



การเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อย

Increasing Efficiency of Sugar Cane Molasses Fermentation

ปวรรณ์ วงษ์สุวรรณ* และ จิรพัฒน์ เงามประเสริฐวงศ์

Pawarat Wongsawan* and Jeerapat Ngaoprasertwong

ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering,

Chulalongkorn University, Phayathai Road, Patumwan, Bangkok 10330, Thailand

*E-mail: Pawarat.wong@gmail.com, Tel.: +6699-194-9465

บทคัดย่อ

วิจัยฉบับนี้ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยแบบกึ่งกะ (Fed-Batch Fermentation) ที่มีการเติมสารละลายสากากน้ำตาลเข้าไป 2 ขั้นตอน ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อย โดยอาศัยเทคนิคการออกแบบการทดลอง (Design of Experiment) เนื่องจากในกระบวนการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยเพื่อผลิตสุราขาวในระดับอุตสาหกรรมต้องการผลิตน้ำสาทำให้มีประสิทธิภาพการหมักสูง ใช้วัตถุดิบอย่างคุ้มค่า และคำนึงถึงกลิ่นรสเป็นสำคัญ โดยปัจจุบันโรงงานกรณีศึกษาได้รับวัตถุดิบสากากน้ำตาลมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 48-53%w/w จากหลายแหล่งที่มา ซึ่งมีองค์ประกอบภายในต่างกัน หมักที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเฉลี่ย 20.99%w/v และมีประสิทธิภาพการหมักเฉลี่ย 79.96% จากการศึกษาท่อนำร่วมกับการใช้หลักการแผนภูมิแก๊งปลา (Fish bone diagram) และหลักการ 4M1E มาช่วยในการวิเคราะห์หาสาเหตุของปัญหาที่มีผลต่อประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยโดยผู้ที่มีประสบการณ์เชี่ยวชาญด้านการหมักสากากน้ำตาล พบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยมี 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของสากากน้ำตาล (%w/w) ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก (%w/v) และอุณหภูมิภายในถังหมัก (°C) เมื่อนำมาออกแบบการทดลองด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบ (Response Surface Design) แบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design) เพื่อหาค่าสภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย ที่ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยเพิ่มสูงขึ้น พบว่า องค์ประกอบภายในสากากน้ำตาลที่ 50%w/w ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก 16%w/v และอุณหภูมิภายในถังหมัก 33°C ส่งผลทำให้ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยเพิ่มขึ้นมีค่าเท่ากับ 85.74%

คำสำคัญ: การออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบ; การออกแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน; การหมักแบบกึ่งกะ; สากากน้ำตาลจากอ้อย

ABSTRACT

This research studied about the factors that related to the Fed-Batch Fermentation process. It cover the process of adding the molasses solution into 2 steps with *Saccharomyces cerevisiae* microorganisms to enhance the fermentation of molasses from sugar cane. This can process by the design of experiment technique. According to the producing white spirit process from sugar cane molasses in the industrial level, it needs to provide the high fermentation efficiency which using the raw materials wisely and consider to the smell and taste as important. Currently, the case study factory has received molasses with concentrations in the range of 48- 53% w/w from multiple sources with different internal components and fermented at an average sugar concentration of 20.99%w/v and an average fermentation efficiency of 79.96%. Based on the previous studies combine with the fish bone diagram and 4M1E principles, it can analyze the root causes of problems affecting the fermentation efficiency of sugar cane molasses by those who have experience and expertise in the fermentation of molasses. It was found that there were three factors affecting the fermentation efficiency of sugar cane molasses: sugar cane molasses concentration (%w/w), fermentation sugar concentration (%w/v) and temperature inside the tank (°C). The designing experiments using the Response Surface Design method in Box-Behnken Design to determine the optimum state of the three factors. The results showed that the fermentation efficiency of molasses from sugar cane increased, it was found that the concentration of sugar cane molasses at 50% w/w, the fermentation sugar concentration of 16%w/v and the temperature inside the fermentation tank 33°C resulted. The efficiency of fermentation of molasses from sugar cane increased was 85.74%.

Keywords: Response Surface Design; Box-Behnken Design; Fed-Batch Fermentation; Sugar cane molasses

1. บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ในอุตสาหกรรมการผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลและเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ นิยมนำกากน้ำตาล (Molasses) จากอ้อยมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต เนื่องจากประเทศไทยมีการเพาะปลูกอ้อย และผลิตน้ำตาลทรายมากทำให้มีกากน้ำตาลที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยจำนวนมาก และกากน้ำตาลมีองค์ประกอบส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลประมาณ 50-60% และแร่ธาตุต่าง ๆ จึงเหมาะสมที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล [1] โดยโรงงานกรณีศึกษาเป็นโรงงานผลิตสุราขาว ประกอบด้วยกระบวนการหมัก (Fermentation) การกลั่น (Distillation) การปรุง (Blending) และการบรรจุ (Packing) [2, 3] ซึ่งขั้นตอนที่สนใจนำมาศึกษาคือ

กระบวนการหมัก เนื่องจากเป็นกระบวนการเริ่มต้นในการผลิต ที่จะต้องหมักให้ได้กลิ่นรสคงที่ ใช่วัตถุดิบอย่างคุ้มค่า ได้ปริมาณความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูง และมีประสิทธิภาพดี

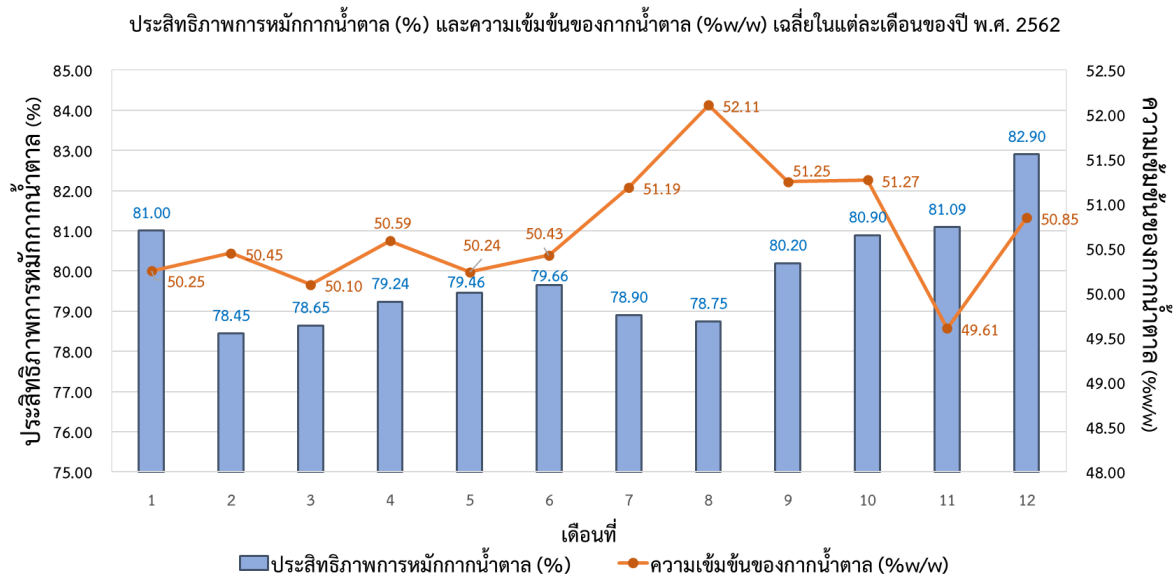
ปัจจุบันนี้โรงงานกรณีศึกษาได้รับวัตถุดิบกากน้ำตาล (Sugar Cane Molasses) ที่มีความเข้มข้นน้ำตาล (Total Reducing Sugar) อยู่ในช่วง 48-53%w/w จากหลายแหล่งที่มา ซึ่งมีองค์ประกอบภายในต่างกัน โดยนำมาหมักแบบกึ่งกะ (Fed-Batch Fermentation) คือ การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีการเติมอาหาร (สารละลายกากน้ำตาล) เข้าไป 2 ขั้นตอน [4] จากข้อมูลการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยเฉลี่ยในแต่ละเดือนของปี พ.ศ. 2562 ความเข้มข้นวัตถุดิบกากน้ำตาลเฉลี่ย 50.73%w/w หมักที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเฉลี่ย

