บทที่ 2
ทบทวนเอกสาร

วิกฤตการณ์น้ำสะอาดโลก (The world's water crisis)

เมื่อเริ่มเข้าสู่ศตวรรษที่ 21 โลกเต็มไปด้วยความหลากหลายทางชีวภาพรวมทั้งประชากรโลกมากกว่า 6 พันล้านคน เป็นปัจจัยสำคัญในวิกฤตการณ์ปัญหาน้ำในปัจจุบันให้ทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น โดยไม่มีการใช้และการจัดการอย่างถูกต้อง ก่อปัญหาอย่างรุนแรงต่อชีวิตประชาชนที่ยากจนที่ต้องใช้น้ำไม่สะอาดและเป็นแหล่งก่อเกิดโรคต่างๆได้ ทำให้มีคุณภาพชีวิตต่ำและต้องอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ นอกจากนั้นยังขาดความรู้ความเข้าใจในการใช้น้ำอย่างพอเพียง

จากรายงานของ The World Water Development Report (WWDR) กล่าวว่าจำนวนประชากรที่เพิ่มสูงขึ้นและปัญหาทางสิ่งแวดล้อม สามารถทำให้วิกฤตการณ์น้ำสะอาดดีขึ้นได้ด้วยการจัดการทำให้เกิดการจัดสรรน้ำอย่างถูกต้อง เป็นการเพิ่มเปอร์เซ็นต์น้ำสะอาดให้สามารถอุปโภคบริโภคได้ในประเทศที่กำลังพัฒนา การแก้ไขปัญหาวิกฤตการณ์น้ำต้องควบคุมไม่ให้รุนแรงขึ้นและต้องแก้ไขให้ได้ ซึ่งเป็นเป้าหมายหนึ่งของการประชุม Commission for Sustainable Development (CSD) ในค.ศ. 2002 และได้ตั้งเป้าหมายการแก้ไขปัญหาน้ำในปัจจุบันคือ ครึ่งหนึ่งของประชากรโลกจะต้องได้รับน้ำดื่มที่ปลอดภัย ภายในค.ศ. 2015 ในการประชุม WWDR ในค.ศ. 2000 ได้เพิ่มหัวข้อการประชุมอีก 11 ข้อในข้อตกลงพื้นฐานคือ

1. ความปลอดภัย ประสิทธิภาพและสุขอนามัยของน้ำ
2. ความปลอดภัยทางอาหาร โดยเฉพาะคุณภาพและความเป็นพิษของน้ำ
3. การปกป้องและอนุรักษ์ระบบนิเวศน์อย่างยั่งยืน
4. การแบ่งปันแหล่งน้ำ เพื่อควบคุมความแตกต่างในการใช้น้ำ
5. ควบคุมความเสี่ยงที่จะก่อให้เกิดความเป็นพิษในน้ำ
6. เพิ่มมูลค่าของน้ำ โดยการจัดการน้ำในทางเศรษฐศาสตร์ สังคมศาสตร์ นิเวศวิทยา และวัฒนธรรม
7. ควบคุมการใช้น้ำอย่างถูกต้อง
8. ควบคุมความสะอาดของน้ำในโรงงานอุตสาหกรรม
9. การใช้น้ำในการผลิตพลังงานเชื้อเพลิง
10. ให้ความรู้พื้นฐานในการใช้น้ำอย่างถูกต้อง
11. การใช้น้ำในชุมชนที่มีการเจริญเติบโตของโลก

