทุเรียนปลูกมากที่สุดในภาคกลาง รองลงมาคือภาคตะวันออก และภาคใต้ ในแถบภาคกลางตอนล่างพบว่าในปี 2551 พบว่าจังหวัดปราจีนบุรีมีผลผลิตการปลูกทุเรียนได้มากที่สุด คือให้ผลผลิต 2496 ตัน หรือ1593 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่จังหวัดชุมพรมีปริมาณผลผลิตของทุเรียนมากเป็นอันดับ 1 ของภูมิภาคภาคใต้ ได้ผลผลิตทุเรียน 141,478 ตัน จากเนื้อที่การปลูก 118,392 ไร่ หรือเทียบได้เป็น 1195 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (7/12/2007)

เนื้อทุเรียนเป็นที่ยอมรับทั่วไปว่ามีรสชาดอร่อยเป็นที่นิยมรับประทาน แต่ส่วนของเปลือกจะเป็นของเหลือทิ้ง ด้วยลักษณะที่เป็นหนามแหลม แข็งมาก เป็นอันตราย จึงเป็นปัญหาในการกำจัด และเป็นขยะเหลือทิ้ง ส่วนของเปลือกมีส่วนประกอบที่เป็นเส้นใยปริมาณมาก ด้วยส่วนที่เป็นเยื่อเซลลูโลส สูงถึง 30% นอกเหนือจากนั้นเป็นส่วนของพอลิแซคคาไรด์เป็นอย่างน้อย 60% จากงานวิจัยจำนวนมากในประเทศไทยได้มีการลองนำเปลือกทุเรียนที่ทิ้งแล้วมาทำการศึกษาเป็นแหล่งวัตถุดิบที่สามารถรวบรวมได้สะดวกในท้องถิ่น เพื่อเพิ่มมูลค่าเพิ่มด้วยการแปรรูปให้เกิดประโยชน์ในธุรกิจในครัวเรือน โดยงานส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการแยกเส้นใยธรรมชาติเยื่อเซลลูโลสจากเปลือกทุเรียนอาศัย กระบวนการหมัก อบหรือตากแห้ง แล้วตามด้วยการต้มด้วยด่าง

นอกจากนั้นได้มีการใช้ประโยชน์จากส่วนเปลือกทุเรียนที่มีวุ้น แป้ง และน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ที่มีอยู่มาก เพื่อนำมาใช้ประโยชน์พัฒนางานวิจัยไปใช้ต่อไป โดยข้อดีของสารที่ได้จากเปลือกทุเรียนคือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเปลือกทุเรียนจะไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง สามารถสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ เป็นผลดีต่อสิ่งแวดล้อมไม่เกิดมลพิษ งานวิจัยที่ผ่านมาได้แก่ การผลิตสารสกัดพอลิแซคคาไรด์ด้วยมีคุณสมบัติในการพองตัวหรือละลายในน้ำจากเปลือกทุเรียน นำมาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปเจลใช้ทางการแพทย์ เพื่อช่วยรักษาแผล ใช้เป็นสาร

ต้านแบคทีเรีย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ช่วยป้องกันไม่ให้แผลติดเชื้อ หรือเป็นหนอง เป็นครีมช่วยบรรเทาอาการเจ็บปวดจากแผลน้อยลง และใช้เป็นผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิว ฟิลม์ใส ช่วยสมานแผล ลดการเกิดแผลเป็น ผสมในยาสีฟันมีคุณสมบัติ ฆ่าเชื้อโรค ที่ก่อให้เกิดฟันผุได้ ใช้ในการอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมสารซักฟอกสี กาว สิ่งทอ กระดาษ เซรามิก ใช้ผสมเศษเปลือกทุเรียนเพื่อทำผงแห้งผสมในอาหารกุ้งและไก่เพื่อเสริมภูมิคุ้มกัน และพบว่าเมื่อปนกับเศษผัก พืช มูลสัตว์ จนกลายเป็นวุ้น ได้ทดลองใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์เช่น ปลาดุก ทำให้เติบโตเร็วมากกว่าการเลี้ยงปกติ

จากการวิจัยดังกล่าวเกี่ยงกับแอลกอฮอล์ที่เป็นแหล่งพลังงานเชื้อเหลิงที่มีประโยชน์และเป็นที่ต้องการสูงในปัจจุบัน จึงเป็นจุดเริ่มต้นให้งานวิจัยนี้มีความจำเป็นเร่งด่วนในการพัฒนาการนำประโยชน์ของเปลือกทุเรียนที่เป็นของเหลือทิ้ง โดยที่ทุเรียนเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีในท้องถิ่น เพื่อมาแปรรูปหมักให้ได้แอลกอฮอล์ เพื่อใช้ประโยชน์เป็นพลังงานเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมัน นอกจากนั้นงานวิจัยจะเน้นส่งเสริมถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ได้ให้แก่เกษตรกรให้สามารถทำเองได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1.เพื่อใช้ของเหลือทิ้งจากผลิตผลทางการเกษตร/อุตสาหกรรม ที่มีศักยภาพในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์ให้คุ้มค่า

1.2.2.เพื่อศึกษาวิธีการหมักเปลือกทุเรียนด้วยเชื้อยีสต์เพื่อให้ได้แอลกอออล์ที่มีปริมาณสูง และมีคุณภาพ

1.2.3.เพื่อศึกษาคุณภาพแอลกอออล์ และพัฒนาการกลั่นให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงขึ้น

1.2.4.เพื่อฝึกอบรมและถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้เปลือกทุเรียนแปรรูปคุณภาพสูงในการผลิตแอลกอฮอล์ในจังหวัดเพื่อประโยชน์การนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในครัวเรือน และชุมชนของตนเอง

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ตัวอย่างจากเปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุดจำนวนอย่างละ 500 กรัม เพื่อศึกษาดูเชื้อจุลินทรีย์ที่ขึ้นอยู่บนเปลือกทุเรียน และเปลอกมังคุดมากกว่า 1000 สายพันธุ์จะทำการทดสอบจนได้เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจำนวนอย่างน้อย 4 สายพันธุ์ที่สามารถต้านจุลินทรีย์ หรืออาจสร้างสารต้านยาปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบัน ชนิดของสายพันธุ์ของเชื้อเหล่านี้ที่จะถูกผ่านการจำแนกทางพันธุกรรม แล้วถูกเก็บไว้ที่ GenBank database Bethesda, MD, USA เชื้อทั้ง 4 ชนิดนี้จะถูกพัฒนาขั้นตอนการผลิตให้ได้เหมาะสม เพื่อการเก็บรักษาเป็นสายพันธุ์ไว้ใช้งานต่อยอดได้ได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ในขบวนการหมักย่อยและขบวนการกลั่นแยก เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์จนเป็นเทคโนโลยีการผลิตแอลกอฮอล์ เป็นแนวทางหนึ่งที่ส่งเสริมให้เกษตรกรได้นำประโยชน์จากของเหลือทิ้งมาแปรรูป เป็นขบวนการขั้นตอนการผลิตที่ลดต้นทุน ประหยัด ง่าย และได้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูง โดยที่เกษตรกรจะยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้วัตถุดิบทางการเกษตรอื่นๆร่วมในการผลิตแอลกอฮอล์ต่อ จะเป็นการช่วยลดปัญหาเศรษฐกิจด้านน้ำมันในภาพรวมของประเทศไทยด้วย องค์ความรู้ที่ได้ที่ให้แก่ชุมชนเกษตรกรเป้าหมายให้สามารถทำผลิตไว้ใช้เองได้ ซึ่งงานวิจัยที่สำเร็จแล้วสามารถก่อประโยชน์ได้ดังนี้

1.4.1. ได้เทคโนโลยีการหมักแอลกอฮอล์จากเปลือกทุเรียน ที่สามารถนำไปใช้หมักในชุมชนครัวเรือน ทั้งนี้อาจรวมถึงการใช้พืชผัก ผลไม้ ที่เป็นส่วนเหลือทิ้งทางการเกษตรอื่นๆ ให้เป็นประโยชน์

1.4.2. เป็นแนวทางเลือกของการนำของทิ้งเหลือใช้ทางการเกษตร ที่สามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ มีมูลค่าลูง คือการผลิตหมักแอลกอฮอล์ที่เป็นพลังงานชีวภาพ ชนิดไบโอแอลกอฮอล์

1.4.3. เป็นการสร้างนักวิจัยหน้าใหม่

1.4.4. เป็นการสร้างความร่วมมือทางเครือข่ายระหว่างมหาวิทยาลัย ได้แก่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญญบุรี และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รวมทั้งองค์การปกครองส่วนท้องถิ่น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทีมผู้วิจัยได้มีการศึกษา แนวคิด ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยเรื่องการหมักเปลือกทุเรียนแบบกึ่งแห้งเพื่อผลิตไบโอเอทานอล โดยมีหัวข้อแยกเป็น ดังนี้ คือโครงงานวิจัยนี้เกี่ยวกับการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้แอลกอฮอล์เพื่อเป็นแหล่งพลังงานเชื้อเพลิง โดยมีรายละเอียดทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิด เพื่อพัฒนาการแปรรูปใช้ประโยชน์จากของเหลือใช้ และเหลือทิ้งทางการเกษตรอย่างคุ้มค่า เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตผลทางการเกษตรมาใช้ผลิต แอลกฮออล์ดังกล่าวที่มีอยู่ในท้องถิ่นดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.1 **ทุเรียน**

2.2 **แอลกอฮอล์**

2.3 **กระบวนการหมักแอลกอฮอล์**

2.1 ทุเรียน

ทุเรียนกับการเลือกเปลือกทุเรียนเป็นวัตถุดิบในการหมักแอลกอฮอล์

เนื่องจากในประเทศไทยมีการปลูกทุเรียนกันแพร่หลาย เกษตรกรสามารถเร่งผลผลิตทุเรียนให้ออกได้ตลอดปี และขณะนี้ในภาวะของราคาน้ำมันดิบที่สูงขึ้น มีความต้องการพลังงานเชื้อเพลิงมากขึ้น การพัฒนาใช้แหล่งน้ำมันพลังงานทดแทน เช่นไบโอดีเซล แก๊ซโซฮอล์ เพื่อช่วยลดและทดแทนการใช้น้ำมันจึงมีมากขึ้น

เปลือกทุเรียนเป็นส่วนที่เหลือทิ้ง กำจัดยาก และก่อปัญหามลพิษชยะให้กับสิ่งแวดล้อม เปลือกทุเรียนยังไม่เคยมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงแม้ว่าได้มีการพัฒนางานวิจัยด้านการแปรรูปนำไปใช้ประโยชน์บ้าง เช่น การย่อยเปลือกทุเรียนเพื่อให้ได้เส้นใย หรือการสกัดวุ้นเพื่อใช้เป็นเจลปิดแผล วุ้นที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (Lipipan et al., 2002, Hokputsa et al., 2004, Pongsamart and Panmuang, 1998) สามารถป้องกันการติดเชื้อ ทำเป็นยาสีฟัน หรือผสมกับอาหารสัตว์เพื่อลดต้นทุนราคาอาหารสัตว์ ทั้งนี้เปลือกทุเรียนนอกจากจะมีเส้นใยเป็นองค์ประกอบยังมีส่วนของแป้ง โพลีแซคคาไรด์ เมื่อนำมาย่อยให้เกิดน้ำตาลจะเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ได้

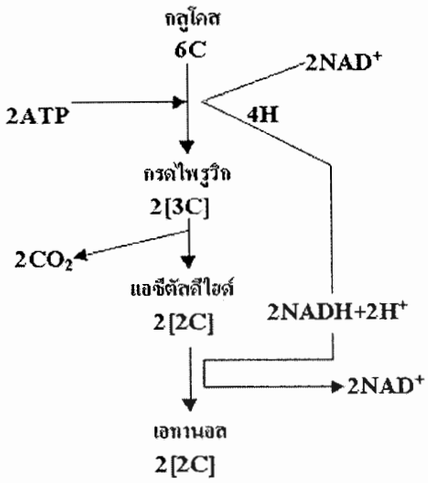
2.2 แอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์ได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงเนื่องจากลุกติดไฟง่าย ได้ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำมันเบนซิน ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมอื่นๆมากมาย และยังใช้เป็นเครื่องดื่มที่มีความนิยมกันทั่วโลก เชื้อเพลิงที่ได้จากแอลกอฮอล์ที่ได้มาจากกระบวนการทางชีวภาพที่เรียกว่า ไบโอแอลกอฮอล์ (bioalcohol) สำหรับเอทานอลที่ได้มาจากการกลั่นผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมจะมีความปลอดภัยน้อยกว่า เนื่องจากมีเมทานอลปนในสัดส่วนร้อยละ 5 ซึ่งเมทานอลมีอันตรายต่อร่างกายซึ่งอาจทำให้ตาบอดหรือเสียชีวิตได้ พบว่าในการกลั่นแบบธรรมดาจะไม่สามารถแยกแอลกอฮอล์ทั้ง 2 ชนิดออกจากกันได้ แต่ส่วนใหญ่เอทานอลที่ผลิตได้จะมาจาก

กระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์มากกว่า แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักเป็นแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยยีสต์ โดยใช้แหล่งพลังงานจากน้ำตาลโดยมีสมการเคมีดังนี้