20.99%w/v ปริมาตรรวม 175,000 ลิตร/ถัง และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือเฉลี่ย 2.64%w/v ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ของสาส์งกลั่นเฉลี่ย 10.87%v/v โดยมีประสิทธิภาพการหมักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 78.45-82.90% ดังรูปที่ 1

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่า ประสิทธิภาพการหมักไม่คงที่ ความเข้มข้นของวัตถุดิบกากน้ำตาล (%w/w) ที่ได้รับมาสูง และการหมักได้ความเข้มข้นแอลกอฮอล์สาส์งกลั่นสูง ไม่ได้ทำให้ประสิทธิภาพการหมักสาส์งไปด้วย ต้องพิจารณาถึงองค์ประกอบภายในวัตถุดิบกากน้ำตาล สภาพการควบคุมการหมัก และความเข้มข้นที่ใช้ในการหมักต้องมีความเหมาะสมเพื่อให้เชื้อยีสต์ใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตแอลกอฮอล์ เมื่อศึกษาข้อมูลประสิทธิภาพการหมักสาส์งกากน้ำตาลย้อนหลังของโรงงานกรณีศึกษาพบว่า เคยหมักสาส์งกากน้ำตาลจากอ้อยได้

ประสิทธิภาพการหมักสาส์งสูงสุด 85.15% และในทางทฤษฎี การหมักน้ำตาลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ประมาณ 90% เนื่องจากส่วนที่เหลือเซลล์ยีสต์นำไปใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ และผลิตสารสังเคราะห์อื่น ๆ [5]

ดังนั้นงานวิจัยนี้ต้องการเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการหมักสาส์งกากน้ำตาลจากอ้อย โดยศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักสาส์งกากน้ำตาลจากอ้อย องค์ประกอบภายในวัตถุดิบกากน้ำตาล สภาพการควบคุมการหมักที่เหมาะสม จึงนำเทคนิคทางสถิติในการออกแบบและวิเคราะห์การทดลอง (Design of Experiment) [6, 7] มาช่วยในศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมักสาส์งกากน้ำตาลจากอ้อย และหาระดับของปัจจัยที่ทำให้หมักได้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลสูงที่สุด



รูปที่ 1 ประสิทธิภาพการหมักสาส์งกากน้ำตาล (%) และความเข้มข้นของกากน้ำตาล (%w/w) ที่โรงงานกรณีศึกษาใช้หมักเฉลี่ยในแต่ละเดือนของปี พ.ศ. 2562

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักสาส์งกากน้ำตาลจากอ้อยแบบกึ่งกะ (Fed-Batch Fermentation) ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae*

2. ขั้นตอนการออกแบบการทดลอง

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ได้มีผู้ศึกษาแนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักสาส์งกากน้ำตาลในโรงงาน A [8] และมีข้อเสนอแนะในการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักสาส์งกากน้ำตาลโดยเสนอให้

- ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากวัตถุดิบกากน้ำตาลของแต่ละโรงงานที่ใช้หมัก

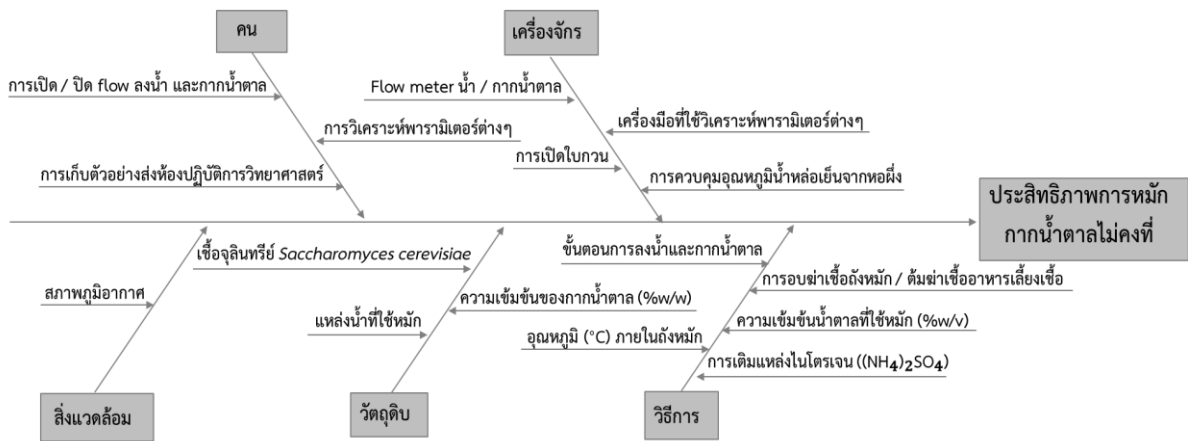
- ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae* เพิ่มเติมเพื่อหาแนวทางที่จะลดช่วงเวลาที่ใช้ในการหมักให้น้อยลงและสามารถทำงานได้มีประสิทธิภาพสูงที่สุด

- ศึกษาตัวแปรอื่น ๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมัก เช่น pH อุณหภูมิ วิธีการหมัก เป็นต้น เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อกระบวนการหมักกากน้ำตาล

จึงนำข้อเสนอดังกล่าวมาวิเคราะห์ร่วมกับการหาสาเหตุปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลของโรงงานกรณีศึกษา

2.1 การวิเคราะห์หาสาเหตุปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อย

เมื่อศึกษาปัญหาที่เกิดขึ้นของโรงงานกรณีศึกษา เก็บข้อมูล วิเคราะห์ข้อผิดพลาดในการทำงาน ระดมสมองกับผู้ที่มีความรู้เชี่ยวชาญด้านการหมักกากน้ำตาล และวิเคราะห์หาสาเหตุของปัญหาโดยอาศัยจากแผนภูมิ ก้างปลา (Fish bone diagram) [7] และหลักการ 4M1E



รูปที่ 2 แผนภูมิ ก้างปลา (Fish Bone Diagram)

- ปัจจัยที่ 2 ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้หมัก (%w/v) ในปัจจุบันโรงงานกรณีศึกษาใช้ความเข้มข้นน้ำตาลรวมประมาณ 20%w/v และเหลือจากกระบวนการหมักประมาณ 3%w/v บ่งบอกว่าอาจจะใช้ความเข้มข้นสูงไป

มาช่วยในการวิเคราะห์ โดยหาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการหมักสม่ำเสมอ ดังรูปที่ 2

จากการวิเคราะห์แผนภูมิ ก้างปลา (Fish bone diagram) ดังรูปที่ 2 ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการหมักนั้นมีหลายปัจจัย ซึ่งจะคัดเลือกปัจจัยที่คาดว่าจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลมากที่สุด โดยอาศัยตารางแสดงเหตุและผล (Cause and effect matrix) มาช่วยในการยืนยันผลอีกครั้ง พบว่า มี 3 ปัจจัย ได้แก่

- ปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของกากน้ำตาล (%w/w) กากน้ำตาลเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย โดยปริมาณน้ำตาลมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต ซึ่งแต่ละแหล่งวัตถุดิบจะมีองค์ประกอบภายในกากน้ำตาลที่มีปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลต่างกัน การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่มีในวัตถุดิบแต่ละแหล่งด้วยวิธี Modified Lane-Eynon Constant Volume Volumetric Method [9] ซึ่งน้ำตาลส่วนใหญ่จะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลซูโครส ดังนั้นการนำกากน้ำตาลจากแต่ละแหล่งที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาลต่างกันมาใช้หมักภายใต้สภาวะเดียวกันอาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาล

เซลล์ยีสต์เจริญได้ไม่สมบูรณ์ น้ำตาลในการหมักเหลือทำให้ผลผลิตต่อถังต่ำและต้นทุนในการผลิตสูงขึ้น ดังนั้นจึงควรหาความเข้มข้นน้ำตาลที่เหมาะสมในการหมัก เพื่อให้คุ้มค่าในการผลิตมากที่สุด