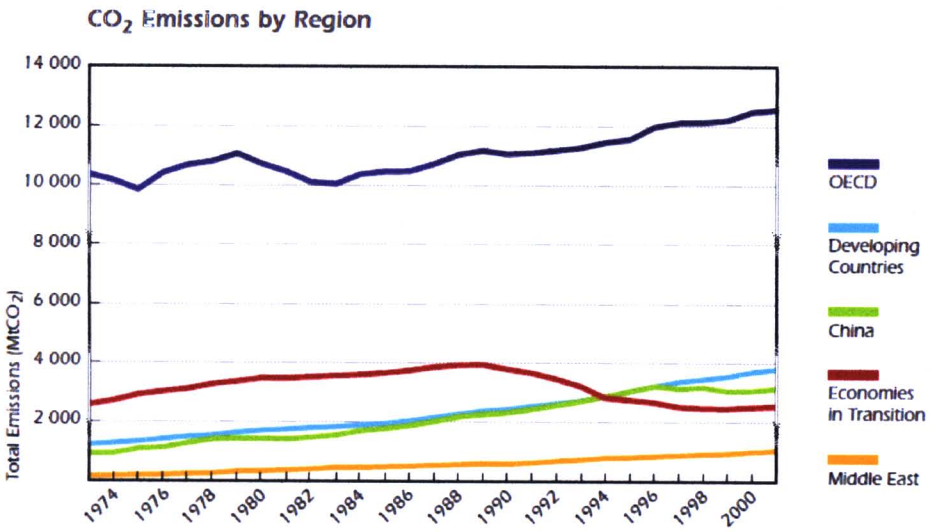
ถึงแม้ว่าโลกจะประกอบด้วยน้ำเป็นส่วนใหญ่ แต่มีเพียง 2.53% ที่เป็นน้ำจืดนอกนั้นเป็นน้ำเค็ม น้ำจืดบางส่วนเป็นน้ำแข็งและถูกปกคลุมด้วยหิมะอย่างหนาแน่น น้ำที่มีในแหล่งต่างๆของโลก รวมทั้งที่มนุษย์ได้เก็บไว้มีประมาณ 8,000 ลูกบาศก์กิโลเมตร (km^3) ซึ่งน้ำในแหล่งน้ำต่างๆ สามารถหมุนเวียนได้ โดยต้นไม้และดินจะดูดซึมน้ำ น้ำบางส่วนจะระเหยไปในบรรยากาศแล้วกลั่นตัวไหลสู่แม่น้ำลงทะเล แต่เนื่องด้วยการเจริญเติบโตของบ้านเมืองและประชากรทำให้มีความต้องการน้ำมากขึ้น อีกทั้งปริมาณน้ำที่หมุนเวียนและที่มีจัดเก็บมีอยู่เพียง 62% ทำให้เกิดการขาดแคลนก่อให้เกิดปัญหาน้ำใช้ในที่สุด

แหล่งน้ำสะอาดในปัจจุบันลดจำนวนลงด้วยมลภาวะ โดยแต่ละวันมีการปล่อยขยะปริมาณ 2 ล้านตันลงสู่แหล่งน้ำรวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม สารเคมี ของเสียจากมนุษย์และทางการเกษตร มีการประมาณการว่าน้ำเสียทั่วโลกมีประมาณ 1,500 ลูกบาศก์กิโลเมตร (km^3) และกำลังจะเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ โดยกลางศตวรรษนี้ประชากรกว่า 2,000 ล้านคนใน 48 ประเทศจะประสบปัญหาการขาดแคลนน้ำ (World Water Assessment Programme, 2003)

วิกฤตการณ์น้ำมันเชื้อเพลิง

รายงานจาก International Energy Agency กล่าวว่าสมาชิกองค์กร The Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) ได้ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จากการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงเพิ่มขึ้น 13% ระหว่างค.ศ. 1990 ถึงค.ศ. 2001 ซึ่งเพิ่มขึ้นจากค.ศ. 1973 ถึง 1990 ถึง 3.4% ทำให้ CO_2 จากประเทศสมาชิก OECD มีปริมาณการปล่อย 81.1% จาก 77.7% ในค.ศ. 2001 (ภาพ 1)

การลดปริมาณการปล่อย CO_2 จากการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงจะช่วยลดปัญหาสภาพอากาศโลกที่เปลี่ยนแปลงในปัจจุบัน การที่จะก่อให้เกิดการพัฒนาและความสำเร็จในการลดการปล่อย CO_2 จะต้องเกิดมาจากความเข้าใจในปัจจัยในด้านต่างๆ เช่น รายได้ประชากร ราคาน้ำมัน โครงสร้างทางเศรษฐกิจ วิถีชีวิต สภาพอากาศ ประสิทธิภาพการใช้พลังงาน และผลกระทบของพลังงาน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการปล่อย CO_2 ทั้งสิ้น