$C_6H_{12}O_6$ ----------> $2C_2H_5OH$ + $2CO_2$ + **พลังงาน**

การหมักที่เหมาะสมคือ เริ่มต้นควรให้ออกซิเจนเพื่อเพิ่มอัตราการแบ่งเซลล์ จนเจริญมากพอระดับหนึ่งแล้วเลี้ยงในสภาวะไม่มีอากาศเพื่อให้เซลล์ผลิตแอลกอฮอล์ (ขั้นตอนการผลิตแอลกอฮอล์ดังรูป 2-1) ในการหมักพืชเพื่อผลิตแอลกอฮอล์จำเป็นต้องมีการดัดแปลงสายพันธุ์จุลินทรีย์ ให้มีเอนไซม์ที่หลากหลายสามารถใช้ในการย่อยเซลลูโลสได้ดี คงทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์ และอุณหภูมิที่สูงในถังหมัก (Brehmer et al. 2008) ยีสต์และราเป็นที่นิยมใช้ในการหมักให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงอยู่ จะอยู่ในตระกูล *Saccharomyces* spp. เช่น *S. cerevisiae S. bayanus, S. carisbergensis* และ *S. fermentati* การเลือกสายพันธุ์ยีสต์มีส่วนในการได้ปริมาณของแอลกอฮอล์ พบว่ายีสต์ขนมปังจะกินน้ำตาลมาก แต่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ ในขณะที่ยีสต์ทำไวน์ให้แอลกอฮอล์สูงถึง 20 % และใช้น้ำตาลน้อย ทั้งยังให้กลิ่นหอม และยังให้สารอินทรีย์อื่นๆในปริมาณที่น้อยกว่า เช่น อัลดีไฮด์ ฟูเซลออย เอสเทอร์ ซึ่งเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อระบบตับ ไต ก่อให้เกิดอาการปวดหัว และเมาค้าง (www.scottlab.com/lavin.htm www.wyeastlab.com และ www.redstaryeast.net) โดยทั่วไปแอลกอฮอล์ที่ได้จากยีสต์จะประมาณ 0.53-0.60 % ต่อทุก ๆ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น ในการเลี้ยงจึงต้องคอยปรับน้ำตาลให้มีความเข้มข้น 30-35 % หรือประมาณ 30-35° Brix การหมักแอลกอออล์ที่มาจากพืชธัญญพืช และผลทางการเกษตรต่างๆที่มีน้ำตาลสูง เช่น องุ่น แอปเปิ้ล สัปปะรด และผลไม้อื่นๆ มักใช้เพื่อทำไวน์ แต่หากเป็นการหมักพืช เศษซากพืช ของเหลือทิ้ง ผลพลอยได้ทางการเกษตร หรือผลทางการเกษตรที่มีแป้งโพลีแซคคาไรด์สูง และ กากไยไฟเบอร์สูง เช่น อ้อย น้ำตาล กากน้ำตาล กากอ้อย บีทรูท (หัวผักกาดหวาน) แป้ง มันสำปะหลัง มันเทศ ธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าวโพด ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง ต้องมีการเปลี่ยนแป้งจากพืชให้เป็นน้ำตาล แล้วเปลี่ยนจากน้ำตาล เป็นแอลกอฮอล์อีกต่อ (วนภู 2545, de Godoy et al., 2008) แอลกอฮอล์ที่บริสุทธิ์ 95% เรียกว่า เอทานอล (Ethanol) พบว่าเอทานอลที่ได้จากวัตถุดิบ คือ พืชชนิดต่างๆ จำนวน 1 ตัน เมื่อผ่านขบวนการผลิตจะได้ผลผลิตเอทานอลที่แตกต่างกัน หากใช้วัตถุดิบประเภทธัญพืช ข้าว ข้าวโพด จะได้เอทานอลสูงถึงจำนวน 375 ลิตร รองลงมาถ้าใช้กากน้ำตาลจะได้เอทานอลจำนวน 260 ลิตร ในขณะที่ใช้หัวมันสดจะได้เอทานอล 180 ลิตร (เดชนีรนาท 2546)



รูปที่ 2.1 ขบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากขบวนการใช้น้ำตาลในกระบวนการหายใจของจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน

2.3 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์

2.3.1 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยทั่วไปประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ 6 ขั้นตอน ดังนี้คือ

2.3.1.1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งที่ใช้ในการผลิตเชื้อเริ่มต้น และใช้ในกระบวนการหมัก ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอน 2 ขั้น คือขั้นแรกเพื่อการใช้เชื้อผสมผสานที่สามารถในการย่อยสารเซลลูโลส ให้ได้แป้งและน้ำตาล และขั้นที่สองเพื่อการใช้ซื้อยีสต์ที่สามารถย่อยสารพวกน้ำตาลให้ได้แอลกอฮอล์

2.3.1.2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เตรียมถังหมัก และอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องให้ปราศจากเชื้อ ในที่นี้อาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นอาหารที่สามารถกระตุ้นเชื้อในขั้นแรก ให้ได้ปริมาณมากพอก่อนทำการเติมในถังย่อย แล้วกระตุ้นในขั้นที่สองโดยการใช้เชื้อยีสต์เฉพาะเพื่อให้แอลกอฮอล์ในปริมาณที่สูง ส่วนถังหมักจะใช้วิธีการล้าง เช็ดด้วยแอลกอฮอล์ เติมสารเคมีเพื่อยับยั้งการปนเปื้อน เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อนการเติมเชื้อที่บริสุทธิ์เพื่อการหมักแอลกอฮอล์ต่อไป

2.3.1.3. การผลิตเชื้อเริ่มต้นที่บริสุทธิ์ และว่องไวในปริมาณที่มากพอสำหรับการหมัก ในที่นี้คือเชื้อผสมผสาน และเชื้อยีสต์บริสุทธิ์

2.3.1.4. การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมัก ให้เพิ่มจำนวนที่มาก ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแอลกอฮอล์ที่ต้องการ เช่น ไม่มีออกซิเจน มีปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสม

2.3.1.5. การสกัดผลผลิตแอลกอฮอล์และการทำให้บริสุทธิ์

2.3.1.6. การกำจัดของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทั้งหมดขั้นตอนการผลิตแอลกอฮอล์ หากต้องการนำแอลกอฮอล์ไปใช้อย่างเฉพาะ

2.3.2 องค์ประกอบในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์

2.3.2.1.วัตถุดิบ (substrate)

วัตถุดิบที่ใช้เป็นพวกคาร์โบไฮเดรทที่สามารถหมักได้ (fermentable carbohydrate) ในกรณีที่วัตถุดิบเป็นพวกแป้ง เช่น แป้งข้าวโพด และคาร์โบไฮเดรทชนิดอื่นๆ ซึ่งมีโครงสร้างซับซ้อน (complex carbohydrate) จำเป็นจะต้องย่อยก่อนเพื่อให้ได้น้ำตาลในรูปที่ง่าย และสามารถหมักได้ ทั้งนี้โดยอาศัยเอนไซม์ เช่น เอนไซม์จากข้าวมอลท์ หรือจากเชื้อรา หรืออาศัยความร้อนจากการเติมกรดแก่ (heat treatment of acidified material) วัตถุดิบที่ใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ ข้าวโพด กากน้ำตาล บีท มันฝรั่ง และองุ่น

2.3.2.2. จุลินทรีย์ (microorganism)

จุลินทรีย์ที่นิยมใช้กันในขบวนการผลิตแอลกอฮอล์ได้แก่ เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ทั้งนี้เนื่องจากว่าเชื้อนี้เจริญรวดเร็ว มีความคงทนต่อแอลกอฮอล์ได้สูง และให้แอลกอฮอล์ในปริมาณมาก

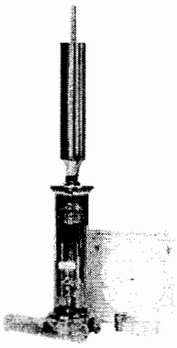
2.4 การวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในน้ำหมัก (http://surathai.wordpress.com/2012/05/07/alcohol-analysis/)

ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ เพื่อให้ทราบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างน้ำหมัก และเพื่อการควบคุมคุณภาพให้มีแอลกอฮอล์มากเพียงพอที่จะนำไปกลั่น เป็นการติดตามความคืบหน้าในการหมักในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ ต้องวิเคราะห์แอลกอฮอล์เพื่อระบุดีกรีที่จะเป็นสิ่งกำหนดอัตราภาษีที่จะจัดเก็บ โดยกรมสรรพสามิตได้กำหนดวิธีวิเคราะห์แอลกอฮอล์ไว้ในมาตรฐานสุราแล้ว ว่าใช้วิธีกลั่น และวัดค่าความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 20°C

การวัดปริมาณแอลกอฮอล์อีกหลายวิธี ทั้งแบบที่ไม่ค่อยแม่นยำแต่ใช้สะดวกสำหรับติดตามความคืบหน้าการหมักได้ง่ายๆ และแบบที่มีความละเอียดแม่นยำไปจนถึงระดับเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.4.1.การใช้ Ebuliometer

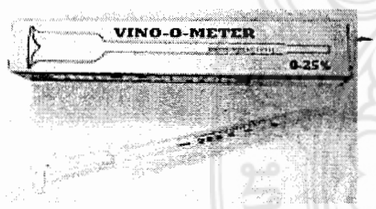
การใช้เครื่องมือEbuliometer สามารถวัดแอลกอฮอล์ด้วยจุดเดือดของน้ำหมักที่ลดลงจากจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ และนำค่าอุณหภูมิจุดเดือดที่อ่านได้ ไปเทียบกับตารางที่ให้มากับเครื่อง ก็สามารถบอกปริมาณแอลกอฮอล์ได้ แต่วิธีนี้อาจมีความคลาดเคลื่อนหากน้ำหมักของเรา มีสารละลายอยู่หลายอย่าง เช่นมีน้ำตาลเหลืออยู่มาก นอกจากนั้นอุปกรณ์ที่ใช้ก็ยังมีราคาแพงมาก (ประมาณ 4 หมื่นบาท) ต้องสั่งซื้อมาจากต่างประเทศ โดยมีผู้นำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยเพียงไม่กี่ราย ราคาของเครื่องพร้อมตารางเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์



รูปที่ 2.2 รูปการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebuliometer (ที่มา: vinarco.com)

Vino-o-Meter

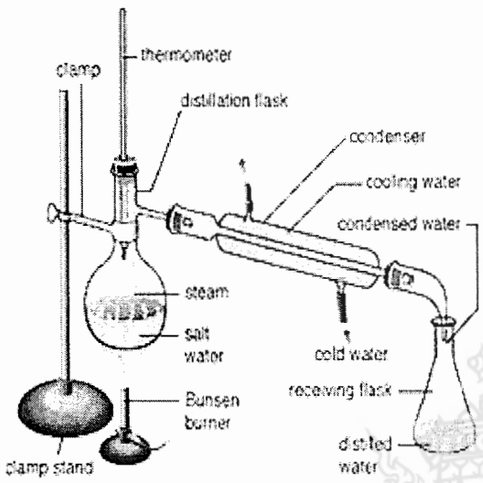
วิธี Vino-o-Meter ใช้ง่าย สะดวก โดยเป็นอุปกรณ์หลอดแก้วเล็กๆ ที่อาศัยความถ่วงจำเพาะ ราคาย่อมเยา ค่าที่ได้จะมีความแม่นยำน้อยหากในการวัดน้ำหมักมีน้ำตาลอยู่สูง ไม่เหมาะกับการหมักที่มีของแข็งที่ละลายอยู่ในสารละลายอยู่มาก



รูปที่ 2.3 รูปการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Vino-o-Meter

2.4.3 การกลั่น

การกลั่นเป็นวิธีที่กรมสรรพสามิตใช้ในการวิเคราะห์แอลกอฮอล์ของสุรา โดยการกลั่นแอลกอฮอล์แยกออกจากสารละลายที่มีกรดและน้ำตาล ให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ที่ละลายในน้ำเท่านั้น จากนั้นก็สามารถใช้หลักความถ่วงจำเพาะ วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ และในการทดสอบนี้จะทำการหย่อน hydrometer ลงในกระบอกตวงที่มีน้ำสุราที่กลั่นได้ เพื่ออ่านค่าแอลกอฮอล์ โดยต้องปรับอุณหภูมิของน้ำสุราให้เป็น 20°C วิธีนี้ต้องใช้น้ำหมักจำนวนมากเพื่อการกลั่นให้ได้แอลกอฮอล์พอที่จะนำไปใส่ในกระบอกตวงเพื่อหย่อน hydrometer ค่าที่ได้มีความแม่นยำ แต่ไม่เหมาะกับการวิเคราะห์น้ำหมักในระหว่างการหมักในการวิจัย ที่ต้องเก็บตัวอย่างน้ำหมักหลายๆ ครั้ง



รูปที่ 2.4 รูปการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยอุปกรณ์การกลั่นสุรา

2.4.4 ชุดทดสอบทางเอนไซม์

ชุดทดสอบทางเอนไซม์อาศัยหลักการที่ แอลกอฮอล์ชนิดเอทานอลถูกออกซิไดส์ด้วยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจิเนส แล้วเกิดเป็นอเซตัลดีไฮด์ และปฏิกิริยานี้จะวัดได้ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (วัดการดูดกลืนแสง) ที่ 340 นาโนเมตร นำค่ามาคำนวณด้วยสมการก็จะได้ปริมาณเอธานอลเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร แต่วิธีนี้ใช้กับแอลกอฮอล์ปริมาณน้อยๆ ถ้าใช้ตัวอย่างเป็นน้ำหมัก จึงต้องเจือจางร้อยเท่า ชุดทดสอบนี้มีจำหน่ายโดย Boeringer Manheim แต่ขณะนี้ยังไม่มีตัวแทนจำหน่ายในประเทศไทย

2.4.5 HPLC

เอทานอลที่ละลายอยู่ในสารละลาย สามารถแยกออกจากของผสมในระบบ HPLC (โครมาโตกราฟีแบบของเหลว) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ไปพร้อมกับน้ำตาลต่างๆ ในน้ำหมักได้ด้วย โดยใช้คอลัมน์ BIO-RAD Aminex® Fermentation Monitor column (150 x 7.8 mm, 5 µm) (BIO-RAD มีบริษัทในประเทศไทยด้วย) ใช้ Refractive Index detector

2.4.6 ก๊าซโครมาโตกราฟี (GC)

ก๊าซโครมาโตกราฟีเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูงที่ต้องมีผู้ชำนาญในการดูแลบำรุงรักษา และใช้งานอย่างถูกต้อง หากเราต้องการเพียงวัดปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างน้ำหมักของเรา ก็ไม่ควรลงทุนสั่งซื้อเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีมา เพราะนอกจากเครื่องมือเองซึ่งมีราคาหลายล้าน ยังต้องมีระบบสาธารณูปโภคได้แก่ถังก๊าซ ท่อก๊าซ ระบบระบายอากาศ ห้องแอร์สำหรับติดตั้งเครื่อง ฯลฯ จึงควรจะหาห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมืออุปกรณ์และเจ้าหน้าที่พร้อมที่จะให้บริการวิเคราะห์ คอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์เอธานอล มักมีชื่อลงท้ายด้วย wax ขึ้นอยู่กับยี่ห้อ เช่น carbowax, DB-wax เป็นต้น ในปัจจุบันนิยมใช้ capillary column คือเป็นคอลัมน์ที่ดูเหมือนขดลวด นำไปใส่ในตู้อบของเครื่อง แล้วปล่อยก๊าซให้วิ่งไปในคอลัมน์ สารที่แยกด้วยคอลัมน์จะออกมาที่เวลาต่างกัน แล้วใช้ Flame Ionization Detector (FID) ตรวจจับ ส่งสัญญาณไปที่คอมพิวเตอร์สร้างเป็น peak ให้เรานำไปหาค่าพื้นที่ใต้ curve

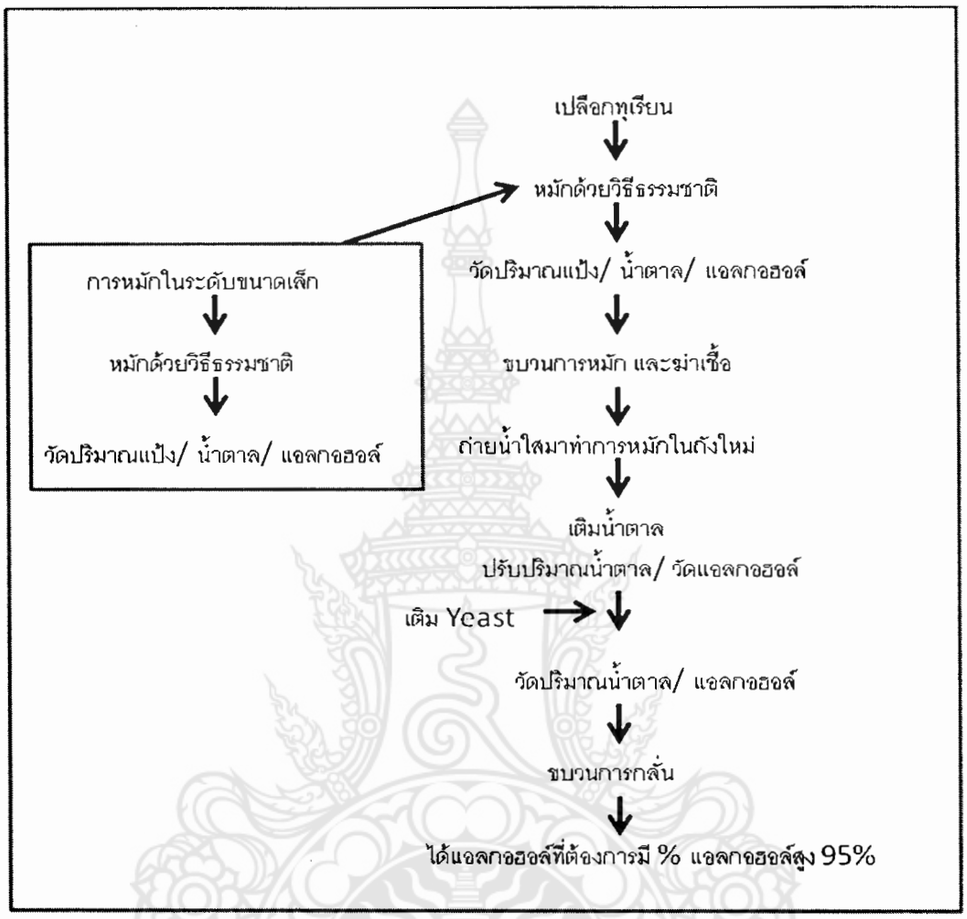
2.4.7 Winescan

Winescan เป็นเครื่องมืออันที่มีประสิทธิภาพสูง สร้างขึ้นมาเพื่อในอุตสาหกรรมไวน์โดยเฉพาะ สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งกรดทั้งหมด กรดระเหยได้ น้ำตาลรีดิวซ์ pH เอธานอล ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ได้ผลออกมาพร้อมๆ กันโดยอัตโนมัติ ในประเทศไทยมีใช้อยู่แห่งเดียวที่บริษัท สยามไวเนอรี่ จำกัด ที่โรงงานบ้านแพ้ว สมุทรสาคร มีราคาสูงมาก (สี่ล้านกว่าบาท)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทำวิจัย

จากงานวิจัยหัวข้อเรื่อง การหมักเปลือกทุเรียนแบบกึ่งแห้งเพื่อผลิตไบโอเอทานอล ทีมผู้วิจัยได้มีขั้นตอนการทำวิจัยในรายละเอียดภาพรวมดังนี้



โดยสามารถอธิบายได้เป็นขั้นตอนมีดังต่อไปนี้

3.1. การเตรียมเปลือกทุเรียน และเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดแยก

การเตรียมเปลือกทุเรียน และเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดแยกเพื่อใช้ในการหมักเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลในระดับขนาดเล็ก

3.1.1 การเตรียมเปลือกทุเรียน

นำเปลือกทุเรียนจำนวน 15 ผล มีน้ำหนักประมาณ 8-15 kg มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กขนาดประมาณ 1 X 1 เซนติเมตร แล้วทำการนำไปต้มจนสุก เปลือกด้านนอกเปลี่ยนสีเขียวเข้ม

3.1.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการย่อยเซลลูโลสเพื่อเปลี่ยนให้เป็นแป้งและน้ำตาล

ทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยเซลลูโลส โดยการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยพืชผักและเปลือกผัก ผลไม้ ในระยะเวลาที่สั้นและให้ปริมาณน้ำตาลที่สูง ด้วยการทดสอบปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยวิธีเบเนดิกส์ (Benedict test) ที่จะให้สีแดงส้ม และหรือให้ปริมาณแป้งในปริมาณสูง (เชื้อเหล่านี้ได้ถูกเตรียม คัดแยก เก็บรักษาไว้เพื่อใช้ตลอดการวิจัย)

3.2 การทดสอบในระหว่างกระบวนการหมักเปลือกทุเรียนให้เป็นแอลกอฮอล์

3.2.1 การหมักเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลในระดับขนาดเล็ก และการทดสอบประสิทธิภาพของการย่อยเพื่อการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล

ในระหว่างขบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสให้เป็นแป้ง และน้ำตาลด้วยการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่ได้จากการคัดแยกเชื้อในธรรมชาติของการหมัก ย่อยสลายที่ให้ได้ปริมาณแป้งและน้ำตาลในปริมาณสูงในระยะเวลาสั้น สามารถทดสอบได้ โดยดูการเปลี่ยนแปลงของเปลือกทุเรียนเป็นแป้ง แล้วทดสอบได้ด้วยสารละลายไอโอดีน

3.2.1.2 การทดสอบปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยวิธีเบเนดิกส์

เมื่อเติมสารละลายเบเนดิกส์ในสารละลายมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่นกลูโคส แล้วนำไปต้มจนเดือดเป็นเวลานาน 5 นาที สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีส้มตะกอนแดงอิฐ โดยมีข้อสังเกตได้ดังนี้ ถ้ามีน้ำตาลโมเลกุลเดียวมาก จะได้ตะกอนสีส้ม ถ้ามีน้ำตาลโมเลกุลเดียวอยู่บ้าง จะได้ตะกอนสีเขียว แต่ถ้ามีน้ำตาลโมเลกุลเดียวอยู่น้อย จะได้ตะกอนสีเหลือง

สมการการทดสอบน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ๆ กับสารละลายเบเนดิกต์ ดังนี้

กลูโคส + สารละลายเบเนดิกต์ $\xrightarrow{\Delta}$ ตะกอนสีแดงอิฐ

ซูโคส + สารละลายเบเนดิกต์ $\xrightarrow{\Delta}$ สารละลายสีเขียวอมเหลือง

การเตรียมสารละลายเบเนดิกส์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

(http://guru.google.co.th/guru/thread?tid=61dd09925009f6fa)

ก. ละลาย คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต เพนตะไฮเดรท (Copper (II) sulfate pentahydrate) 8.65 กรัมในน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร

ข. ละลาย โซเดียมซิเตรท (Sodium citrate) 86.5 กรัม และโซเดียมคาร์บอเนต (anhydrous sodium carbonate) 50 กรัม ในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร

ค. เติมสารละลายข้อ 1 ลงในสารละลายข้อ 2 อย่างช้าๆ จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3.2.2 การทดสอบปริมาณคาร์โบไฮเดรตหรือแป้งด้วยวิธีไอโอดีน

สมการการทดสอบคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลใหญ่กับสารละลายไอโอดีนดังนี้

แป้ง + สารละลายไอโอดีน $\xrightarrow{\Delta}$ สีน้ำเงินเข้ม

ไกลโคเจน + สารละลายไอโอดีน $\xrightarrow{\Delta}$ สีน้ำตาลแกมแดง

เซลลูโลส + สารละลายไอโอดีน $\xrightarrow{\Delta}$ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใด ๆ

3.2.2 กระบวนการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้แป้งและน้ำตาล

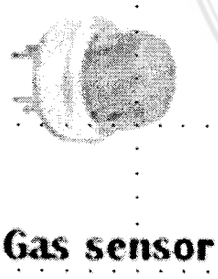
ขบวนการวิเคราะห์จะประกอบด้วยการตรวจสอบปริมาณแป้งที่เพิ่มมากขึ้น ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้น หากมีมากจะได้ตะกอนสีแดงส้ม ด้วยวิธีเบเนดิกส์และหากมีปริมาณแป้งมากจะได้สีน้ำเงินเมื่อทดสอบด้วยวิธีการหยดสารละลายไอโอดีน

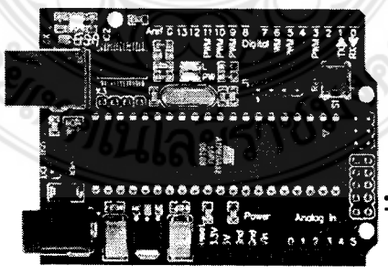
การหมักเปลือกทุเรียนให้ได้น้ำตาลจะใช้ด้วยจุลินทรีย์เฉพาะกลุ่ม ในระดับขนาดเล็ก โดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้น้ำตาลด้วยจุลินทรีย์เฉพาะกลุ่มที่ได้ถูกคัดเลือกไว้

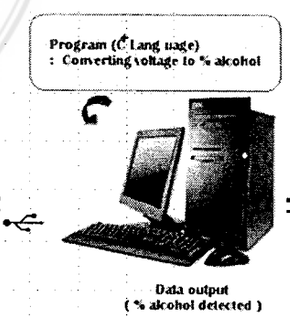
3.2.3 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ของน้ำหมัก

หลังจากการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้น้ำตาล แล้วทำการกรองน้ำหมักเพื่อการเติมเชื้อยีสต์แล้วทำการหมักจนเกิดแอลกอฮอล์ที่ได้ความเข้มข้นที่สูงถึง 14-15% โดยในกระบวนการวิเคราะห์แอลกอฮอล์ที่ได้จะประกอบด้วยการตรวจสอบปริมาณน้ำตาลที่ลดลง จาก 21% BRIX จนถึง 4-6 % BRIX และวัดความเข้มข้นแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ด้วยอุปกรณ์ Vino-o-Meter (ภาพที่ 3.1)**ที่มีขีดอ่านตั้งแต่ 0-30%** และหากมีปริมาณแออลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นจาก **Vino-o-Meter และละเอียดมากขึ้นด้วยเครื่อง gas** sensor (ภาพที่ 3.2)

รูปที่ 3.1 ลักษณะของอุปกรณ์ Vino-o-meter ที่มีความสามารถในการวัดแอลกอฮอล์ในระดับ 0-25% เหมาะใน







การนำมาใช้ในการวัดแอลกอฮอล์จากถังหมักขนาดเล็ก และขนาดกลางที่มีความเข้มข้นแอลกอฮอล์ที่อยู่ในช่วงน้อยกว่า 30% และมีความใส ไม่มีตะกอนโดยต้องทำการกรองก่อนนำมาวัดด้วย vino-o-meter ทำให้การวัดปริมาณแอลกอฮอล์เป็นไปได้ แต่หากมีตะกอนของแข็งในปริมาณน้ำหมักมาก หนืด และมีการตกตะกอนของส่วนเนื้อของเปลือกทุเรียน จำเป็นต้องใช้เครื่อง gas sensor มาใช้

ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างการต่อเครื่องวัดแอลกอฮอล์ gas sensor อย่างง่าย ประกอบด้วย ก) gas sensor เป็นหัวสัมผัสกับไอของสารละลายแอลกอฮอล์ ข) microcontroller และ ค) computer

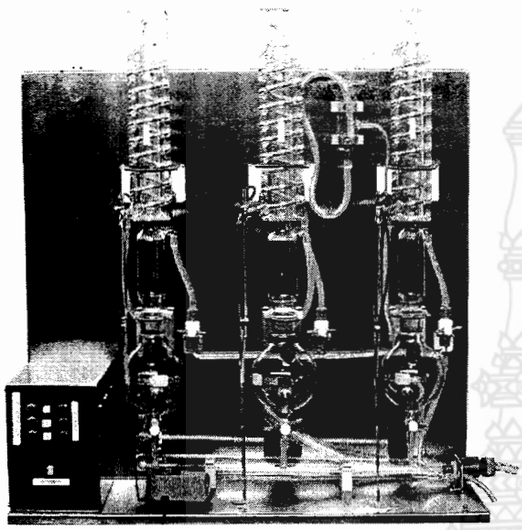
3.3 กระบวนการหมักน้ำตาลที่ได้จากเปลือกทุเรียนให้ได้แอลกอฮอล์ ในระดับขนาดกลาง