• ปัจจัยที่ 3 อุณหภูมิภายในถังหมัก (°C) การควบคุมอุณหภูมิในระบบการหมักเป็นส่วนที่สำคัญ เนื่องจากมีผลโดยตรงต่อการทำงานของเซลล์ยีสต์ อุณหภูมิภายในถังหมักที่ควบคุมคือ ไม่ควรเกิน 36°C โดยอาศัยการควบคุมอุณหภูมิจากห้องน้ำ ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 30°C และในสภาวะการหมักของยีสต์ อุณหภูมิที่ยีสต์สามารถเจริญและผลิตแอลกอฮอล์ได้ดีจะอยู่ในช่วง 32-35°C [10]

จากข้อเสนอแนะการศึกษาทบทวนก่อนหน้าและการวิเคราะห์จากผู้เชี่ยวชาญด้านการหมัก มีความเห็นต่อปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพกระบวนการหมักสาเกกาน้ำตาลคล้ายคลึงกันในเรื่องของวัตถุดิบกากน้ำตาลแต่ละโรงงานซึ่งมีองค์ประกอบภายในแตกต่างกัน และสภาวะในการหมัก ดังนั้นจึงนำปัจจัยดังกล่าวทั้ง 3 ปัจจัยมาศึกษาโดยวิธีการออกแบบการทดลองทางสถิติวิศวกรรม หาปัจจัยที่ส่งผลอย่างแท้จริง พัฒนาหาสภาวะการหมักที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อย

2.2 การออกแบบการทดลอง กำหนดตัวแปรตอบสนอง ปัจจัย ระดับ และขอบเขตงานวิจัย

การออกแบบการทดลองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักสาเกกาน้ำตาล ต้องการหาระดับของปัจจัยที่ทำให้หมักได้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลที่ดีที่สุด ซึ่งการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบ (Response Surface Design) เป็นเทคนิคที่เหมาะสม โดยเลือกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design) ที่มีการกำหนดจุดกึ่งกลาง (Center point) เนื่องจาก

• สามารถทำการทดลองจำนวนปัจจัย 3 ปัจจัยขึ้นไป โดยปัจจัยใด ๆ จะถูกทดลองที่ 3 ระดับ

• หากำระดับที่เหมาะสมของปัจจัยที่ทำให้ตัวแปรตอบสนองมีค่าที่ต้องการ และสร้างแบบจำลองที่มีลักษณะเป็นพหุนามเมื่อยลกำลังสองเพื่อหาค่าที่ดีที่สุดของผลตอบได้

• ในกรณีที่มี 3 ปัจจัย จะใช้จำนวนการทดลองน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการทดลองแบบส่วนผสมกลาง (Central Composite Design) เนื่องด้วยข้อจำกัดของค่าใช้จ่ายในการทดลอง

จัดลำดับการทดลองแบบสุ่มเพื่อลดผลของปัจจัยภายนอกที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการทดลอง และทำการ

ทดลองซ้ำ 2 การทดลอง เพื่อให้สามารถหาค่าประมาณของความผิดพลาดในการทดลอง หาค่าได้ถูกต้องและน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น การทดลองทำในระดับห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ หมักปริมาตรรวม 1,500 มิลลิลิตร ซึ่งเทียบสัดส่วนปริมาตรการหมักจากโรงงานกรณีศึกษา โดยถังหมักของโรงงานกรณีศึกษาสามารถหมักปริมาตรรวมได้ไม่เกิน 175,000 ลิตร

การออกแบบการทดลองแบบแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน ที่มี 3 จุดกึ่งกลาง ในงานวิจัยนี้กำหนดให้

• หน่วยทดลอง (Experiment Unit) คือ น้ำหมักหรือน้ำสา (Mash of Fermentation)

• ตัวแปรตอบสนอง (Response Variable) คือ ประสิทธิภาพการหมักสาเกกาน้ำตาลจากอ้อย (%) โดยคำนวณจากสมการ ดังนี้

ประสิทธิภาพการหมักสาเกกาน้ำตาลจากอ้อย (%)=

$$\frac{\text{ปริมาณน้ำสา (L)} \times \text{ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ส่งกลับ (\% \frac{v}{v})} \times 100}{\text{ปริมาณกากน้ำตาล (kg)} \times \text{ความเข้มข้นกากน้ำตาล (\% \frac{w}{w})} \times 0.648} \quad (1)$$

หมายเหตุ: 0.648 มาจากน้ำตาลกลูโคส 1 กิโลกรัม (ความหวาน 100%) สามารถเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ได้ 0.648 ลิตร ที่ 20°C (100°Alc)

• การกำหนดปัจจัย (Factor) และระดับ (Level) ที่ใช้ในการทดลองดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปัจจัยและระดับของการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน ที่มี 3 จุดกึ่งกลาง

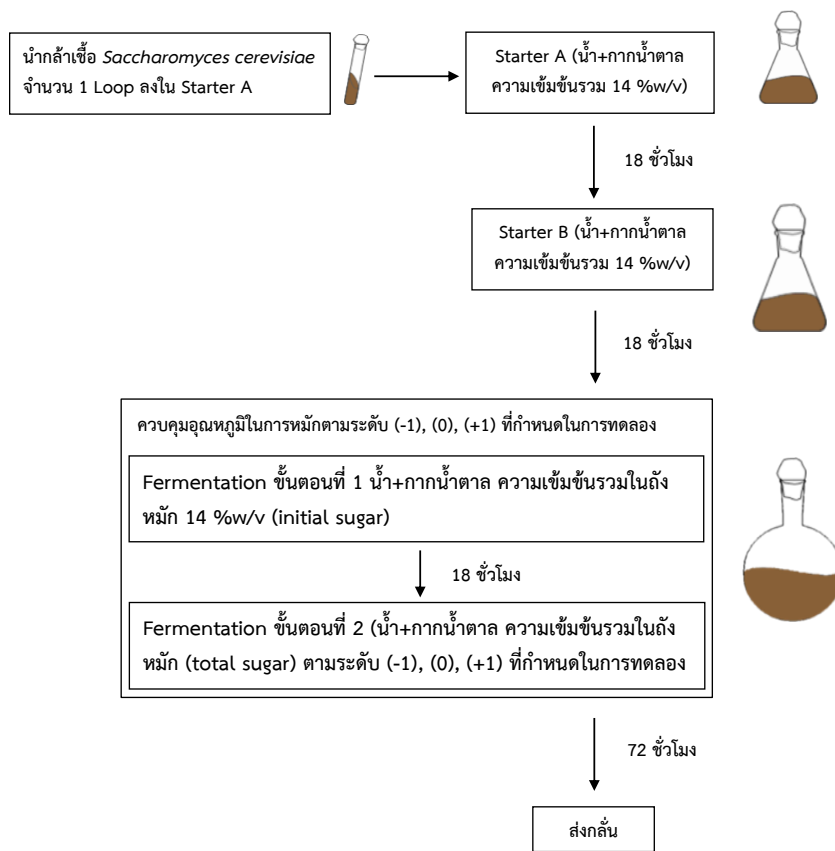
ปัจจัย	หน่วย	สัญลักษณ์	ระดับ		
			-1	0	1
ความเข้มข้นของกากน้ำตาล	%w/w	A	49	51	53
ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก	%w/v	B	16	18	20
อุณหภูมิภายในถังหมัก	°C	C	30	33	36

3. วิธีการทดลองการหมักสาคากน้ำตาลจากอ้อย

นำกากน้ำตาลของแต่ละโรงงานมาทำการทดลองการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-Batch Fermentation) ในระดับห้องปฏิบัติการ (Lab scale) ด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ โดยอ้างอิงวิธีการและสัดส่วนปริมาณในการหมักตามโรงงานในกรณีศึกษา ซึ่งจะหมักปริมาตรรวม 1,500 มิลลิลิตร โดยมีรายละเอียดการทดลองดังรูปที่ 3