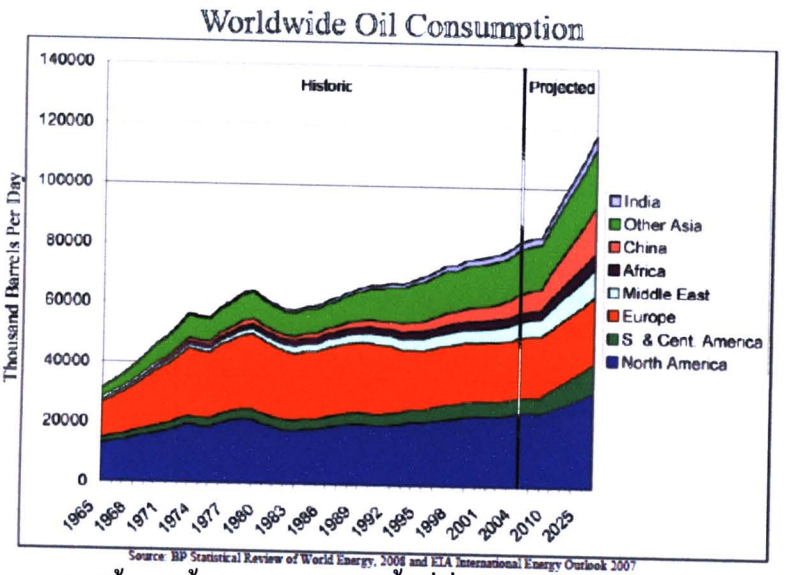
ภาพ 1 ปริมาณการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์แต่ละพื้นที่ (International Energy Agency, 2003)

ปริมาณการปล่อย CO_2 จากการเผาไหม้ของพลังงานฟอสซิลเพิ่มขึ้นจาก 20.7 พันล้านตัน (Gt) ในค.ศ. 1990 เป็น 23.7 พันล้านตันในค.ศ. 2001 ซึ่งมีการเพิ่มขึ้น 14.6% ประเทศในกลุ่ม OECD เป็นกลุ่มประเทศหลักที่มีการปล่อย CO_2 มาก ในค.ศ. 1970-1980 เป็นช่วงราคาน้ำมันและสภาพเศรษฐกิจโลกตกต่ำ แต่หลังจากปีค.ศ. 1980 เป็นต้นมาการใช้พลังงานก็เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ประเทศจีนเป็นประเทศที่มีการปล่อย CO_2 เป็นอันดับ 2 รองจากประเทศสหรัฐอเมริกา มีการปล่อย CO_2 สูงสุดในค.ศ. 1996 และลดลงเล็กน้อยจนถึงค.ศ. 2000 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณ CO_2 ขึ้นกับปริมาณผลิตภัณฑ์มวลรวมภายในประเทศ (GDP) ส่วนในประเทศที่กำลังพัฒนา (developing countries) เป็นกลุ่มประเทศที่มีการปล่อย CO_2 ขึ้นอย่างรวดเร็วในกลางค.ศ. 1980 ซึ่งมีการผลิตพลังงานตั้งต้น (Total primary energy supply: TPES) และการเติบโตของ GDP ซึ่งในประเทศกำลังพัฒนามีการใช้พลังงานเชื้อเพลิงจากฟอสซิลเป็นส่วนใหญ่