3.3.1 กระบวนการแยกแอลกอฮอล์และกลั่นแยกแอลกอฮอล์จากน้ำหมัก

ในการวัดปริมาณแออลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นจะตรวจสอบได้จากการดู % alcohol จากเครื่อง gas sensor พบว่ามีการใช้ที่ยุ่งยาก การปรับอุณหภูมิของน้ำหมักให้คงที่สม่ำเสมอทุกครั้ง ต้องมีการ calibrate แอลกอฮอล์มาตราฐานบ่อยครั้งในการวัดใช้เวลานาน ค่ามีความคลาดเคลื่อนสูงหากใช้วัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นสูง จะมีการระเหยได้ไว การวัดด้วยเครื่องนี้เหมาะกับการใช้วัดปริมาณแอลกฮอล์ที่มีปริมาณน้อย (น้อยกว่า 3-4% แอลกอฮอล์) เพราะเครื่องใช้หลักการระเหยเป็นไอของแอลกอฮอล์ไปในอากาศ จึงเปลี่ยนมาใช้การวัดความถ่วงจำเพาะด้วยเครื่อง alcholemeter ดังรูปที่ 3.3 และอุปกรณ์ที่ใช้ในการกลั่นเพื่อแยกแอลกอฮอล์คือเครื่อง High speed alcohol distillation (รูปที่ 3.4) โดยต้องมีการติดตามอุณหภูมิในระหว่างการกลั่น (บทที่ 4 กราฟแสดงแสดงความสัมพันธ์ของอุณภูมิของการกลั่นแอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในของเหลวและไอที่สามารถวัดได้)

รูปที่ 3.3 แสดงเครื่อง alcohol meter ใช้เพื่อตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้หลังจากการกลั่นน้ำ

หมัก สามารถวัดได้ที่ความเข้มข้นสูงถึง 70%



รูปที่ 3.4 แสดงเครื่องมือ High speed alcohol distillation ที่ได้ถูกใช้ทดสอบดูประสิทธิภาพของการกลั่นแอลกอฮอล์โดยอาศัยหลักการปรับวัดอุณหภูมิของการเดือดตามตารางที่แสดงความสัมพันธ์ของอุณภูมิของการกลั่นแอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในของเหลวและไอที่สามารถวัดได้

3.4. การถ่ายทอดนำเสนอผลงานขั้นตอนกระบวนการหมักแอลกอฮอล์

3.4.1 นำเสอนผลงานวิชาการที่ การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ *3* ระหว่างวันที่ 10-12 ตุลาคม 2554 โรงแรมเซ็นทารา แกรนด์ แอท เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพ และ Textiles & Fashion The 4th *RMUTP International Conference* ของมหาวิทยาลันเทคโนโลยีราชมลคลพระนคร ระหว่างวันที่ 3-4 กรกฎาคม 2555 โรงแรม Pullman Bangkok King Power กรุงเทพ

3.4.2. เพื่อเผยแพร่องค์ความรู้ที่ได้จากการหมักเปลือกทุเรียน พร้อมทั้งกระบวนการกลั่นที่ได้ที่ชุมชน กลุ่มผลิตไวน์ ตำบลห้วยข้าวก่ำ อำเภอจุน จังหวัดพะเยา และกลุ่มเกษตรทำไร่ชอนสารเดช ตำบลชอนสารเดช อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี

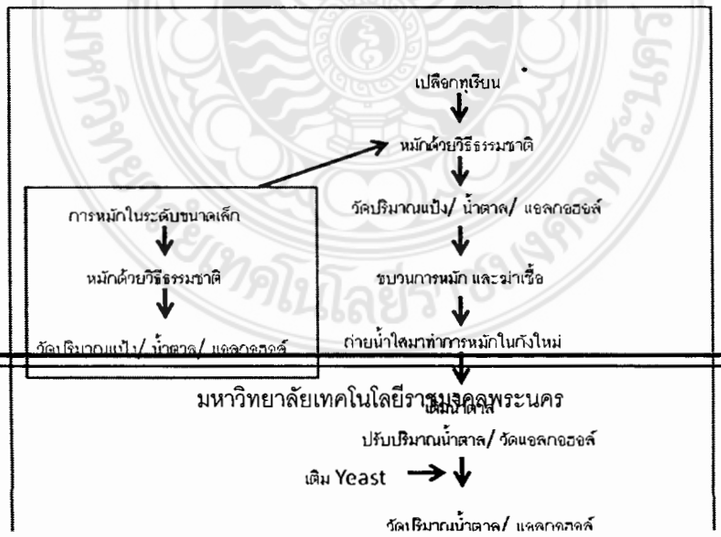
บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากการศึกษางานวิจัยเรื่องการหมักเปลือกทุเรียนแบบกึ่งแห้งเพื่อผลิตไบโอเอทานอล คณะผู้วิจัยได้ทำการวิจัยเป็นขั้นตอนดังต่อไปนี้

4.1. ขบวนการหมักเปลือกทุเรียน

ในขั้นตอนการหมักเปลือกทุเรียนกิโลกรัม สามารถแยกขั้นตอนของการทำงานในรูปของ Flow chart ดังนี้



จากการทดลองการหมักเปลือกทุเรียนพบดังนี้

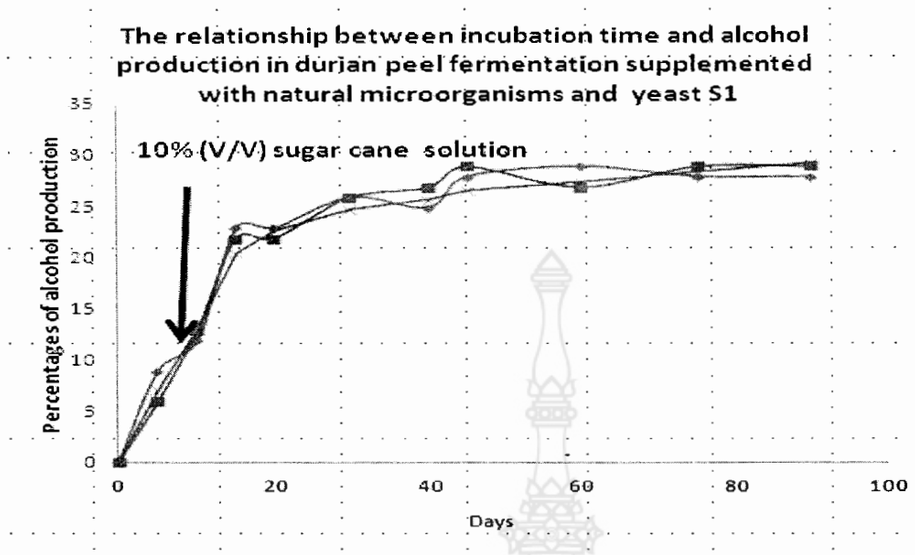
ก. ในกระบวนการเตรียมเปลือกทุเรียนพบว่าจำเป็นต้องมีการต้มจนเปลือกทุเรียนยุ่ย เพื่อย่อยเปลือกทุเรียนและทำให้ส่วนแป้งและน้ำตาลในเปลือกทุเรียนสามารถย่อยได้ แยกออกจากส่วนเส้นใยเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น และทำให้กระบวนการหมักใช้เวลาน้อยลง

ข. ในกระบวนการย่อยเปลือกทุเรียนด้วยจุลินทรีย์จะทำให้ได้น้ำหมักเพื่อไปหมักแอลกอฮอล์ต่อที่มีคุณภาพดีกว่าการใช้กรดเกลือ (HCl) ที่ก่อให้เกิดสภาพเป็นกรดสูง ต้องมีการปรับลดความเป็นกรดลงให้ได้ที่ pH 3.5-4 ด้วยด่าง NaOH ในปริมาณมาก ซึ่งการปรับด้วยด่างหลังการเติมกรด พบว่ามีผลต่อของการเจริญเติบโตการลดลงของเชื้อยีสต์และมีผลต่อการสร้างแอลกอฮอล์ในขั้นตอนกระบวนการหมักน้ำหมักให้ได้แอลกอฮอล์

4.1.1 การทดสอบคุณภาพการหมักเปลือกทุเรียน

โดยทำการเพิ่มขนาดการหมักจากระดับขนาดเล็ก 20-30 ml เป็นขนาดกลาง ด้วยถังขนาด 50 ลิตร จำนวน 3 ถัง โดยเปรียบเทียบการหมักเป็น 3 แบบ คือ การเติม (1) 10% (V/V) ของ natural microorganisms ที่ทำการแยกได้จากเปลือกทุเรียน ที่ได้คัดแยกได้จากงานวิจัยนี้ (รายละเอียดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้มีรายละเอียดในหัวข้อ) (2) การเติม 10% (V/V) yeast *Saccharomyces cerevisae* (EC 118)(1-2 X10^8 CFU/ml) (3) การเติมทั้ง 10% (V/V) 10% (V/V) yeast *Saccharomyces cerevisae* (EDV 493)(1-2 X10^8 CFU/ml). ผลการ

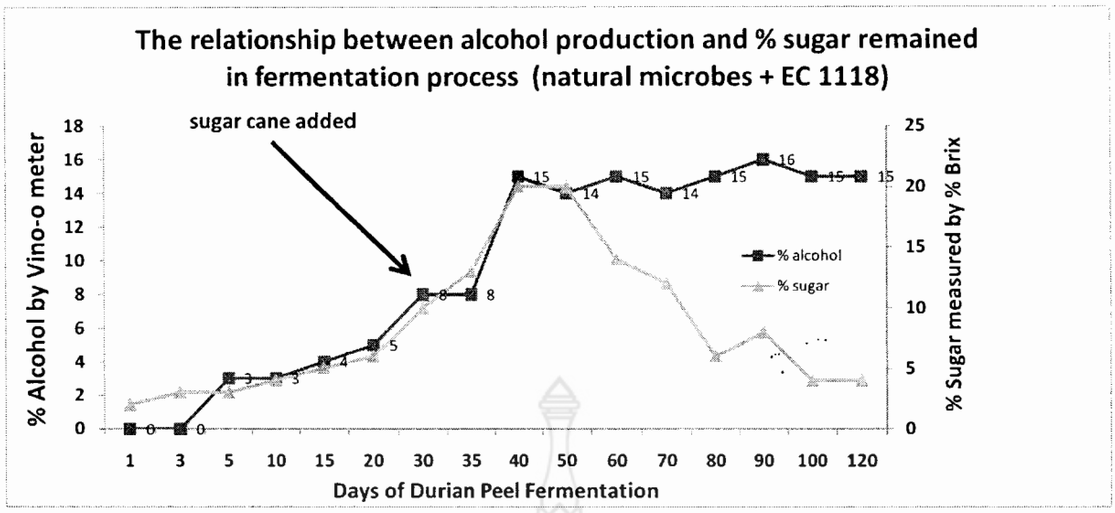
หมักให้ได้% แอลกอฮอล์สามารถแสดงในรูปของกราฟ **ภาพที่ 4.1** และในการศึกษาระดับการหมักขนาดกลางนี้ ได้ใช้เครื่องVino-o-meter เพื่อใช้ตรวจสอบ % แอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน



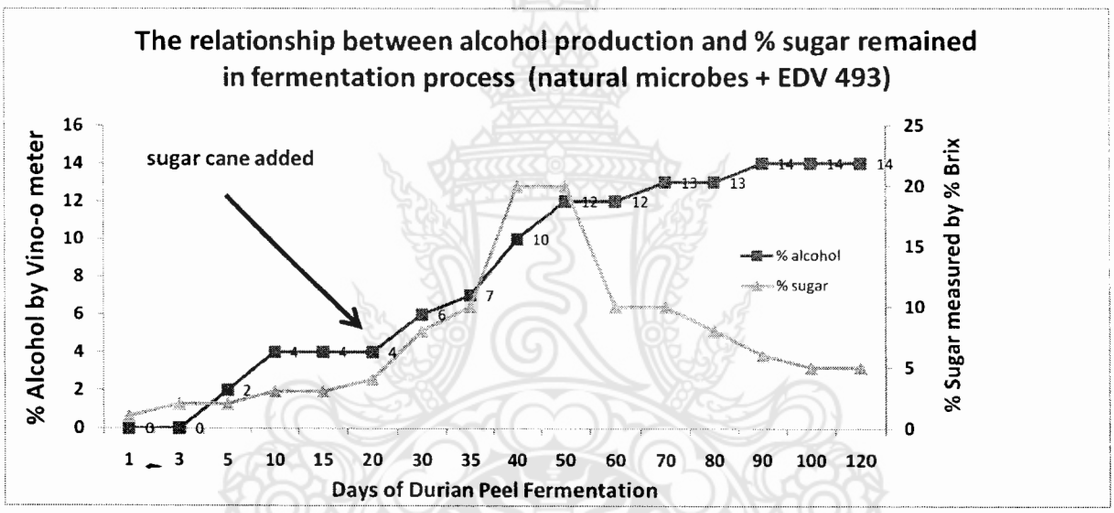
ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการหมักเป็นเวลา 2 เดือนและปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ (%) จากเครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้ทั่วไปอุตสาหกรรมหมักไวน์ (Vino-o-meter) เริ่มตั้งแต่การหมัก และแสดงตำแหน่งการปรับเพิ่มน้ำตาลทรายให้ได้ % 20 Brix โดยมีปริมาณของแอลกอฮอล์ที่วัดด้วยเครื่องวัดแอลกอฮอล์อย่างง่ายได้จากการหมักด้วยสภาวะที่เหมาะสม คือ 1) การเติม natural microorganisms แล้วเติมด้วย *Saccharomyces cerevisae* (EC1118) หรือ *Saccharomyces cerevisae* (EDV 493)