ควบคุมและกำหนดพารามิเตอร์ต่าง ๆ ให้คงที่ ในขั้นตอนการหมักสาคากน้ำตาล โดยอ้างอิงตามโรงงานกรณีศึกษาดังตารางที่ 2

ในกระบวนการหมักจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ เพื่อดูการเจริญเติบโตของยีสต์ และการผลิตแอลกอฮอล์ รวมถึงการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ในกระบวนการหมัก โดยมีพารามิเตอร์ที่ต้องวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3



รูปที่ 3 ขั้นตอนการทดลองการหมักกากน้ำตาลในระดับห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ที่ควบคุมในการทดลองการหมักกากน้ำตาล

ลำดับที่	พารามิเตอร์ที่ควบคุม	ค่าพารามิเตอร์
1	ปริมาตรรวมหมัก	1,500 มิลลิลิตร
2	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ((NH ₄) ₂ SO ₄) ที่เติมใน Starter A, Starter B และ Ferment	0.05%w/v
3	ปริมาตร Starter A	5% ของ Starter B
4	ปริมาตร Starter B	3% ของปริมาตรรวมหมัก
5	ความเข้มข้นรวมสารละลายกากน้ำตาลของ Starter A และ B	14%w/v
6	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ Starter A	18 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 (ต่อ) ค่าพารามิเตอร์ที่ควบคุมในการทดลองการหมักกากน้ำตาล

ลำดับที่	พารามิเตอร์ที่ควบคุม	ค่าพารามิเตอร์
7	จำนวนเชื้อยีสต์ Starter A	$\geq 10 \times 10^6$
8	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ Starter B	18 ชั่วโมง
9	จำนวนเชื้อยีสต์ Starter B	$\geq 50 \times 10^6$
10	ความเข้มข้นสารละลายกากน้ำตาลขั้นตอนที่ 1	14 %w/v
11	ระยะเวลาการเติมขั้นตอนที่ 2 ของการหมัก	ชั่วโมงที่ 18
12	ความเร็วรอบในการกวนหมัก	100 rpm

ตารางที่ 3 พารามิเตอร์ที่ต้องวิเคราะห์ในกระบวนการหมักกากน้ำตาล

ระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง	พารามิเตอร์ที่ต้องวิเคราะห์						
	Brix (°Brix)	pH	Acid (%w/v)	Total Reducing Sugar (%w/v)	Yeast Count (Cells/ml)	Aldehyde (mg/dm ³)	Alcoholic strength (at 20 °C) (%v/v)
ชั่วโมงที่ 0	/	/	/	/			
ก่อนเติม Step II	/	/	/		/		
หลังเติม Step II	/	/					
ชั่วโมงที่ 48	/	/	/				/
ชั่วโมงที่ 72	/	/	/	/		/	/

4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ผลการทดลองการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design)

จากการออกแบบการทดลองตามแนวทางการออกแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน สำหรับ 3 ปัจจัย นำมาสร้างตารางการทดลองโดยอาศัยโปรแกรม Minitab ที่มีลำดับ

การสุ่มการทดลองทั้งหมด 15 การทดลอง และทำซ้ำทั้งหมด 2 ครั้ง นำค่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์หรือที่เรียกว่า ดีกรี (%v/v) มาคำนวณเข้าสู่สูตรสมการที่ 1 จะได้ค่าประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อยสำหรับทุกการทดลองโดยผลลัพธ์จากการทดลองหมักกากน้ำตาลจากอ้อย ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการคำนวณประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อย

Std Order	Run Order	Pt Type	Blocks	A ความเข้มข้นของกากน้ำตาล	B ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก	C อุณหภูมิภายในถังหมัก	Sugar Cane Molasses		Volume mash (ml)	Alcoholic strength (at 20 °C) (%v/v) Fermenter 72 hr	Efficiency (%)
							Total Reducing Sugar (%w/w)	Weight (g)			
2	1	2	1	53	16	33	53.48	448.77	1500	8.75	84.39
25	2	2	1	51	20	30	51.42	583.43	1500	10.85	83.72
22	3	2	1	49	18	36	49.17	549.11	1500	9.55	81.88
17	4	2	1	53	16	33	53.48	448.77	1500	8.85	85.36
7	5	2	1	49	18	36	49.17	549.11	1500	9.60	82.31
5	6	2	1	49	18	30	49.17	549.11	1500	9.75	83.59

ตารางที่ 4 (ต่อ) ผลการคำนวณประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย

Std Order	Run Order	Pt Type	Blocks	A ความเข้มข้นของกากน้ำตาล	B ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก	C อุณหภูมิภายในถังหมัก	Sugar Cane Molasses		Volume mash (ml)	Alcoholic strength (at 20 °C) (%v/v) Fermenter 72 hr	Efficiency (%)
							Total Reducing Sugar (%w/w)	Weight (g)			
20	7	2	1	49	18	30	49.17	549.11	1500	9.75	83.59
8	8	2	1	53	18	36	53.48	504.87	1500	9.45	81.02
16	9	2	1	49	16	33	49.17	488.10	1500	8.80	84.88
18	10	2	1	49	20	33	49.17	610.13	1500	10.60	81.79
14	11	0	1	51	18	33	51.42	525.09	1500	9.85	84.45
12	12	2	1	51	20	36	51.42	583.43	1500	10.65	82.18
28	13	0	1	51	18	33	51.42	525.09	1500	9.85	84.45
3	14	2	1	49	20	33	49.17	610.13	1500	10.60	81.79
10	15	2	1	51	20	30	51.42	583.43	1500	10.85	83.72
27	16	2	1	51	20	36	51.42	583.43	1500	10.65	82.18
1	17	2	1	49	16	33	49.17	488.10	1500	8.75	84.39
24	18	2	1	51	16	30	51.42	466.74	1500	8.65	83.43
9	19	2	1	51	16	30	51.42	466.74	1500	8.60	82.95
21	20	2	1	53	18	30	53.48	504.87	1500	9.65	82.73
23	21	2	1	53	18	36	53.48	504.87	1500	9.45	81.02
13	22	0	1	51	18	33	51.42	525.09	1500	9.85	84.45
15	23	0	1	51	18	33	51.42	525.09	1500	9.85	84.45
29	24	0	1	51	18	33	51.42	525.09	1500	9.80	84.02
6	25	2	1	53	18	30	53.48	504.87	1500	9.60	82.30
19	26	2	1	53	20	33	53.48	560.96	1500	10.80	83.33
4	27	2	1	53	20	33	53.48	560.96	1500	10.75	82.95
26	28	2	1	51	16	36	51.42	466.74	1500	8.70	83.91
30	29	0	1	51	18	33	51.42	525.09	1500	9.85	84.45
11	30	2	1	51	16	36	51.42	466.74	1500	8.75	84.40

จากข้อมูลในตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่าการทดลอง (Run Order) ที่ 4 มีค่าประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยมากที่สุดคือ 85.36% ในขณะที่การทดลองที่ 8 และ 21 มีค่าประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลต่ำที่สุดเท่ากันคือ 81.02%

4.2 การตรวจสอบความเพียงพอของแบบจำลองทางสถิติ (Model adequacy checking)