ในอดีตประเทศอุตสาหกรรมจะมีการปล่อย CO_2 มากที่สุด แต่ปัจจุบันประเทศในกลุ่ม OECD มีการปล่อย CO_2 มากเป็น 3 เท่าของค่าเฉลี่ยของโลกและมากกว่า 6 เท่าของประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งปัจจัยที่สำคัญคือความมั่นคงในสภาพเศรษฐกิจ ชนิดของการพัฒนาเศรษฐกิจ สภาพอากาศ ทรัพยากรทางธรรมชาติ และการเจริญของประชากร การพัฒนาทางด้านเศรษฐกิจและการเพิ่มขึ้นของประชากรเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ความต้องการทางด้านพลังงานเพิ่มขึ้น ส่งผลในการปล่อย CO_2 ในกลุ่มประเทศ Economies in Transition (EITs) หลังค.ศ. 1990 มีสภาวะทางเศรษฐกิจและจำนวนประชากรลดลง 3% ทำให้มีการปล่อย CO_2 ที่ลดลง แต่ประเทศจีนมีการเพิ่มขึ้นของสภาพทางเศรษฐกิจ 174% และประชากรเพิ่มขึ้น 12% รวมทั้งการเพิ่มจำนวนการผลิตน้ำมันดิบและก๊าซธรรมชาติทำให้มีการปล่อย CO_2 มากขึ้น (International Energy Agency, 2003)

ในค.ศ. 2008 ราคาน้ำมันโลกสูงขึ้นเกิน 140 เหรียญต่อบาเรล ในประเทศสหรัฐอเมริกามีราคาน้ำมันที่หัวจ่ายน้ำมันเฉลี่ยอยู่ที่ 4 เหรียญต่อแกลลอน ซึ่งมีราคาสูงที่สุดเป็นประวัติการณ์ นอกจากนั้นยังต้องนำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงถึง 66% เนื่องจากน้ำมันในประเทศไม่เพียงพอ ซึ่งประเทศสหรัฐอเมริกามีกำลังการผลิตเพียง 2.5% ของปริมาณน้ำมันที่ใช้ภายในประเทศมีบริโภคน้ำมัน 21 ล้านบาเรลต่อวัน ซึ่งถือเป็น 24% ของปริมาณน้ำมันที่ใช้ทั่วโลก มีการคาดการว่าความต้องการน้ำมันของประเทศสหรัฐอเมริกาเพิ่มขึ้น 10% ในอีก 10 ปีข้างหน้า (ภาพ 2)

ในประเทศจีนมีการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงเพิ่มขึ้น 89% ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 9% ของปริมาณน้ำมันที่ใช้ทั่วโลก เช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นกับประเทศอินเดีย มีการคาดการน้ำมันสำรองทั่วโลกที่สามารถผลิตได้เพียงพอแค่ 41 ปีข้างหน้า เมื่อเทียบอัตราการผลิตในปัจจุบัน (Kessler and Begtrup, 2008)

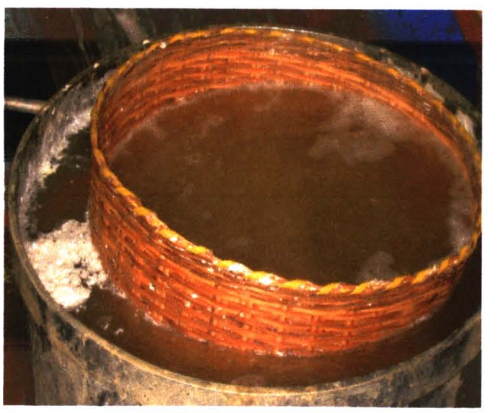


ภาพ 2 ปริมาณการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงของแต่ละพื้นที่ทั่วโลก (Kessler and Begtrup, 2008)

น้ำเวย์เต้าหู้ (Soybean Curd Why)