4.1.2 การพัฒนาการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้ปริมาณแป้งและน้ำตาลในปริมาณสูง

ก. เมื่อทำการเลี้ยงด้วยเชื้อธรรมชาติ แล้วเติมด้วย yeast EC 1118



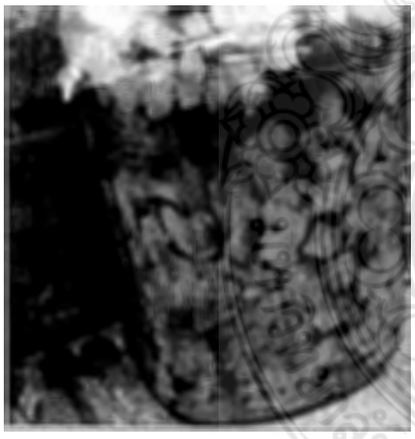
ข. เมื่อทำการเลี้ยงด้วยเชื้อธรรมชาติ แล้วเติมด้วย yeast EDV 493



ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณแอลกอฮอล์ที่วัดได้เมื่อทำการปรับสภาวะการเลี้ยงที่มีการเติมทั้ง natural microorganisms และ S1 (B) และเติม 10% (V/V) ของน้ำอ้อยหลังจากการหมักได้เป็นเวลา 10 วัน ระหว่างการหมัก เก็บตัวอย่างมาทำการตรวจวัดแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องตรวจวัดแอลกอฮอล์อย่างง่าย

4.2 การคัดเลือกและเตรียม stock เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติจากการหมักแบบกึ่งแห้ง

รูปที่ 4.3 แสดงขั้นตอนการเตรียมเชื้อธรรมชาติที่ได้คัดแยกมาจากการหมักเปลือกทุเรียนครั้งก่อนๆ โดยเลือกกลุ่มเชื้อที่ให้ปริมาณน้ำตาลในปริมาณสูง 25-35 % BRIX ในเวลาน้อยกว่า 20 วัน มาหมักเปลือกทุเรียนต้มเพื่อเป็น stock ไว้ใช้ในการหมักขนาดใหญ่ โดยทำการหมักเป็นเวลานาน 20-25 วัน โดยดูได้จากการเปลี่ยนแปลงของเปลือกทุเรียนที่ยุ่ยแล้วมีการลอยตัวขึ้น (จากภาพก. เปลี่ยนเป็นภาพ ข.) การหมักจะทำจนปริมาณแป้งลดลง และได้น้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นจนถึง 25% BRIX เป็นอย่างต่ำ แล้วจึงนำไปเติมในถังหมักขนาดใหญ่ที่มีปริมาตร 500 ลิตร โดยใส่ในอัตราส่วน (1:50)

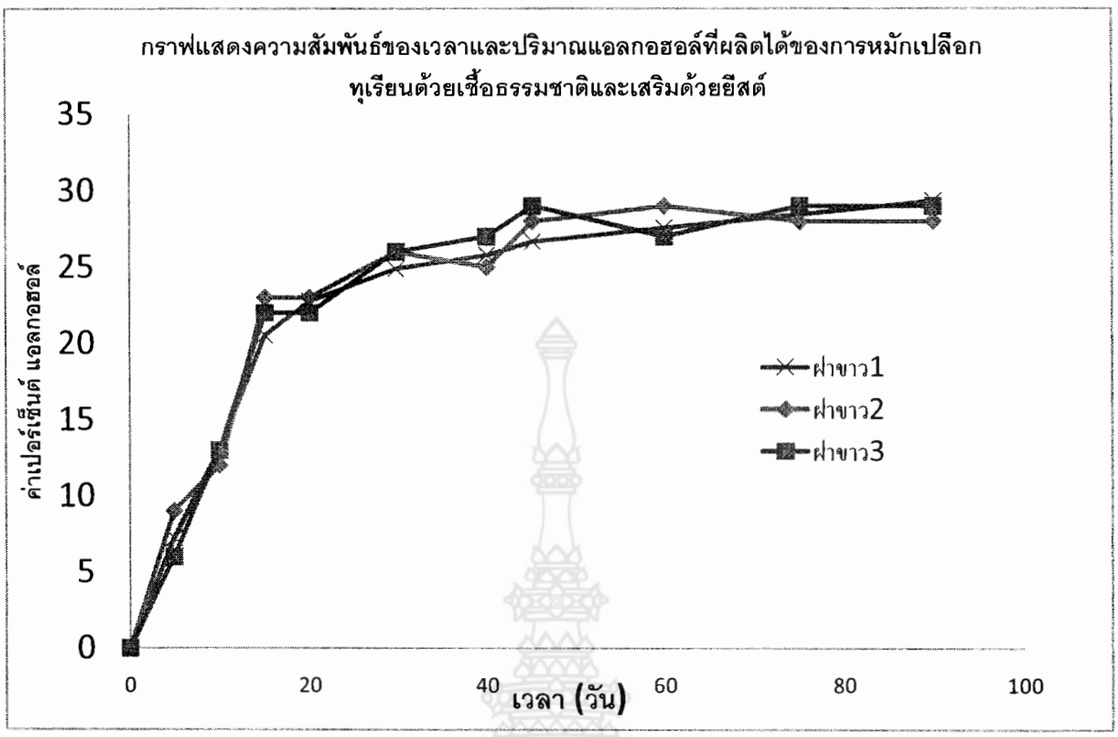


รูปที่ 4.4 แสดงตัวอย่างเปลือกทุเรียนที่ผ่านการหมักธรรมชาติโดยไม่มีการกระตุ้นเติมเชื้อธรรมชาติ stock ที่ผ่านการเลี้ยงมาในช่วงที่เจริญดี โดยปล่อยให้มีการย่อยตามธรรมชาติของเชื้อที่ได้ในระยะแรก ทำการหมักเป็นเวลานาน 2 เดือน จะเห็นได้ว่าจากสภาพที่เปลือกทุเรียนที่มีการย่อยได้บ้างแต่ไม่ดีพอ มีบางส่วนที่ลอยตัวแต่ปริมาณแป้งและน้ำตาลที่ได้น้อยมาก (น้อยกว่า 15% BRIX) ทำให้ได้น้ำหมักที่มีคุณภาพต่ำ ต้องมีการเติมโมลาสในปริมาณมากกว่าจะได้

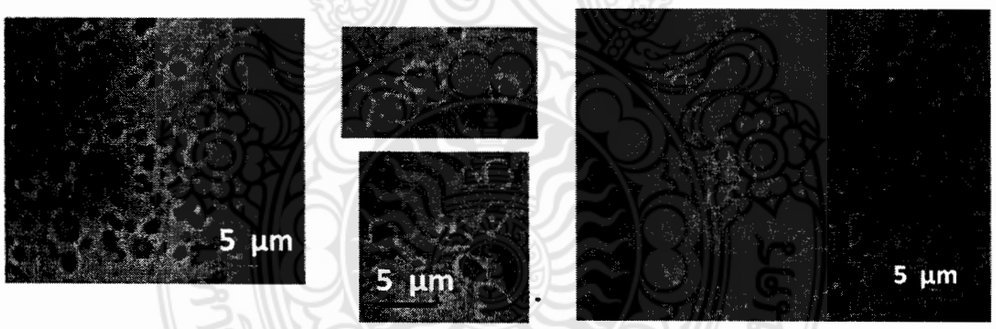
ความเข้มข้นน้ำตาลถึง 20-22% BRIX

สายพันธุ์หรือรหัสทางการค้า	คุณสมบัติ
Lalvin K1V-1116	แยกจาก Montpellier ฝรั่งเศส เหมาะสำหรับหมักไวน์แดง เป็น killer ทนแอลกอฮอล์ได้ถึง 14 % หมักได้ดีที่อุณหภูมิสูง เริ่มการหมักได้เร็ว เหมาะในการเริ่มการหมักที่หยุดชะงัก
Lalvin EC-1118 (champagne)	สำหรับไวน์ขาวและแดงที่ต้องการหมักอย่างรวดเร็วและรสชาติกลางๆ เป็น killer และหมักได้ระหว่าง 8-30 C และแอลกอฮอล์ 16 %
Danstil รุ่นต่างๆ	ยีสต์ที่แยกจากกากน้ำตาล เหมาะกับการหมักโมลาส สำหรับกลั่นสุรา

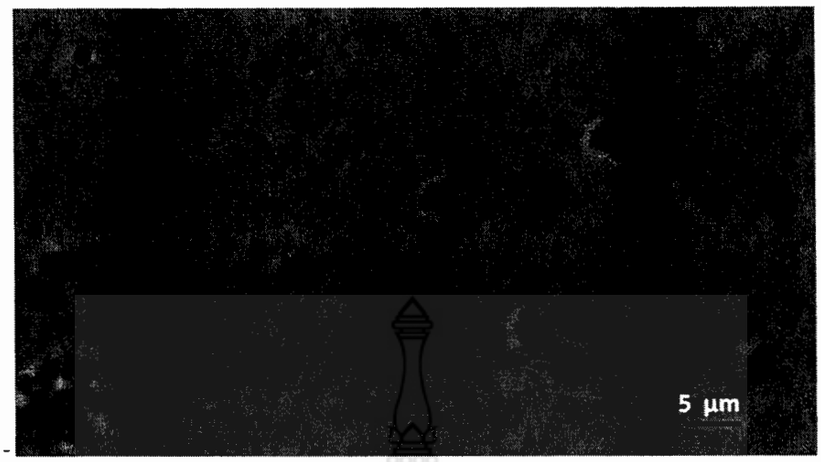
ตารางที่ 4.1 ตัวอย่างเชื้อยีสต์ทางการค้าสายพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ ในที่นี้ทีมวิจัยได้เลือกใช้เชื้อ EC-1118 ที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูง (16%)



รูปที่ 4.5 แสดงตัวอย่างผลของการหมักด้วยวิธีการที่ต่างกันของการใช้เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติจากเปลือกทุเรียน เป็นระยะเวลา 1 เดือน



ก. ข.

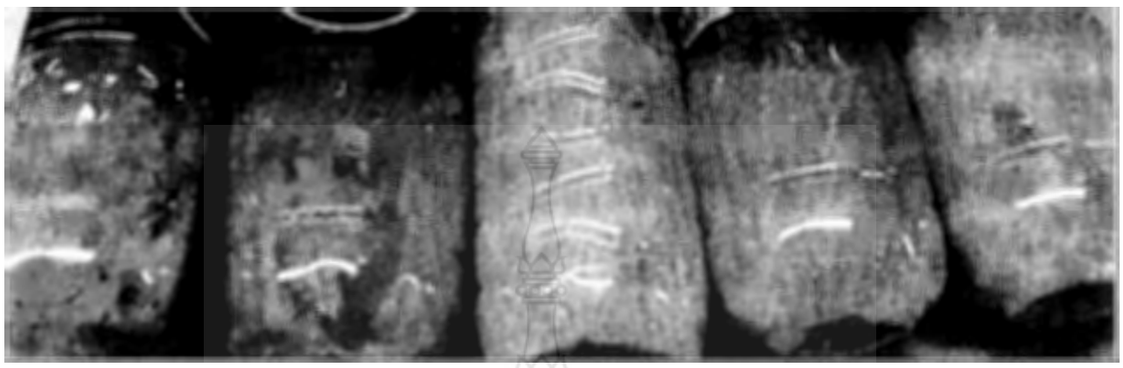


ค.

รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ขนาด 40X แสดงลักษณะของเชื้อต่างๆ ที่แยกได้จากการหมักแอลกอฮอล์จากเปลือกทุเรียนแบบกึ่งแห้ง ก. เชื้อยีสต์ที่พบหลังการเติมในกระบวนการหมัก ข. เชื้อที่พบในกระบวการหมักระยะแรก 15 วัน และ ค. เชื้อที่พบหลังจากการหมักเป็นเวลา 2 เดือน

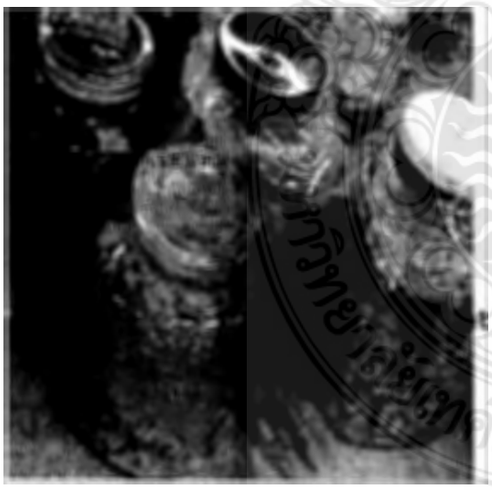
ในกระบวนการการเตรียมเชื้อธรรมชาติ stock เลี้ยงจนได้ช่วงที่เจริญดี เพื่อการหมักแอลกอฮอล์ให้ได้ปริมาณมาก ในระยะเวลาสั้น สามารถทำได้ดังนี้

รูปที่ 4.7 แสดงการเตรียมเชื้อธรรมชาติ stock เลี้ยงจนได้ช่วงที่เจริญดี มีจำนวน 8 X 10^{12} เซลล์ ต่อมิลลิลิตร โดยทำการเลี้ยงด้วยการหมักเปลือกทุเรียนต้ม พบว่าเชื้อเหล่านี้สามารถให้ปริมาณน้ำตาลสูง 25-32% BRIX (เปลือกทุเรียน 200 กรัม ในของเหลว 900 มิลลิลิตร เวลาที่ใช้ในการหมักจากการทดสอบตั้งแต่ 10 (ก. ข.) 20 (ค. ง.) และ 30 วัน (จ.) โดยพบว่าเชื้อตั้งแต่ 20 วัน สามารถให้ปริมาณเชื้อที่สูงถึง 1-10 X 10^{12} เซลล์ ต่อมิลลิลิตร