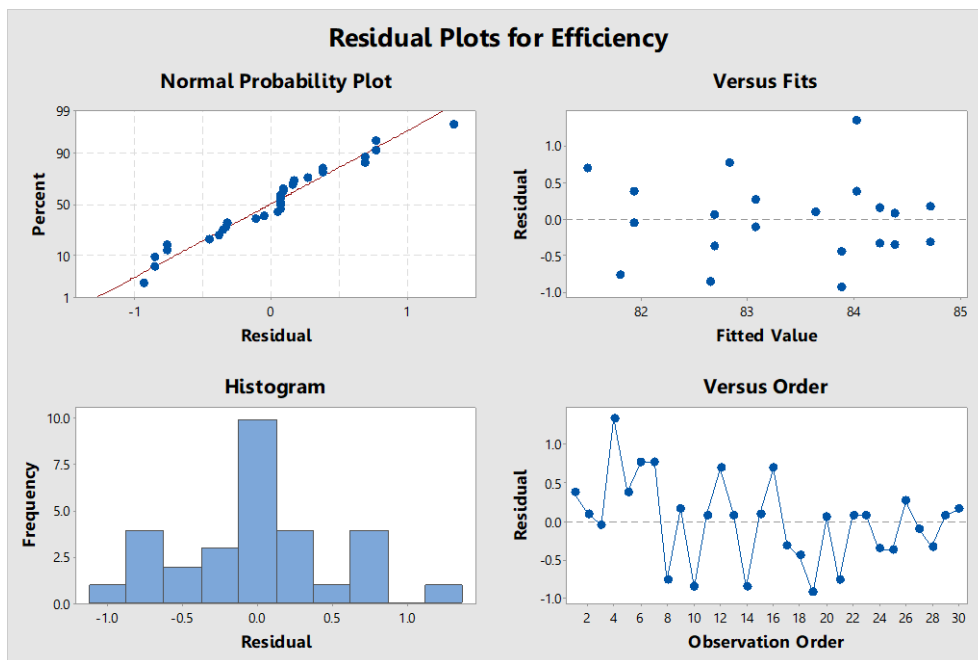
การนำข้อมูลผลการทดลองการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยไปวิเคราะห์ผลต้องมีการตรวจสอบความเพียงพอของแบบจำลองทางสถิติที่จะนำมาใช้ก่อน ซึ่งเครื่องมือที่นำมาใช้ตรวจสอบคือ การวิเคราะห์ส่วนตกค้าง (Residual Analysis) ด้วยโปรแกรม Minitab แสดงผลดังรูปที่ 4

การตรวจสอบความเพียงพอของแบบจำลองทางสถิติ ประกอบด้วย 3 สมมุติฐาน ดังนี้

- สมมุติฐานที่ 1 ค่าส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ (Normality) จากรูปที่ 4 พบว่าการกระจายตัวของค่าส่วนตกค้างมีลักษณะแนวโน้มใกล้เคียงเส้นตรง และมีค่า P-value มากกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % แสดงว่าข้อมูลค่าส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ
- สมมุติฐานที่ 2 ค่าส่วนตกค้างมีความเป็นอิสระต่อกัน (Independence) จากรูปที่ 4 พิจารณาจากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าส่วนตกค้างของประสิทธิภาพการหมักสำกาน้ำตาลและลำดับของการทดลอง (Observation Order) พบว่ามีรูปแบบการกระจายที่ไม่แน่นอน แสดงว่าข้อมูลกลุ่มนี้มีความเป็นอิสระต่อกัน

- สมมุติฐานที่ 3 ค่าส่วนตกค้างมีค่าความแปรปรวนคงที่ (Variance Stability) จากรูปที่ 4 พิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าส่วนตกค้างกับตัวแปรตอบสนองหรือประสิทธิภาพการหมักสำกาน้ำตาลจากอ้อยที่ได้มากจากสมการถดถอย (Fitted Value) พบว่า ลักษณะการกระจายตัวของค่าส่วนตกค้างมีลักษณะการกระจายตัวแบบสุ่ม ไม่มีรูปแบบที่แน่นอน แสดงว่าข้อมูลนี้มีค่าความแปรปรวนคงที่

จากการตรวจสอบความเพียงพอของแบบจำลองทางสถิติ ข้อมูลนี้เป็นไปตามสมมุติฐานทั้ง 3 ข้อ แสดงว่าข้อมูลมีความเหมาะสมเพียงพอกับแบบจำลองทางสถิตินี้



รูปที่ 4 การวิเคราะห์ส่วนตกค้าง (Residual Analysis)

4.3 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองวิเคราะห์ความแปรปรวนของการออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์-เบห์นเคน ที่มีตัวแปรตอบสนองคือ ประสิทธิภาพการหมักสำกาน้ำตาลจากอ้อย และมีปัจจัย 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของกาน้ำตาลซึ่งที่

ส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวิซ์ (Total Reducing Sugar) แทนด้วยสัญลักษณ์ A, ความเข้มข้นน้ำตลที่ใช้หมักแทนด้วยสัญลักษณ์ B, และอุณหภูมิภายในถังหมัก แทนด้วยสัญลักษณ์ C แสดงดังรูปที่ 5

Response Surface Regression: Efficiency versus A, B, C

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	9	31.7124	3.5236	8.15	0.000
Linear	3	12.3309	4.1103	9.50	0.000
A	1	0.0784	0.0784	0.18	0.675
B	1	9.0752	9.0752	20.99	0.000
C	1	3.1773	3.1773	7.35	0.013
Square	3	15.6279	5.2093	12.05	0.000
A*A	1	5.8138	5.8138	13.44	0.002
B*B	1	0.1045	0.1045	0.24	0.628
C*C	1	10.3879	10.3879	24.02	0.000
2-Way Interaction	3	3.7536	1.2512	2.89	0.061
A*B	1	0.6160	0.6160	1.42	0.247
A*C	1	0.0000	0.0000	0.00	1.000
B*C	1	3.1375	3.1375	7.26	0.014
Error	20	8.6489	0.4324		
Lack-of-Fit	3	7.4120	2.4707	33.96	0.000
Pure Error	17	1.2369	0.0728		
Total	29	40.3613			

รูปที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลองพื้นผิวตอบสนองสำหรับประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย

จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลองพื้นผิวตอบสนองสำหรับประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยดังรูปที่ 5 พบว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นมีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจะเห็นได้จากค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05 และเมื่อพิจารณาปัจจัยหลัก ได้แก่ ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก (B) และอุณหภูมิภายในถังหมัก (C) ปัจจัยหลักทั้งสอง ได้แก่ ความเข้มข้นของกากน้ำตาล² (A²) และ อุณหภูมิภายในถังหมัก² (C²) และปัจจัยที่มีอันตรกิริยาต่อกัน ได้แก่ ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก*อุณหภูมิภายในถังหมัก (B*C) มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย สังเกตได้จากค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05

เมื่อพิจารณาสมการถดถอยสำหรับการทำนายค่าประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยสามารถเขียนได้ดังสมการที่ 2

$$Y = 84.378 - 0.753B - 0.446C - 0.887A^2 - 1.186C^2 - 0.626BC \quad (2)$$

โดยที่ Y คือ ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาล (%)

A คือ ความเข้มข้นของกากน้ำตาล (%w/w)

B คือ ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก (%w/v)

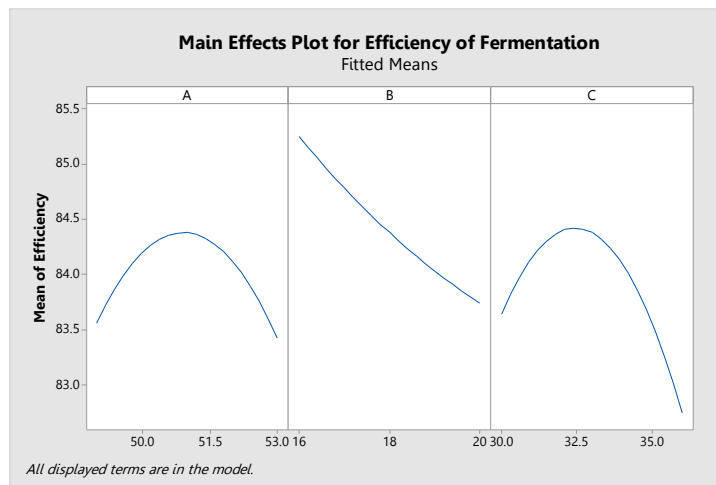
C คือ อุณหภูมิภายในถังหมัก (°C)

ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ R² เท่ากับ 78.57% และ Adjusted R² เท่ากับ 68.93% หมายความว่าค่าความแปรปรวนของตัวแปรตอบสนองที่กระจายอยู่รอบค่าเฉลี่ยซึ่งสามารถอธิบายได้มีอยู่ในตัวแบบเชิงเส้นนี้มากถึง 78.57% และพิจารณาค่าความเหมาะสมของรูปสมการถดถอย (Lack of Fit) มีนัยสำคัญทางสถิติที่มีค่า P-value น้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05 อาจเกิดจากความแปรปรวนที่ไม่สามารถอธิบายได้ในแบบจำลองเชิงสมมุติฐาน (Hypothesized Model) และค่าประมาณของข้อผิดพลาดที่แท้จริง (Pure Error) ในการทดลองซ้ำ ซึ่งค่า Lack of Fit กับค่าประมาณของข้อผิดพลาดที่แท้จริงถูกแยกออกมาจากค่าส่วนตกค้าง (Residual) ที่คำนวณได้ในแต่ละระดับของรูปสมการถดถอย โดยค่าประมาณของข้อผิดพลาดที่แท้จริงนั้นได้มาจากการออกแบบการทดลองที่มีการทดลองซ้ำ

รูปที่ 6 กราฟแสดงอิทธิพลหลัก (Main Effect) ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย พบว่าเส้นกราฟปัจจัยหลักของความเข้มข้นกากน้ำตาล (A) และอุณหภูมิภายในถังหมัก (C) มีลักษณะเป็นเส้นโค้ง ซึ่งหมายความว่า ระดับที่จะทำให้ค่าตัวแปรตอบสนองมีค่าสูงที่สุดคือ ค่าตรงกลางระหว่างระดับต่ำและระดับสูง และเส้นกราฟปัจจัยหลักความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก (B) มีลักษณะเป็นเส้นตรงที่มีความชัน ซึ่งหมายความว่า เมื่อมี

การเปลี่ยนระดับจากระดับสูงไปต่ำ จะทำให้ค่าเฉลี่ยของตัวแปรตอบสนองเปลี่ยนตามไปด้วย โดยจะส่งผลให้ค่าเฉลี่ย

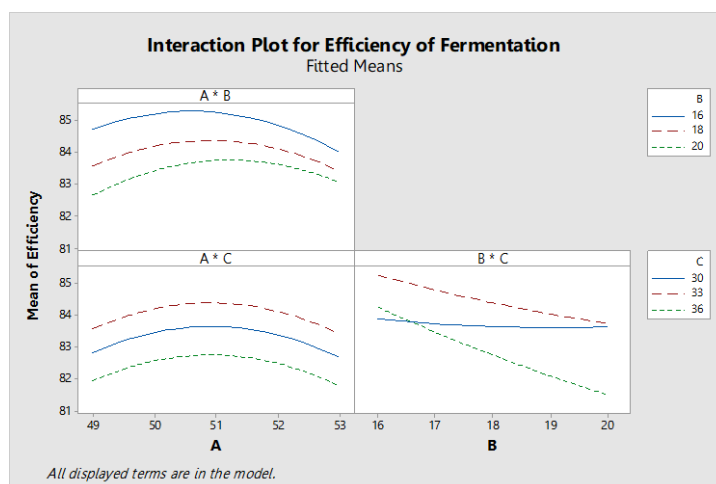
ของประสิทธิภาพการหมักสาเกาน้ำตาลจากอ้อยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น



รูปที่ 6 กราฟแสดงอิทธิพลหลัก (Main Effect) ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการหมักสาเกาน้ำตาลจากอ้อย

รูปที่ 7 กราฟแสดงอิทธิพลของอันตรกิริยา (Interaction) ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการหมักสาเกาน้ำตาลจากอ้อย พบว่าอันตรกิริยาสองปัจจัย B*C (ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก*อุณหภูมิภายในถังหมัก) มีผลต่อค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการหมักสาเกาน้ำตาลจากอ้อย เมื่อปัจจัย B (ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก) และ C

(อุณหภูมิภายในถังหมัก) เกิดการเปลี่ยนระดับ โดยปัจจัย B เปลี่ยนจากระดับสูงไปต่ำ และปัจจัย C ค่าตรงกลางระหว่างระดับต่ำและระดับสูง จะส่งผลทำให้ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการหมักสาเกาน้ำตาลจากอ้อยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น



รูปที่ 7 กราฟแสดงอิทธิพลของอันตรกิริยา (Interaction) ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการหมักสาเกาน้ำตาลจากอ้อย

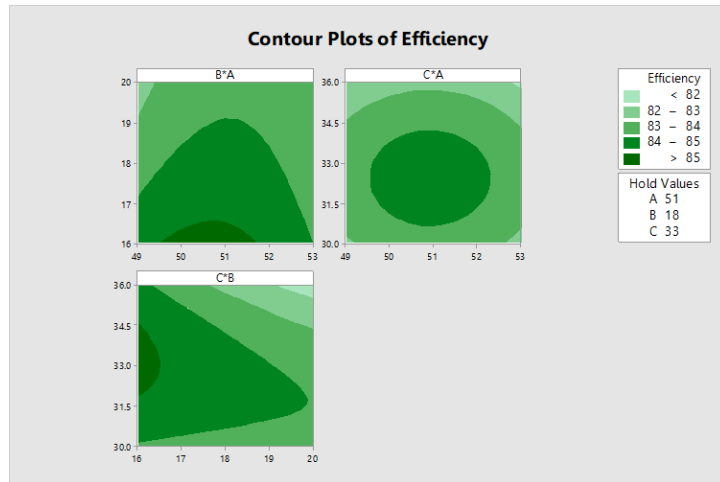
จากผลของกราฟเส้นโครงร่างและกราฟพื้นผิวผลตอบของประสิทธิภาพการหมักสาเกาน้ำตาลจากอ้อยดังรูปที่ 8 และรูปที่ 9 จะเห็นว่าปัจจัยความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก

และความเข้มข้นของกากน้ำตาล (B*A) เมื่อเกิดการเปลี่ยนระดับของปัจจัยความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมักจากระดับที่ 20%w/v ไประดับที่ 16%w/v ที่ปัจจัยความเข้มข้นของ

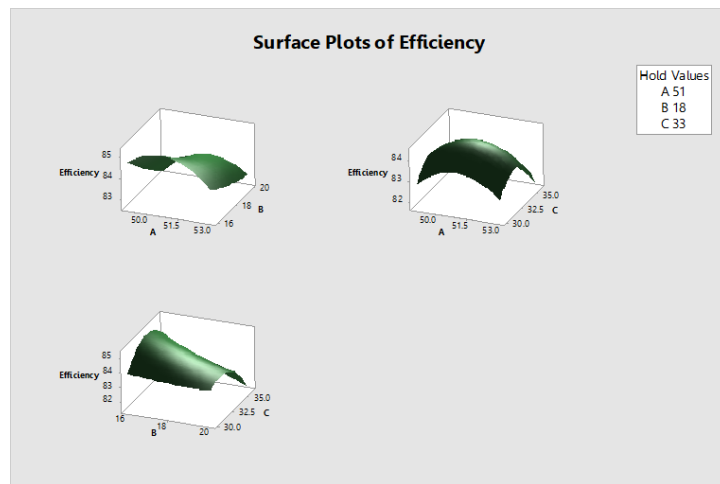
กากน้ำตาลระดับที่ 51%w/w ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยเพิ่มสูงขึ้น

ปัจจัยอุณหภูมิภายในถังหมักและความเข้มข้นของกากน้ำตาล (C*A) เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับของปัจจัยอุณหภูมิภายในถังหมักเป็นระดับที่ 33°C ที่ปัจจัยความเข้มข้นของกากน้ำตาลระดับที่ 51%w/w ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยเพิ่มสูงขึ้น

ปัจจัยอุณหภูมิภายในถังหมักและความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก (C*B) เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับของปัจจัยอุณหภูมิภายในถังหมักเป็นระดับที่ 33°C ที่ปัจจัยความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมักจากระดับที่ 20%w/v ไประดับที่ 16%w/v ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยเพิ่มสูงขึ้น



รูปที่ 8 กราฟเส้นโครงร่างของประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย



รูปที่ 9 กราฟพื้นผิวผลตอบของประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย

เมื่อพิจารณาแต่ละปัจจัยพบว่า ปัจจัย A ความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่มีค่าอยู่ระหว่างระดับต่ำและระดับสูง (ระดับ 0) จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยมีค่าสูงที่สุด ซึ่งในความเข้มข้นของกากน้ำตาล (Total Reducing Sugar) นี้จะประกอบไปด้วยน้ำตาลที่ยีสต์สามารถ