ปัจจุบันมีผู้นิยมนำถั่วเหลืองมาดัดแปลงเป็นอาหารต่างๆ อย่างกว้างขวาง เนื่องจากถั่วเหลืองที่มีคุณค่าทางอาหารสูง และราคาถูก จัดเป็นพวก high protein low cost ในกระบวนการแปรรูปอาหารจะมีน้ำเหลือทิ้งที่เกิดขึ้น และในการผลิตเต้าหู้โบราณแบบก้อนจากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นอาหารโปรตีนอย่างหนึ่งนั้น นิยมทำเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน และมีบ้างที่เป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่วิธีการผลิตเต้าหู้มีหลายวิธีแต่โดยทั่วไปถ้าใช้ถั่วเหลือง 1 กิโลกรัม จะใช้น้ำ 10-15 ลิตร เพื่อแช่เแล้วโม่ก่อนที่จะตกตะกอนโปรตีนออกมา ของเหลือที่ได้จากการทำเต้าหู้คือ กากถั่วเหลือง น้ำทิ้งจากการแช่ถั่ว และน้ำเวย์เต้าหู้ (ภาพ 3) ที่ได้หลังจากการตกตะกอนโปรตีน ซึ่งบางโรงงานจะ

ทิ้งน้ำเวย์เต้าหู้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ จะทำให้แหล่งน้ำนั้นเกิดการเน่าเสีย ส่งผลเสียต่อระบบนิเวศน์เนื่องจากทำให้ค่า BOD ในแหล่งน้ำนั้นสูงขึ้น



ภาพ 3 น้ำเวย์เต้าหู้ที่ได้หลังจากตกตะกอนโปรตีนถั่วเหลือง

ขั้นตอนกรรมวิธีการผลิต (นาตยา, 2550)

เลือกเมล็ดถั่วที่เสียออก ล้างน้ำแล้วแช่ในน้ำร้อน 2-3 ชั่วโมง

↓

นำเปลือกถั่วออก ใส่ถั่วและน้ำด้วยอัตราส่วน 1/10 ลงในโถปั่น ปั่นให้เข้ากันจนละเอียด

↓

กรองส่วนผสมด้วยผ้าขาวบางและบีบเอาน้ำนมถั่วเหลืองออกให้หมด

↓

นำน้ำนมถั่วเหลืองมาต้ม โดยใช้ไฟปานกลางค่อนข้างแรง พอเดือดสักครู่ปิดไฟ

↓

แช่ในอ่างน้ำประมาณ 10 นาที จนอุณหภูมิ 70-80 °C

↓

เทน้ำดีเกลือลงไป คนให้เข้ากันจนข้นและโปรตีนถั่วเหลืองจับตัวเป็นก้อน

↓

ตั้งทิ้งไว้สักครู่ให้โปรตีนตกตะกอน จะได้น้ำเวย์เต้าหู้ที่โรงงานทิ้งไปโดยไม่ใช้ประโยชน์

↓

ตักโปรตีนถั่วเหลืองใส่พิมพ์ที่รองด้วยผ้าขาวบางจนพูน ห่อให้เรียบร้อย ทับด้วยของหนัก ประมาณ 30 นาที จะได้เต้าหู้แข็ง

ภาพ 4 ไดอะแกรมขั้นตอนการผลิตเต้าหู้จากถั่วเหลือง (นาตยา, 2550)

องค์ประกอบของน้ำเวย์เต้าหู้

ของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตเต้าหู้ต่างๆ เช่น กากถั่วเหลืองทั้งหมดถูกนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ แต่น้ำทิ้งจากการแช่ถั่วและน้ำเวย์มักถูกปล่อยลงในแหล่งน้ำธรรมชาติ ในน้ำเวย์เต้าหู้จะมีเศษโปรตีนหลงเหลืออยู่แล้ว ยังมีคาร์โบไฮเดรตและสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด ตลอดจนเกลือแร่และวิตามิน ซึ่งเหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และมีค่า BOD สูง หากมีปริมาณมาก และปล่อยลงแหล่งน้ำก็จะมีผลเสียต่อระบบนิเวศน์ของแหล่งน้ำได้ (อรัญ และคณะ, 2529)

เนื่องจากในน้ำเวย์เต้าหู้มีสารอาหารอย่างสมบูรณ์เพียงพอต่อการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของน้ำ จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำเวย์เต้าหู้จากบริษัทผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (เชียงใหม่) พบว่าในน้ำเวย์เต้าหู้มี Total protein 87.56%, Total nitrogen 14.01%, Total sugar 0.52%, Reducing sugar 0.36% , Total solid 98.1% และมี pH 4.9 (กุลวดี, 2552)