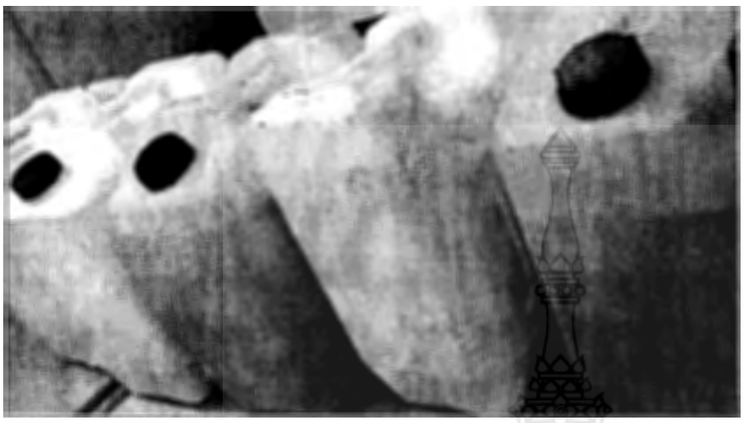


รูปที่ 4.8 แสดงการคัดเลือกกลุ่มเชื้อธรรมชาติ จากเชื้อธรรมชาติทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และราที่มีศักยภาพในการย่อยเปลือกทุเรียนได้ต่างกัน โดยผ่ทำการหมักเปลือกทุเรียนต้มในชวดต่างๆ เป็นเวลานาน 30 วัน กลุ่มเชื้อที่ได้จากชวด ค และ จ พบว่าเป็นเชื้อธรรมชาติ stock ที่มีศักยภาพในการย่อยที่ดี เพราะสามารถย่อยเปลือกทุเรียนได้ไว เลี้ยงจนได้ช่วงที่เจริญดี มีจำนวน เชื้ออยุในช่วง 1-20 X 10^{11} เซลล์ ต่อมิลลิลิตร

4.3 การหมักเปลือกทุเรียนในระดับขนาดเล็กและพัฒนาการหมักในระดับขนาดกลาง

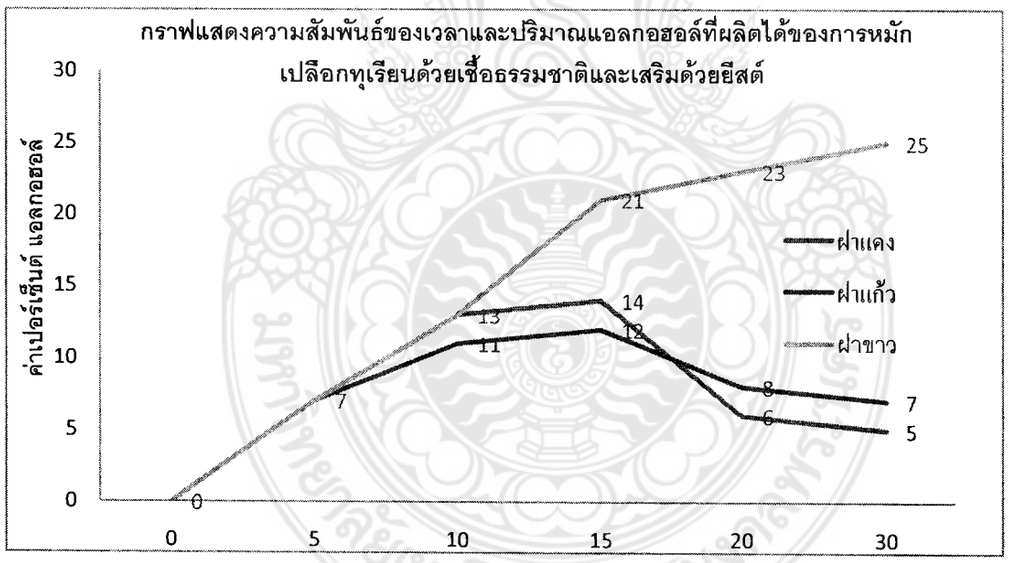


รูปที่ 4.9 แสดงตัวอย่างการหมักเปลือกทุเรียนที่ผ่านการต้มแล้วหมักธรรมชาติในสภาวะไม่มีออกซิเจนเป็นเวลานาน 30 วัน ก่อนการนำน้ำหมักไปหมักเพื่อเกิดแอลกอฮอล์ โดยเริ่มตั้งแต่วันที่ต้ม (A) หลังจากนั้นเป็นเวลานาน 20 วัน (B) เมื่อเทียบกับตัวอย่างเปรียบเทียบ (C, Control)



รูปที่ 4.10 แสดงตัวอย่างน้ำหมักที่ผ่านการหมักด้วยยีสต์บริสุทธิ์ (ECที่ผ่านการคัดเลือกในระดับขนาดใหญ่ ได้จำนวน 28 ถัง (ถังขนาด 50 ลิตร)

4.3.1การหมักเปลือกทุเรียนในระดับขนาดเล็ก



รูปที่ 4.11 แสดงตัวอย่างผลของการหมักด้วยวิธีการที่ต่างกันของการใช้เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติจากเปลือกทุเรียน เป็นระยะเวลา 1 เดือน

ฝาแดงแสดงถึงการหมักเปลือกทุเรียนธรรมชาติ ไม่เติมเชื้อเลย

ฝาแก้วแสดงถึงการหมักเปลือกทุเรียนธรรมชาติ ไม่เติมเชื้อแต่มีการเติมน้ำตาลทรายปริมาณ 10%

ฝาขาวแสดงถึงการหมักเปลือกทุเรียนที่มีการเติมเชื้อยีสต์ Saccharomyces cervisiae หลังจากการตรวจสอบพบปริมาณน้ำตาลลดลงเหลืออย่างน้อย 10%

4.3.1 การพัฒนาขั้นตอนการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำหมักให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ในปริมาณมาก

การพัฒนาขั้นตอนการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำหมักให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ในปริมาณมากจะประกอบด้วยการพัฒนาดังนี้

ก. การหมักเปลือกทุเรียนต้มสุกจนกระทั่งได้ปริมาณแป้งและน้ำตาลในปริมาณมากจนคงที่ (หมักเป็นเวลา 30-40 วัน) แล้วปรับด้วยโมลาสจนได้ความเข้มข้น 20-22 % BRIX แล้วจึงกรองน้ำหมักมาเติมเชื้อยีสต์ EC1118 โดยพบว่าอัตราการเจริญของยีสต์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจาก 10 – 25 $^{\circ}$C การหมักน้ำหมักเพื่อการกลั่นตามหลักการจะควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงเกิน 25 $^{\circ}$C

ข. นอกจากนี้ในการหมักน้ำหมักต้องเติม SO_2 ในรูป KMS ลงในน้ำหมัก จำนวน 0.1% (w/v) เพื่อควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ธรรมชาติ โดยจะลดปริมาณยีสต์เริ่มต้นในน้ำหมักลงประมาณ 10 เท่า และทำให้เกิดระยะพักตัว (lag phase) ประมาณ 1-2 วัน ก่อนจะเริ่มเกิดการหมัก ทั้งนี้จะทำการเตรียมน้ำหมักโดยเติมKMS พักไว้ก่อนหนึ่งคืนก่อนการใส่ยีสต์ลงไป

ค. การเตรียมหัวเชื้อยีสต์ไม่ควรใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลมากเกินไป หากต้องการจำนวนยีสต์มาก อาจลดน้ำตาลลงจากน้ำหมัก คืออาจเหลือเพียง 10 องศาบริกส์ ค่าพีเอ็ชที่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์อยู่ในช่วง 3.5 – 4.0 แล้วยังสามารถเพิ่มความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ให้มีความเข้มข้นมากขึ้น เพื่อนำไปใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดแยกสารซึ่งโดยปกติจะใช้แอลกอฮอล์ความบริสุทธิ์ 70% 80% และ 90% นับว่าเป็นประโยชน์ต่อวงการวิทยาศาสตร์เป็นอย่างมาก

4.3.2 ลักษณะการเจริญของเชื้อที่เจริญและผลการเกิดในระหว่างขั้นตอนการหมัก

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อที่ใช้ในการหมักเปลือกทุเรียนที่ได้จากการคัดแยกเชื้อธรรมชาติ และเชื้อที่ใช้ในการหมักไวน์และหมักแอลกอฮอล์ และผลการเกิดน้ำตาลและแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมัก

ชนิดเชื้อ	เวลาที่ใช้ในการหมัก/ ส่วนที่ได้	ชนิดเชื้อที่เด่น	ลักษณะ/ ประเภทเชื้อ / การเปลี่ยนแปลงที่พบ
1. เชื้อธรรมชาติที่ได้จากเปลือกทุเรียน	3 เดือน/ น้ำตาลและแป้งในปริมาณมาก/ 4-6% แอลกอฮอล์	แบคทีเรีย รูปร่างท่อนแกรมบวก	รา + แบคทีเรีย + ยีสต์ เมื่อนานขึ้นพบแต่ รา และแบคทีเรีย / มีการย่อยเปลือกทุเรียนได้วุ้น และแป้งออกมาปริมาณมาก มีน้ำตาลมากขึ้นจนถึง 5-6% Brix
2. เชื้อธรรมชาติ + yeast EC 1118	3 เดือน/ น้ำตาลและ 14-15% แอลกอฮอล์ในปริมาณมาก	ยีสต์	เชื้อธรรมชาติ และเมื่อแยกน้ำออกมาทำการฆ่าเชื้อแล้วเติมยีสต์ / มีการสร้างน้ำตาลมากขึ้น จนถึง 8-12% Brix ปริมาณวุ้นมากขึ้น
			หลังจากการเติมน้ำตาลเพิ่มจนได้ 25% Brix จนพบว่าได้ 14-15% แอลกอฮอล์ พบว่ามียีสต์เท่านั้น
3. เชื้อธรรมชาติ + yeast EDV 493	3 เดือน/ น้ำตาลและ 14-15%	ยีสต์	เชื้อธรรมชาติ และเมื่อแยกน้ำออกมาทำการฆ่าเชื้อแล้วเติมยีสต์ / มีการสร้างน้ำตาลมากขึ้น จนถึง 8-12% Brix ปริมาณวุ้นมากขึ้นน้ำใสมากขึ้น

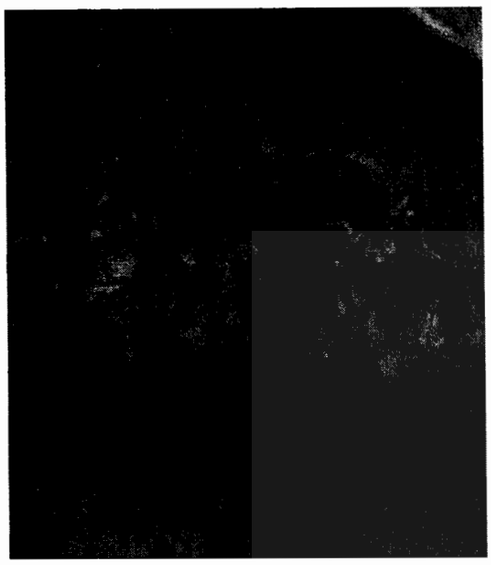
	แอลกอฮอล์ในปริมาณมาก		หลังจากการเติมน้ำตาลเพิ่มจนได้ 20% Brix จนพบว่าได้ 14-15% แอลกอฮอล์ พบว่ามียีสต์เท่านั้น

4.3.3 การพัฒนาการกลั่นแอลกอฮอล์จากระดับในห้องปฏิบัติการ (ขนาดเล็กและขนาดกลาง) จนเป็นขนาดใหญ่

ในการพัฒนาการกลั่นแอลกอฮอล์จากระดับในห้องปฏิบัติการ (ขนาดเล็กและขนาดกลาง) จนเป็นขนาดใหญ่ จำเป็นต้องจัดการในหลายด้าน ที่สามารถแจกแจงออกได้ดังนี้

ก. การปรับในกระบวนการหมักขนาดระดับกลาง เพื่อให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูง ด้วยการปรับด้วยปริมาณน้ำตาง Brix ให้ได้ 20 % ด้วยเชื้อธรรมชาติที่ได้ทำการคัดแยกแล้วพบว่าสามารถเปลี่ยนเซลลูโลส และแป้งให้เป็นน้ำตาลได้สูง แล้วทำการเติมเชื้อ yeast EC 1118 หรือ EDV 493 ที่ใช้กันในการหมักไวน์และแอลกอฮอล์ จากปริมาตรขนาดเล็ก 20-30 ml ไปเป็นถังขนาดกลาง 50 L จนถึงถังขนาดใหญ่ปริมาตร 500 ลิตร

รูปที่ 4.12 ตัวอย่างการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้แอลกอฮอล์จากถังหมักขนาดใหญ่ปริมาตร 500 ลิตร จำนวน 5 ถัง เพื่อการกลั่นแอลกอฮอล์



รูปที่ 4.13 แสดงตัวอย่างของการหมักในระดับขนาดใหญ่ในถังพลาสติกของเหลวมีปริมาตร 300 ลิตร โดยใช้เปลือกทุเรียนประมาณ 80 กิโลกรัม (ปริมาตรของเปลือกทุเรียนต่อของเหลว; 1: 5) ผ่านการต้ม เมื่อทำการหมักด้วยเชื้อธรรมชาติที่ได้คัดเลือก (1: 50) จากขั้นตอนการเตรียมเชื้อเป็นเวลานาน 20 วัน โดยเปลือกทุเรียนมีการยุ่ย เริ่มมีปริมาณแป้งและน้ำตาลในปริมาณสูง (ปริมาณแป้งที่ย่อยเป็นน้ำตาลและน้ำตาล ประมาณ 25-37% BRIX) แล้วปรับด้วยการเติมน้ำให้ได้ปริมาตรพร้อมทั้งเติมโมลาสจนได้ความเข้มข้นน้ำตาลรวมเท่ากับ 20% BRIX แล้วหมักเป็นเวลานาน 30 วัน ก่อนทำการแยกกากด้วยการกรองออก แล้วจึงนำน้ำหมักที่ได้ไปเติมเชื้อยีสต์ต่อ

ในการวัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นจะตรวจสอบได้จากการดู % alcohol จากที่เคยใช้เครื่อง gas sensor แต่พบว่ามีการใช้ที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน ค่ามีความคลาดเคลื่อนสูง ขึ้นกับปริมาณแอลกอฮอล์หากมีปริมาณมาก (มากกว่า 30% แอลกอฮอล์) ค่าที่ได้จะไม่แม่นยำ เพราะเครื่องใช้หลักการระเหยเป็นไอของแอลกอฮอล์ไปในอากาศ และยังต้องมีการปรับอุณหภูมิของน้ำหมักให้คงที่สม่ำเสมอทุกครั้ง ต้องมีการ calibrate แอลกอฮอล์มาตราฐานบ่อยครั้งในการวัด จึงได้เปลี่ยนมาใช้เครื่อง alcoholmeter (รูปในบทที่ 3)

ข. เครื่องมือที่เหมาะสมในการตรวจวัดความเข้มข้นของแอลกอฮอล์

เครื่องมือที่สามารถวัดความเข้มข้นแอลกอฮอล์ในปริมาณสูงถึง 70-80% ได้ดีคือ alcoholemeter

ค. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการกลั่น คือHigh speed alcohol distillation ที่ได้ถูกใช้ทดสอบดูประสิทธิภาพของการกลั่นแอลกอฮอล์โดยอาศัยหลักการปรับวัดอุณหภูมิของการเดือดตามตารางที่แสดง

ความสัมพันธ์ของอุณภูมิของการกลั่นแอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในของเหลวและไอที่สามารถวัดได้ (รูปในบทที่ 3)

ในกระบวนการวัดความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ได้จากการกลั่นด้วย High speed alcohol distillation จำเป็นต้องให้อุณหภูมิคงที่ ซึ่งมักพบว่าในห้องทดลองที่ 26°C จำเป็นต้องใช้ค่า CF (correction factor) เพื่อแก้ไขค่าให้ถูกต้องแม่นยำขึ้นตามสูตรในตารางดังนี้ โดยนำผลการวัดความเข้มข้นแอกอฮอล์ที่ได้หลังจากกลั่น ค่าที่ได้ตารางที่ 4.4

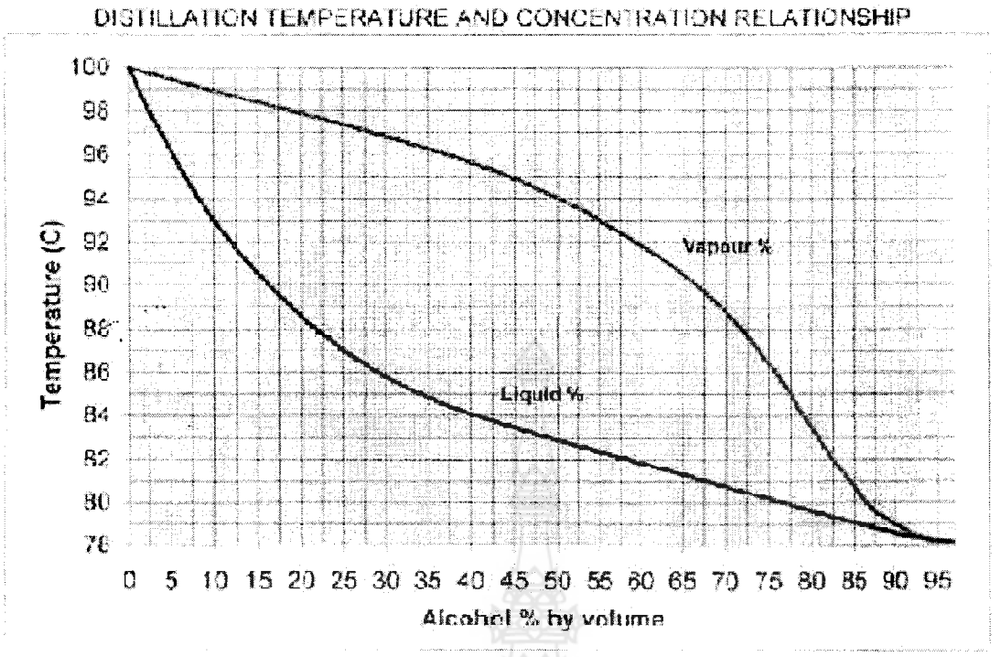
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าผลการวัดความเข้มข้นแอกอฮอล์ที่ได้หลังจากกลั่น โดยค่าที่ได้หลังจากคูณต้องนำมาด้วยหลังจากคูณด้วยคูณด้วยค่า CF

)

Temperature Correction factors (for hydrometers calibrated at 20 °C)					
Temp	CF	Temp	CF	Temp	CF
10	1.03	30	0.97	50	0.91
11	1.027	31	0.967	51	0.907
12	1.024	32	0.964	52	0.904
13	1.021	33	0.961	53	0.901
14	1.018	34	0.958	54	0.898
15	1.015	35	0.955	55	0.895
16	1.012	36	0.952	56	0.892
17	1.009	37	0.949	57	0.889
18	1.006	38	0.946	58	0.886
19	1.003	39	0.943	59	0.883
20	1	40	0.94	60	0.88
21	0.997	41	0.937	61	0.877
22	0.994	42	0.934	62	0.874
23	0.991	43	0.931	63	0.871
24	0.988	44	0.928	64	0.868
25	0.985	45	0.925	65	0.865
26	0.982	46	0.922	66	0.862
27	0.979	47	0.919	67	0.859
28	0.976	48	0.916	68	0.856
29	0.973	49	0.913	69	0.853

ง. การจัดการอุณหภูมิของการกลั่นเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์ที่บริสุทธิ์มากขึ้น

ในระหว่างการกลั่นต้องคอยติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของการเดือดของแอลกอฮอล์ที่มีจุดเดิดปรกติหากเป็นแอลกอฮอล์ 100 % ที่ 73-75°c แต่แอลกอฮอล์ในน้ำหมักนี้ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของแอลกอฮอล์ที่ 10-15% จะต้องอุ่นน้ำหมักในเครื่องกลั่นช้า ๆ ในช่วงอุณหภูมิ 88-94°c แล้วทำการแยกไอน้ำที่กลั่นตัวออกมา แล้วตรวจสอบดูการติดไฟ เพื่อดูว่าแอลกอฮอล์หรือไม่อย่าง



(ที่มา www.homedistiller.org)

รูปที่ 4.14 แสดงความสัมพันธ์ของอุณภูมิของการกลั่นแอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในของเหลวและไอที่สามารถวัดได้

จ. แอกลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการหมักน้ำหมักพบว่ามีจุดเดือดที่ค่อนข้างตรงกับทฤษฎี

เมื่อทำการหมักเปลือกทุเรียนต้มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติและนำน้ำหมักมาหมักต่อด้วยเชื้อเชื้อยีสต์จนได้ปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 12-15% เพื่อการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นประมาณ 10-15 % ควรจะเดือดที่อุณหภูมิประมาณ 90-92°C ในขณะที่ตามทฤษฎีหากแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 90-92% จะมีอุณหภูมิจุดเดือดที่ประมาณ 78-79°C ที่ระดับน้ำทะเล ซึ่งในกระบวนการแยกนี้ผู้วิจัยได้ทำการแยกแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมเหล่านี้ได้ โดยหลักการคือการกลั่นแบบช้าๆจนกระทั่งส่วนหัวที่จะได้สารหลายอย่างที่มีจุดเดือดต่ำกว่าออกมา จะทิ้งส่วนนี้ไป จะเก็บส่วนกลางไว้ โดยทำการตรวจสอบด้วยนำผ้าไปจุ่มแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้มาจุดไฟ จนกระทั่งประมาณ 30 นาทีที่ผ้าที่จุ่มส่วนที่กลั่นได้ไม่ติดไฟ

4.4 การพัฒนาขั้นตอนการหมัก การกลั่นแอลกอฮอล์ให้เหมาะสมกับการใช้ในชุมชน

การทดสอบที่ได้ส่งต่อให้ชุมชนชุมชน กลุ่มผลิตไวน์ ตำบลห้วยข้าวก่ำ อำเภอจุน จังหวัดพะเยา และกลุ่มเกษตรทำไร่ชอนสารเดช ตำบลชอนสารเดช อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี ลองทำการกลั่นแอลกอฮอล์

จากการที่ชุมชนได้เคยกลั่นแอลกอฮอล์จากการทำไวน์ข้าวเหนียวใช้เองในชุมชนมาก่อนแล้ว ชุมชนได้ทำตามขั้นตอนที่ชุมชนถนัดมากกว่าที่ได้ใช้ในห้องปฏิบัติการ (ไม่ได้รับอนุญาติให้ภาพถ่ายรูปแสดงการทำ) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

4.4.1. ตั้งกระทะบนเตาที่มีน้ำหมักแอลกอฮอล์ลงไปจนเต็ม

4.4.2.ตั้งตัวกลางบนกระทะใบแรก แล้วนำกระทะอีกใบที่เล็กกว่าวางบนตัวกลาง

4.4.3.นำจานรองไปแขวนไว้ก้นกระทะ แล้วเสียบท่อไม้ไผ่ให้ทะลุตรงตัวกลาง ให้ยื่นยาวออกจากตัวกลางอย่างน้อย 25 เซนติเมตร โดยใช้เศษข้าวเหนียวที่เหลือจากการหมักไวน์ข้าวเหนียวมาอุดรอยรั่วรอบๆทอ ทอย่าให้มีไอน้ำออก

4.4.4. เทน้ำเย็นลงนกระทะใบที่สองให้เต็ม

4.4.5. ต้มน้ำหมักจนเดือด ให้เป็นไอน้ำลอยไปกระทบกระทะใบที่สอง แล้วกลั่นเป็นน้ำหยดน้ำผสมกับแอลกอออล์ในภาชนะที่รองรับ

4.4.6. คอยสังเกตหากน้ำในกระทะใบที่สองเริ่มอุ่น หรับเปลี่ยนน้ำใหม่ทันที

4.4.7. ระหว่างการกลั่นคอยเอาไม้คีบเศษผ้าไปรองที่น้ำกลั่นแล้วไหลลงมา นำไปจุดไฟ หากมีการรติดไฟให้ทำการกลั่นต่อ หากเริ่มไม่ติดไฟ ให้หยุดกลั่นได้ เพราะน้ำที่กลั่นได้ไม่มีแอลกอฮอล์อยู่แล้ว

4.4.8.นำน้ำที่กลั่นได้ครั้งที่ 1 นี้ ไปกลั่นอีกครั้ง ก็จะได้แอลกอฮอล์ 90-95 % สามารถนำไปผสมกับน้ำมันเบนซินที่สำหรับใช้กับเครื่องยนต์ได้ หรือจะใช้เป็นแอลกอฮอล์สำหรับฆ่าเชื้อโรคก็ได้

4.5.

4.5. **การเรียนรู้ขั้นตอนการกลั่นจากชุมชนในกระบวนการหมักที่ได้**

4.5.1. ส่วนหัวของน้ำที่กลั่นออกมาได้ในช่วงอุณหภูมิ 85^{o}Cคือเมธิลแอลกอฮอล์ โดยเฉพาะการกลั่นน้ำหมักนี้ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อยีสต์ EC1118 พบว่าเมธิลแอลกอฮอล์เจือปนในปริมาณน้อย

4.5.2.ส่วนกลางเป็นแอลกอฮอล์ที่เราต้องการ และเมื่ออุณหภูมิหม้อกลั่นสูงขึ้นเรื่อยๆ ในหม้อต้มแบบพื้นบ้าน ส่วนหางจะเริ่มออกมา จนอุณหภูมิใกล้ 100 องศา โดยผู้ที่กลั่นต้องตรวจสอบ ต้องฝึกดมกลิ่น และแยกส่วนนี้ออกไป ซึ่งมีส่วนผสมของฟูเซลออยล์ ที่ทำให้ปวดหัว และมีกลิ่นฉุน โดยเฉพาะถ้าหมักน้ำส่าที่อุณหภูมิสูงจะมีสารพวกนี้มาก โดยปัจจัยที่ทำให้เกิดสารฟูเซลออยล์ได้แก่ สายพันธุ์

ยีสต์ อุณหภูมิ (อุณหภูมิสูง ผลิตมาก) การกวนและอากาศ (ไม่ควรกวนน้ำหมักหลังจากการหมักเริ่มต้นแล้ว) และองค์ประกอบของน้ำหมัก (ควรมีอาหารสมบูรณ์)

4.5.3.เครื่องกลั่นสุราชุมชน ปรกติมีการใช้ฟืนหรือเตาแก๊สเป็นแหล่งให้ความร้อน ซึ่งทำให้ควบคุมอุณหภูมิการกลั่นได้ยาก หากใช้ความร้อนมากเกินไป จะทำให้น้ำส่าไหม้ และเกิดกลิ่นเหม็นไหม้ และทำให้สารพิษในส่วนหางปนออกมากับน้ำสุรา ดังนั้นจึงไม่ควรรีบร้อนเร่งไฟ เพื่อผลิตเร็วๆ เทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้วัดอุณหภูมิในหม้อกลั่น ควรจะวัดอุณหภูมิของส่วนไอ เพื่อให้คนกลั่นสามารถปรับความร้อนได้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้การกลั่นแอลกอฮอล์ต้องอาศัยความชำนาญ ฝึกปฏิบัติบ่อยๆ

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ได้จากขนาดกลางเมื่อนำมาจำนวน 50 liters ผ่านเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ เพื่อดูคุณภาพของการกลั่น