นำมาหมักได้ (Fermentable sugar) และน้ำตาลที่ยีสต์ไม่สามารถนำมาหมักได้ (Unfermentable sugar) เมื่อนำมาคิดเป็นอัตราส่วนระหว่างค่า Fermentable sugar (FS) และ Total Reducing Sugar (TRS) ของกากน้ำตาลแต่ละระดับพบว่า กากน้ำตาลระดับ 0 (กากน้ำตาลแหล่ง S) มีค่า อัตราส่วน

FS : TRS มากที่สุดคือ 0.8804 ส่วนกากน้ำตาลระดับ -1 (กากน้ำตาลแหล่ง K) และ +1 (กากน้ำตาลแหล่ง N) มีอัตราส่วน FS : US ใกล้เคียงกันคือ 0.8615 และ 0.8560 ตามลำดับ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การคำนวณอัตราส่วนน้ำตาลที่สามารถหมักได้ในแต่ละแหล่งของกากน้ำตาลที่นำมาทดลอง

พารามิเตอร์	หน่วย	แหล่งกากน้ำตาล		
		K	S	N
Total reducing sugar (as Invert Sugar)	%w/w	49.17	51.42	53.48
Unfermentable sugar (as Invert Sugar)	%w/w	6.81	6.15	7.70
Fermentable Sugar	%w/w	42.36	45.27	45.78
Fermentable Sugar : Total Reducing Sugar	-	0.8615	0.8804	0.8560

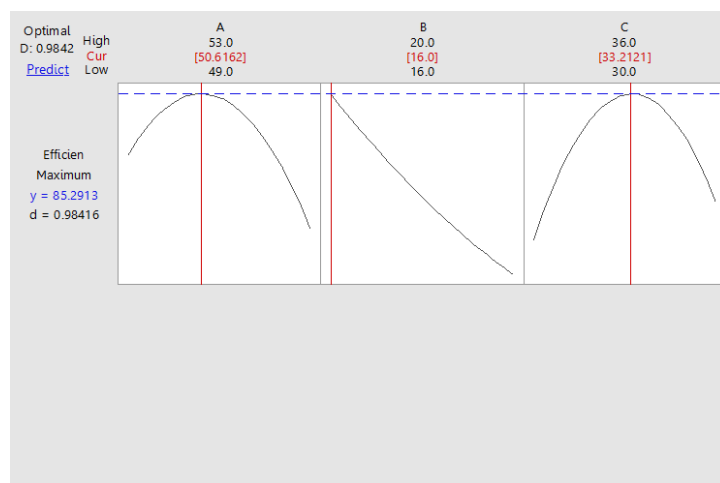
ปัจจัย B ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก ถ้ามีค่าเพิ่มขึ้นจากระดับต่ำไประดับสูงจะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อย ลดลง เนื่องจากความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมักสูง ปริมาณความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เพิ่มสูงขึ้นเกิดแรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) มีผล

ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ เยื่อหุ้มเซลล์ยีสต์ แข็งแรงมากขึ้น ทำให้สารอาหารไม่สามารถแพร่เข้าสู่เซลล์ได้รวมถึงเอทานอลก็ไม่สามารถแพร่ออกนอกเซลล์ยีสต์ได้เช่นกัน ก่อให้เกิดเซลล์ตาย [4]

ปัจจัย C อุณหภูมิภายในถังหมัก มีค่าอยู่ระหว่างระดับต่ำและระดับสูง (ระดับ 0) ในการหมักกากน้ำตาลจากอ้อยด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งจะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อยมีค่าสูงที่สุด

ทั้งนี้ปัจจัย B และปัจจัย C มีอิทธิพลของอันตรกิริยา (Interaction) ร่วมกัน จะเห็นว่าไม่ว่าที่ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมักระดับใด ๆ ที่อุณหภูมิภายในถังหมักระดับต่ำ ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อยที่ได้จะไม่แตกต่างกัน แต่ถ้าหากความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมักระดับต่ำ อุณหภูมิภายในถังหมักระดับสูง จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อยมีค่าเพิ่มมากขึ้น และที่ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมักระดับต่ำ อุณหภูมิที่อยู่ระหว่างระดับสูงและระดับต่ำ (ระดับ 0) จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลจากอ้อยมีค่าสูงที่สุด

ในการหาระดับของปัจจัยที่เหมาะสมของทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำให้ได้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลมากที่สุด สามารถวิเคราะห์ได้จากการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด (Response optimizer) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ Minitab แสดงดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์การหาระดับของปัจจัยที่เหมาะสมของทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำให้ได้ประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลมากที่สุด

จากรูปที่ 10 สามารถสรุปค่าระดับที่เหมาะสมที่สุดของแต่ละปัจจัยที่จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลมีค่ามากที่สุด คือ 85.291% ด้วยค่าความพึงพอใจของผลตอบ (Composite Desirability, D) เท่ากับ 98.42% ที่ความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของแต่ละปัจจัยจะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลมีค่ามากที่สุด

ปัจจัย	หน่วย	ค่าเดิมของโรงงาน กรณีศึกษา	ค่าเงื่อนไข ที่เหมาะสม	ค่าที่ ปรับ ได้จริง
ความเข้มข้นของ กากน้ำตาล	%w/w	48-53	50.6162	50
ความเข้มข้น น้ำตาลที่ใช้หมัก	%w/v	20-21	16.00	16
อุณหภูมิภายใน ถังหมัก	°C	30-36	33.2121	33

ตารางที่ 7 ผลการทดลองการคำนวณประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยเพื่อยีสันผลผล

Run Order	A ความเข้มข้น ของกากน้ำตาล	B ความเข้มข้น น้ำตาลที่ใช้ หมัก	C อุณหภูมิ ภายในถัง หมัก	Sugar Cane Molasses		Volume mash (ml)	Alcoholic strength (at 20 °C) (%v/v) Fermenter 72 hr	Efficiency (%)
				Total Reducing Sugar (%w/w)	Weight (g)			
1	50	16	33	50.62	474.12	1500	8.80	84.88
2	50	16	33	50.62	474.12	1500	8.90	85.84
3	50	16	33	50.62	474.12	1500	8.90	85.84
4	50	16	33	50.62	474.12	1500	8.95	86.32
5	50	16	33	50.62	474.12	1500	8.90	85.84

ตารางที่ 8 การคำนวณอัตราส่วนน้ำตาลที่สามารถหมักได้ของกากน้ำตาลที่นำมาทำการทดลองเพื่อยีสันผลผล

พารามิเตอร์	หน่วย	กากน้ำตาลจากอ้อย
Total reducing sugar (as Invert Sugar)	%w/w	50.62
Unfermentable sugar (as Invert Sugar)	%w/w	6.12
Fermentable Sugar	%w/w	44.50
Fermentable Sugar : Total Reducing Sugar	-	0.8791

5. สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลงานวิจัย

จากการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยของโรงงานกรณีศึกษาในระดับ

4.4 การทดสอบเพื่อยีสันผล

นำผลค่าเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของแต่ละปัจจัยดังตารางที่ 6 มาทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ตามขั้นตอนการหมักดังรูปที่ 3 ควบคุมค่าพารามิเตอร์ในการทดลองการหมักกากน้ำตาลดังตารางที่ 2 และวิเคราะห์พารามิเตอร์ในกระบวนการหมักดังตารางที่ 3 ซึ่งจะทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 7

จากตารางที่ 7 ผลการทดลองหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยเพื่อยีสันผล พบว่าค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยที่ได้คือ 85.74% และจากข้อมูลในตารางที่ 8 แสดงการคำนวณอัตราส่วนน้ำตาลที่สามารถหมักได้ในกากน้ำตาลที่นำมาทดลองเพื่อยีสันผล โดยมีค่าอัตราส่วน FS : TRS คือ 0.8791 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับกากน้ำตาลระดับที่ 0 ที่นำมาทดลองเพื่อหาค่าเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมที่สุด