การใช้ประโยชน์จากน้ำเวย์เต้าหู้

ได้มีการศึกษาการนำน้ำเวย์ถั่วเหลืองหลังจากการสกัดน้ำมัน (Defated soybean flaskes) มาเลี้ยงยีสต์หลายสายพันธุ์ ได้แก่ *Candida quilliermondii*, *Debaryomyces hansenii*, *D. kloeckeri*, *Torulopsis candida, Pichia scolyti* พบว่าเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *C. quilliermondii* และ *D. kloeckeri* สามารถเจริญได้ดีมาก และผลิตเซลล์ยีสต์ได้ 13.20 กรัม และ 14.60 กรัม ในน้ำเวย์ถั่วเหลือง 1 ลิตร เป็นเวลา 36 ชั่วโมง มีการนำน้ำเวย์เต้าหู้มาผลิตวิตามินบี 12 ด้วยเชื้อ *Propionibacterium freudenreichii* สามารถผลิตวิตามินบี 12 ได้ 889 µg/g dry cell (Sugimato, 1974) และ อรัญ และคณะ (2529) ได้ทำการเลี้ยง *Eromothecium ashbyii* ในน้ำเวย์เต้าหู้เป็นเวลา 5 วัน สามารถผลิตไรโบฟลาวินได้ 0.09 mg/ml และในน้ำเวย์เต้าหู้ที่มีการเติมกากถั่วเหลือง 14% (w/v) จะผลิตไรโบฟลาวินได้ 0.92 mg/ml และมีการเพาะเลี้ยง *Sporotrichum cellulophilum* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้เป็นเวลา 5 วัน สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ได้ 0.78 U/ml และเมื่อเติมกากถั่วเหลือง 10% ได้เอนไซม์ เซลลูเลสเพิ่มเป็น 1.28 U/ml

มีรายงานการใช้น้ำเวย์เต้าหู้มาเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว 2 ชนิดคือ *Chlorella pyrenoidosa* และ *Scenedesmus quadricaula* (Wong, 1985) โดยเติมสารละลายปุ๋ยหมักลงไป พบว่า *C. pyrenoidosa* เจริญได้ดีในน้ำเวย์เต้าหู้ที่ความเข้มข้น 2 % (v/v) และสารละลายปุ๋ยหมักความเข้มข้น 1% (v/v) ส่วน *S. quadricaula* เจริญได้ดีในน้ำเวย์ความเข้มข้น 4% (v/v) และสารละลายปุ๋ยหมัก 2% (v/v) ซึ่งสามารถผลิตสาหร่ายได้ปริมาณมาก และใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ดี และมีการ

ทดลองกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำนมถั่วเหลือง โดยนำมาเลี้ยง *Secnedesmus acutus*, *Chlamydomonas* sp. และ *Chlorella* sp. เปรียบเทียบอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ โดยแบ่งเป็นกลุ่มให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับกลุ่มที่ให้แต่อากาศธรรมดา พบว่า *Chlorella* sp. สามารถเจริญได้ดีในน้ำแช่เมล็ดถั่วเหลืองที่ให้อากาศธรรมดาและสามารถกำจัดน้ำเสียร่วมกับแบคทีเรียได้ โดยทำให้ค่า BOD ลดลง 95% ภายในเวลา 2 วัน นอกจากนี้ยังได้ปริมาณเซลล์สาหร่ายเท่ากับ 2.86 x 10^8 cell/ml และปริมาณเซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.82 x 10^3 mg/l (จากสาหร่ายเริ่มต้น 100 mg/l) และวัดปริมาณโปรตีนในตะกอนได้ 47.85% (หยกแก้ว และคณะ, 2525) มีการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำเวย์เต้าหู้ที่ระดับความเข้ม 0-15% (v/v) ที่มีการเติม $NaHCO_3$ 8.5 g/l, $NaNO_3$ 1.5 g/l, K_2HPO_4 0.5 g/l และ ปุ๋ย สูตร 16:16:16 0.6 g/l ปรับค่า pH 10 ± 0.1 เป็นเวลา 30 วัน ในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพกลางแจ้ง พบว่าในน้ำเวย์เต้าหู้ที่ 10% ให้ผลผลิตดีที่สุดทั้งสองสภาพการทดลองที่ 32.1 x 10^4 cell/ml ในสภาพห้องปฏิบัติการ และ 11.2 x 10^4 ce''/ml ในสภาพกลางแจ้ง และมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 55.41 % dry weight และสามารถลดค่า BOD ได้ 53.55% ในสภาพห้องปฏิบัติการ และ 42.85% ในสภาพกลางแจ้ง (สถิต, 2533)

นอกจากการนำมาเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้แล้ว น้ำเวย์เต้าหู้ยังสามารถนำมาใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ต่างๆ เพื่อนำมาผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein) การศึกษาการเพาะเลี้ยง *Saccharomyces cerevisiae* จากผลิตภัณฑ์ Fermipan ในน้ำเวย์เต้าหู้จากบริษัทผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (เชียงใหม่) จำกัด พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงเชื้อคือการใช้ 95% (v/v) ที่ pH 4.5 ที่เติมน้ำตาลซูโครส 5% ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้น้ำหนักแห้งของเซลล์ร้อยละ 58.03 ซึ่งมากกว่าที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Chloramphenicol (สรินทรา, 2548) มีการทดสอบความสามารถในการใช้น้ำเวย์เต้าหู้เป็นแหล่งอาหารในการเพาะเลี้ยง *Candida utilis* TISTR 5001 ที่ความเข้มข้น 100%, 90%, 80%, 70% และ 60% (v/v) เปรียบเทียบกับอาหาร Sabouraud Dextrose Broth พบว่าน้ำเวย์เต้าหู้ที่ความเข้มข้น 100% (v/v) ที่มีค่า pH 5.5 มีอัตราการเจริญดีที่สุด ได้น้ำหนักเฉลี่ยของเซลล์แห้ง 3.10 ± 0.05 g/l การเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% (w/v) ได้น้ำหนักของเซลล์แห้งสูงสุดที่ 4.14 ± 0.02 g/l และการเติมน้ำตาลซูโครส 3% (w/v) กับแอมโมเนียมซัลเฟต ได้น้ำหนักของเซลล์แห้งสูงสุดที่ 6.94 ± 0.03 g/l ซึ่งให้ผลดีกว่าเลี้ยงในอาหาร Sabouraud Dextrose Broth (จันทร์จิรา, 2549) และในปีถัดมาได้มีการขยายขนาดการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำเวย์เต้าหู้ด้วย *Candida uitilis* TISTR 5001 โดยใช้ถังเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ขนาด 200 ลิตร ใช้น้ำเวย์เต้าหู้ปริมาตร 100 ลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ได้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 13.04 ± 3.91 g/l และได้ทำการทดสอบความสามารถในการลดค่า BOD ในน้ำเวย์เต้าหู้ ด้วยวิธี

azide modification พบว่าสามารถลดค่า BOD ของน้ำเวย์เต้าหู้ได้ 60.8% และเมื่อทำการวัดค่า BOD โดยใช้ BOD sensor สามารถลดค่า BOD ของน้ำเวย์เต้าหู้ได้ 56.1% (จารุวรรณ, 2550)

น้ำตาลทราย (sucrose)

ซูโครสเป็นสารประกอบอินทรีย์ มีชื่อเรียกทั่วไปว่าน้ำตาลทราย หรือ saccharose มีลักษณะเป็นผลึกขาว ไม่มีกลิ่น มีรสชาติหวาน ใช้โดยทั่วไปทั้งในครัวเรือนและภาคอุตสาหกรรม โครงสร้างเป็นไดแซ็กคาไรด์ (disaccharide) ของกลูโคส และฟรุกโตส (ภาพ 5) สูตรทางเคมีคือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ มีปริมาณการผลิต 150,000,000 ตันต่อปี (Hubert *et al.*, 2007)