ครั้งที่กลั่น	ปริมาตรเริ่มต้น	ปริมาตรที่ได้	ความเข้มข้นแอลกอฮอล์เริ่มต้น	ความเข้มข้นแอลกอฮอล์หลังการกลั่น	% ปริมาตรที่ได้	คุณภาพที่ได้/การติดไฟ
การกลั่น ครั้งที่ 1	10 liters X 5	20.5 liters	12-15%	90-95%	41%	ติดไฟได้ดีมาก

การกลั่นจากน้ำหมักที่ได้จากการหมักเปลือกทุเรียนในระดับขนาดกลาง จำนวน 20 ลิตร แล้วทำการกลั่นในชุมชนด้วยขั้นตอนอย่างง่าย (ดูรายละเอียดในขั้นตอนการทำในบทที่ 3)

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ได้จากขนาดกลางเมื่อนำมาจำนวน 20 liters ผ่านเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ เพื่อดูคุณภาพของการกลั่น

ครั้งที่กลั่น	ปริมาตรเริ่มต้น	ปริมาตรที่ได้	ความเข้มข้นแอลกอฮอล์เริ่มต้น	ความเข้มข้นแอลกอฮอล์หลังการกลั่น	% ปริมาตรที่ได้	คุณภาพที่ได้/การติดไฟ
กลั่นครั้งที่ 1	20 liters	6-8 liters	12-15%	25-37%	40%	น้ำที่กลั่นได้ใส/ ไม่ติดไฟ
กลั่นครั้งที่ 2	6 liters	3.2-3.8 liters	25-37%	50-61%	63%	ติดไฟได้แต่ไม่ดี
กลั่นครั้งที่ 3	3.7 liters	2.25 liters	50-61%	81-90%	68%	ติดไฟได้ดี

ผลรวม	81-90%	11.25%	ติดไฟได้ดีมาก

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยเรื่องการหมักเปลือกทุเรียนแบบกึ่งแห้งเพื่อผลิตไบโอเอทานอล เพื่อเป็นการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และประยุกต์ใช้ของเสีย (Residue/waste) ที่ได้จากการเกษตรในที่นี้คือ เปลือกทุเรียนที่เหลือทิ้ง มาทำการแปรเปลี่ยนรูปให้เป็นผลผลิต (Product) คือ แอลกอฮอล์ในที่นี้ก่อให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งปัจจุบันแอลกอฮอล์โดยเฉพาะเอทานอลมีราคาสูงมากขึ้น อันเป็นผลเนื่องจากสภาพทางเศรษฐศาสตร์และเทคโนโลยีซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา รวมทั้งการใช้พลังงานที่มาก และมีความต้องการใช้พลังงานที่มากขึ้นเรื่อยๆ อย่างไม่มีแนวโน้มจะลดลง จึงทำให้เกิดการศึกษา การค้นคว้าวิจัยกันในการผลิตพลังงานทดแทนชนิดแอลกอฮอล์กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น โดยในการศึกษานี้ที่เลือกใช้เปลือกทุเรียนที่จัดเป็นของเหลือ (Waste) และกากน้ำตาลที่จัดผลพลอยได้ (By-Pro-duct) ในการนำวัสดุเหล่านี้ที่อาจได้จากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์จะเป็นการเพิ่มรายได้และช่วยลดต้นทุนในการกำจัดวัสดุเหลือทิ้งเหล่านั้น เพื่อการลดปริมาณสารที่จะต้องกำจัดก่อนปล่อยออกจากโรงงานอุตสาหกรรม และเพื่อใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

จากการวิจัยนี้ทีมผู้วิจัยสามารถสรุปเป็นหลักการและมีข้อเสนอแนะได้ดังนี้

5.1 ขั้นตอนการทำการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้แอลกอฮอล์

ขั้นตอนการทำการหมักเปลือกทุเรียนให้ได้แอลกอฮอล์ที่จะสามารถถ่ายทอดเป็นเทคโนโลยีการหมักแอลกอฮอล์ได้ มีหลักการทั่วไป และมีข้อควรระวังในการจัดเตรียมดังนี้

ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยทั่วไปจำเป็นต้องประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ 6 ขั้นตอน ดังนี้คือ

5.1.1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งที่ใช้ในการผลิตเชื้อเริ่มต้น และ การผลิตเชื้อเริ่มต้นที่บริสุทธิ์ และว่องไวในปริมาณที่มากพอสำหรับการหมักเพื่อใช้ในกระบวนการหมักทั้งเปลือกทุเรียน และน้ำหมักเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์

5.1.2. การทำอาหารเลี้ยงเชื้อ ถังหมัก และอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง ให้สะอาด ปราศจากเชื้อ

5.1.3. การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมักเปลือกทุเรียน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยเพื่อให้ได้แป้งและน้ำตาลตามที่ต้องการ

5.1.4. การกรองแยกน้ำหมักที่ได้เพื่อการหมักแอลกอฮอล์ ด้วยเชื้อยีสต์ สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อย

5.1.5. การปรับสภาพขั้นตอนการหมักให้เหมาะสมเพื่อการหมักแอลกอฮอล์ในระดับขนาดกลางและใหญ่

5.1.6. การกลั่นแยกแอลกอฮอล์ที่ได้จากน้ำหมัก

5.2 กระบวนการหมักและการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ได้จากขนาดกลาง (50 liters)

กระบวนการหมักและการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ได้จากขนาดกลาง ผ่านเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ ได้ปริมาณของแอลกอฮอล์ที่มากกว่าการหมักที่ได้ในชุมชน (41% และ12% ตามลำดับ) ทั้งนี้เนื่องมาจากประสิทธิภาพของเครื่องกลั่นในห้องปฏิบัติการที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ดี แม่นยำกว่าการกลั่นด้วยอุปกรณ์การกลั่นในชุมชน แต่อย่างไงก็ตามความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ได้อยู่ในช่วงไม่ต่างกันมาก คือ 90-95%

5.3 การปรับกระบวนการหมักเปลือกทุเรียน

ในการปรับกระบวนการหมักเปลือกทุเรียนเราสามารถลดเวลาในการหมัก สามารถทำได้โดย

5.3.1 การใช้เปลือกทุเรียนที่ผ่านการต้มสุก ยิ่งเละมากจะทำให้การย่อยให้เกิดแป้งและน้ำตาลได้เร็ว (จาก 2-3 เดือน เป็น 20-30 วัน)

5.3.2 ในที่นี้เมื่อต้องการนำน้ำหมักไปทำการหมักแอลกอฮอล์ต่อ จำเป็นต้องมีการเติมอาหาร sugar เช่น โมลาส และ/หรือ น้ำอ้อย น้ำตาลทราย เพื่อช่วยการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลให้ได้ 20-22% BRIX ซึ่งพบว่าอาหารเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์อย่างยิ่ง

5.3.3 ในการหมักขนาดเล็กแล้วขยายขนาดเพื่อเป็นขนาดกลาง และใหญ่ต่อมา จำเป็นต้องมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นการหมักเปลือกทเรียน และในขั้นการหมักน้ำหมักที่ต้องการเติมยีสต์ จำเป็นต้องมีการใช้เชื้อที่

ผ่านการกระตุ้นเลี้ยงให้อยู่ในระยะ log phase มีจำนวนเซลล์ที่มากพอ โดยอย่างน้อยต้องไม่ต่ำกว่า 1-10 X 10^{11} เซลล์ต่อมิลลิลิตร จาก stock เชื้อ แล้วทำการ inoculate เติมอย่างน้อย 1: 50 ของปริมาตรของน้ำหมัก เพื่อการหมักที่มีประสิทธิภาพใน 1 เดือน

5.3.4 ในการพัฒนากระบวนการหมักเพื่อการนำไปใช้ในชุมชน จำเป็นต้องมีการปรับขั้นตอนกระบวนการหมักแบบชาวบ้านให้มีมาตราฐานมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการกลั่นเป็นขั้นตอนที่ต้องมีการเรียนรู้และปรับให้เหมาะสมตามสถานการณ์ โดยหลักการคือการฝึกฝนการกลั่น พร้อมทั้งการใส่ใจในเรื่องของอุณหภูมิ ต้องคอยติดตามอุณหภูมิที่สูงขึ้นก่อนการเดือดของน้ำหมัก ต้องคอยวัดอุณหภูมิ พร้อมทั้งคอยตรวจสอบการติดไฟของของเหลวที่กลั้นได้ เพื่อให้ได้ปริมาณและชนิดของแอลกอฮอล์ที่เป็นเอทานอลในปปริมาณที่สูงและบริสุทธิ์มากที่สุดเท่าที่ทำได้

5.3.5 ในกระบวนการทำที่ชุมชนได้ลองหมัก และกลั่นแอลกอฮอล์กันเอง พบว่าขั้นตอนการหมักเปลือกทุเรียนเป็นขั้นตอนที่นานที่สุด ลำบากสุด เพราะเปลือกหนา มีความแหลมคม ดังนั้นเพื่อให้การหั่นตัดที่ง่ายสะดวกขึ้น จำเป็นต้องต้มเปลือกที่มีขนาดใหญ่ก่อนแล้วทำการหั่นให้เป็นขนาดเล็กหลังจากที่สุกแล้ว จะทำให้ง่าย สะดวกขึ้น ดังนั้นกระบวนการต้มจำเป็นต้องหาภาชนะที่มีขนาดใหญ่ น้ำที่ใช้ในการต้มหลายครั้งจะมีลักษะเหนียว สามารถนำนำไปเติมรวมกันในถังที่ทำการหมักแบบกึ่งแห้งที่มีการเติมน้ำ 1 ส่วนกับส่วนเปลือกทุเรียน 2 ส่วน

5.3.6 ในการพัฒนากระบวนการหมักแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักเปลือกทุเรียนที่อุดมด้วยแป้งและน้ำตาลในปริมาณสูง ทั้งนี้ขึ้นกับความหนาของเปลือก เราสามารถประยุกต์มาเพื่อการหมักพืช ผัก เปลือกผลไม้ หรือแม้กระทั่งเศษใบไม้ หญ้า ได้ โดยสามารถใช้เชื้อธรรมชาติที่ได้จากการหมักเปลือกทุเรียน ที่มีศักยภาพในการย่อยเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลและปลดปล่อยแป้งออกมาได้เช่นกัน แต่จำเป็นต้องมีการเติมน้ำตาล หรือโมลาสในปริมาณที่มากเพื่อการปรับสภาพน้ำตาลให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์และการผลิตได้แอลกอฮอล์ในปริมาณที่มากเข้าใกล้ 15% ซึ่งในกระบวนการหมักท้ายสุด จะเป็นการกลั่นแอลกฮอล์ที่ต้องการปริมาณแอลกอฮอล์เข้าใกล้ 100% ให้ได้มากสุด

บรรณานุกรม

1. ชัชวาล คำวงศ์, ณัฐวิทย์ พงศ์พันธุ์, นุกูลกิจ ทูนกาศ, วิลาวัลย์ ปันอิ่น และ วิไลวรรณ ลีนะกุล. โครงการ จัดทำระบบฐานข้อมูลพลังงานเพื่อการวิเคราะห์และวางแผนยุทธศาสตร์พลังงานของประเทศ. 2550. สถานบันวิจัยและพัฒนาพลังงาน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (http://www.erdi.or.th) และ สำนักนโยบายและแผนยุทยธศาสตร์ สำนักปลัดกระทรวงพลังงาน กระทรวงพลังงาน

2.พิชิต เดชนีรนาท. 2546. เอทานอล แหล่งพลังงานสะอาดของไทยในอนาคต. www.manager.co.th 9 กพ. 2546

3. โชคชัย วนภู. 2545. การหมักและการกลั่นแอลกอฮอล์. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยสุรนารี.

4. Brehmer B, B. Bals, J. Sanders, and B. Dale. 2008. Improving the corn-ethanol industry: studying protein separation techniques to obtain higher value-added product options for distillers grains. Biotechnol Bioeng. 2008. 1;101(1): 49-61.

5. de Godoy MR, L. L. Bauer, C. M. Parsons, and G. C ,Jr Fahey. 2008. Select corn co-products from the ethanol industry and their potential as ingredients in pet foods. J Anim Sci. 2008 Sep 12

6. Grant G. A, Y. W. Han, and A. W. Anderson. 1978. Pilot-scale semisolid fermentation of straw. Appl Environ Microbiol. 1978 March; 35(3): 549–553.

7. Hokputsa, S., W. Gerddit, S. Pongsamart,., K Inngierdingen, A. Heinze,., S. E. Harding, and B. S. Paulsen. 2004. Water-solubel polysaccharides with pharmaceutical importance from the rinds of durian (Durio zibethinus): isolation, fractionation, characterization and bioactivity. Carbohydrate Polymers. 56, 471-481

8. HALOS SC, LIT MA, CRUZ WT. 1987. The effect of media sterilization and of varying sources and concentrations of sugar and nitrogen on alcohol production by *Saccharomyces cerevisae* strains. Philipp J Sci 116: 75.

9.http://lib2.dss.go.th/elib/cgibin/opacexe.exe?op=dig&lang=1&db=BSTI&pat=%E0%. 2551. ศึกษาวิจัยการทำอัลกอฮอล์จากมันสำปะหลังแห้ง. รายงานกิจกรรมของกรมวิทยาศาสตร์ 29 (ตค. 09 - กย. 10) 85-87.

10. Lipipan, V., N Nantawanit,. and Pongsamart, S. 2002. Antivmicrobial activivty (in vitro) of polysaccharide gel from durian fruit-hulls. Songklanakarin J. Sci. Technol. 24(1):31-38.

11. Pongsamart, S., and T. Panmuang,. (1998) Isolation of Polysaccharide from Fruit-hulls of Durian (Durio zibethinus L.), Songklanakrin J. Sci. Tech. 20(3) : 323-332.