ห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการหมักสากากน้ำตาลจากอ้อยสูงที่สุดด้วยวิธีการออกแบบพื้นผิวตอบและการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนในการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายค่าเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสม

ของแต่ละปัจจัยในกระบวนการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย พบว่าค่าที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยสามารถสรุปได้คือ ความเข้มข้นของกากน้ำตาล 50%w/w ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้หมัก 16%w/v และอุณหภูมิภายในถังหมัก 33°C หมักได้ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลสูงที่สุดเฉลี่ย 85.74% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการใช้โปรแกรม Minitab ทำนายหาค่าประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลมากที่สุดคือ 85.29% เมื่อพิจารณาอคติ (Bias) พบว่ามีค่าเป็น 0.53% ซึ่งค่าอคติที่ยอมรับได้ไม่ควรเกิน 5% แสดงให้เห็นว่าค่าเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมักส่ากากน้ำตาลของโรงงานกรณีศึกษาที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์มีความน่าเชื่อถือ และอนุมานได้ว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ตามสมการที่ 2 เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ทำนายค่าประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลของโรงงานกรณีศึกษาได้

5.2 การเปรียบเทียบการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยของโรงงานกรณีศึกษากับการทดลองที่ปรับค่าเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการเปรียบเทียบระหว่างการผลิตหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยระหว่างโรงงานกรณีศึกษาปี พ.ศ. 2562 กับการทดลองที่เงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยระหว่างโรงงานกรณีศึกษากับการทดลองที่เงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมในระดับห้องปฏิบัติการ

พารามิเตอร์	ค่าเฉลี่ยการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย	
	โรงงานกรณีศึกษา ปี พ.ศ. 2562	การทดลองที่เงื่อนไข และสภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของกากน้ำตาล (Total Reducing Sugar) (%w/w)	50.73	50.62
ความเข้มข้นน้ำตาลรวมที่หมัก (%w/v)	20.99	16.00
ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือสุดท้ายจากการหมัก (%w/v)	2.79	2.11
ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ของส่าส่งกลั่น (%v/v)	10.87	8.89
ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อย (%)	79.96	85.74
อัตราการใช้กากน้ำตาล (kg/L at alcohol 70 %v/v)	2.70	2.52
ต้นทุนกากน้ำตาลที่ใช้ในการผลิต (bath/L at alcohol 70 %v/v)	13.51	12.60

หมายเหตุ: การคำนวณอัตราการใช้กากน้ำตาลคิดเทียบที่ความเข้มข้นกากน้ำตาล 50%w/w และที่ประสิทธิภาพการกลั่น 100% ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ 70%v/v

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกากน้ำตาล (Total Reducing Sugar) ทั้งสองแบบมีค่าใกล้เคียงกัน แต่การหมักทดลองที่เงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมด้วยความเข้มข้นของน้ำตาล 16%w/v นั้นมีค่าประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลเพิ่มสูงกว่าแบบที่โรงงานกรณีศึกษาปฏิบัติอยู่ 7.23% แสดงให้เห็นว่าการหมักส่ากากน้ำตาลจากอ้อยในสภาวะที่เหมาะสมและใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำกว่าจะส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถหมักกากน้ำตาลจากอ้อยเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ได้ดีกว่า ทำให้ได้ประสิทธิภาพการหมักส่ากากน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาด้านต้นทุนกากน้ำตาลที่ใช้ในการผลิต (บาทต่อลิตรที่ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ 70%v/v) ซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายส่วนใหญ่ของโรงงานกรณีศึกษาประมาณร้อยละ 80 ในกระบวนการหมัก โดยคำนวณจากอัตราการใช้กากน้ำตาล (กิโลกรัมต่อลิตรที่ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ 70%v/v) คูณกับราคากากน้ำตาลจากอ้อยเฉลี่ยกิโลกรัมละ 5 บาท ดังตารางที่ 9 จะเห็นว่าต้นทุนของการหมักแบบเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมในระดับห้องปฏิบัติการมีต้นทุนกากน้ำตาลที่ใช้ในการผลิตเฉลี่ยต่ำกว่า 0.91 บาทต่อลิตร

5.3 ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมพารามิเตอร์อย่างละเอียด ถูกต้อง และแม่นยำหากเมื่อนำไปปฏิบัติจริงในโรงงานจึงต้องมีการทวนสอบเทียบมาตรฐานเครื่องมือ อุปกรณ์ และถังหมักที่ใช้ในกระบวนการหมักให้อยู่ในระดับที่สามารถทำงานได้ละเอียด ถูกต้อง และแม่นยำ เช่น การตวงปริมาตรน้ำและกากน้ำตาล ได้ถูกต้องแม่นยำ และการควบคุมอุณหภูมิภายในถังให้เหมาะสมกับสภาวะการหมัก เป็นต้น

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นสายพันธุ์เฉพาะของโรงงานกรณีศึกษา เนื่องจากต้องคำนึงถึงกลิ่นรสของแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ หากต้องการหมักกากน้ำตาลที่ต้องการความเข้มข้นแอลกอฮอล์สูงและไม่คำนึงถึงกลิ่นรสสามารถใช้เชื้อยีสต์ที่ผ่านการตัดต่อทางพันธุกรรมเพื่อผลิตเอทานอลได้

ในการศึกษาวิจัยต่อไปควรมีการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง Fermentable sugar และ Total reducing sugar

ของวัตถุดิบกากน้ำตาลแต่ละแหล่งที่นำมาใช้หมัก แอลกอฮอล์ เพื่อช่วยในการพิจารณาคัดเลือกคุณภาพและความเหมาะสมของราคาในการซื้อขายของวัตถุดิบกากน้ำตาล

และควรศึกษาการควบคุมอุณหภูมิภายในถังระหว่างการหมัก ซึ่งในแต่ละช่วงเวลาการเจริญเติบโตและการผลิตแอลกอฮอล์ เชื้อยีสต์อาจต้องใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกันตามความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ และความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ เพื่อให้เชื้อยีสต์สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุด

6. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ทีมงานโรงงานกรณีศึกษา และผู้มีส่วนร่วมที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทุกท่านที่คอยให้คำปรึกษาและทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- [1] เอทานอล. สมาคมการค้าผู้ผลิตเอทานอลไทย, 2556. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา: <http://www.thai-ethanol.com/th/2013-04-06-13-53-49/what-is-ethanol.html>
- [2] การผลิตแอลกอฮอล์. องค์การสุรากรมสรรพสามิต, 2560. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา: <http://www.liquor.or.th/aic/detail/การผลิตแอลกอฮอล์>
- [3] ประกาศกรมสรรพสามิต เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขในการผลิตสุราและการนำสุราออกจากโรงงานสุราเพื่อตรวจวิเคราะห์ในขั้นตอนการผลิต. องค์การสุรากรมสรรพสามิต, 2560. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา: <http://www.liquor.or.th/assets/images/Law/หลักเกณฑ์%20วิธีการและเงื่อนไขในการผลิตสุราและการนำสุราออกจากโรงงานสุราเพื่อ.pdf>
- [4] สาวิตรี ลีหมอง. ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2549.
- [5] Walker, G.M., Abbas, C., Ingledew, W.M. and Pilgrim, C. The Alcohol Textbook. 6th edition, Lallemand Biofuels & Distilled Spirits, Duluth, 2017.
- [6] ปารเมศ ชูติมา. การออกแบบการทดลองทางวิศวกรรม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.
- [7] Montgomery, D.C. Design and Analysis of Experiments. 8th edition, John Wiley & Sons, New York, 2003.
- [8] กนกวรรณ แก้วเกษมเสื่อ. การศึกษาแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลในโรงงานบริษัท แสงโสม จำกัด จ.กาญจนบุรี. มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม, 2547; 73.

- [9] Latimer, G.W., Jr. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th edition, AOAC International, Maryland, 2016.
- [10] Jacques, K.A., Lyons, T.P. and Kelsall, D.R. The Alcohol Textbook. 4th edition, Nottingham University Press, Nottingham, 2003.