น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสที่เป็นองค์ประกอบของน้ำตาลทรายเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคสิดิก (glycosidic bond) ที่อะตอมของคาร์บอนในน้ำตาลกลูโครสตำแหน่งที่ 1 กับน้ำตาลฟรุกโตสตำแหน่งที่ 2 สิ่งที่น้ำตาลซูโครสแตกต่างจากน้ำตาล disaccharide โดยทั่วไปคือ พันธะไกลโคสิดิกจะเกิดเฉพาะระหว่างปลายรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตส (Reducing sugar) เท่านั้น จะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) และจะหยุดการเปลี่ยนเมื่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น (Beevers *et al.*, 1952)

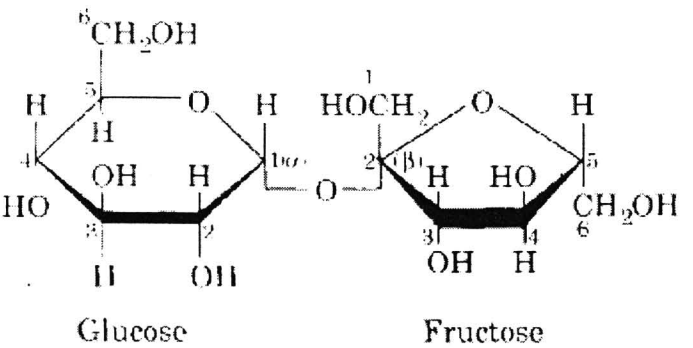


Figure 1

ภาพ 5 โครงสร้างน้ำตาลซูโครส (Beevers *et al.*, 1952)

การผลิตน้ำตาลทรายจะได้จากพืช โดยพืชที่สำคัญในการผลิตคืออ้อย (sugar cane) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Saccharum* spp. และหัวบีท (sugar beets) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Beta vulgaris* ซึ่งจะมีปริมาณน้ำตาล 12 – 20% (w/w) นอกจากนี้แล้วยังสามารถผลิตได้จากข้าวฟ่าง ต้นตาล

(sugar palm) และใบเมเปิล (s ugar maple) น้ำตาลทรายได้จากการบวนการสกัดจากพืชโดยใช้น้ำร้อน หลังจากนั้นทำให้มีความเข้มข้นมากขึ้นจนกลายเป็นผลึก (Ophardt, 2003)

กากน้ำตาล (Molasses)

กากน้ำตาลเป็นของเหลวที่มีลักษณะข้นเหนียว สีน้ำตาลดำ (ภาพ 6) ที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย เริ่มจากการนำอ้อยเข้าหีบได้น้ำอ้อย กรองเอากากออกจากน้ำอ้อยแล้วเคี่ยวจนได้ผลึกของน้ำตาลทรายและตกตะกอนแยกผลึกน้ำตาลทรายด้วยหม้อปั่น (centrifuge) ผลพลอยได้ที่สำคัญจากการผลิตน้ำตาลทรายด้วยวิธีนี้ได้แก่ กากน้ำตาล ขี้ตะกอน (fillter cake) และ กากอ้อย (bagasses) องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลซูโครสที่ไม่ตกผลึก กากน้ำตาลสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด ตามกรรมวิธีในการผลิตน้ำตาลทราย คือ

1. กากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาว (plantation white sugar) ซึ่งเรียกว่า Blackstrap molasses
2. กากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (refine sugar) ซึ่งเรียกว่า refinery molasses จะมีปริมาณน้ำตาลทรายอยู่ประมาณ 48%
3. กากน้ำตาลที่ได้จากการทำบางส่วนของน้ำอ้อยแปรสภาพให้เข้มข้นโดยการระเหย (inverted can juice) ซึ่งเราเรียกว่า invert molasses หรือ highest molasses ซึ่งเป็นการผลิตกากน้ำตาลโดยตรง

ภาพ 6 ลักษณะกากน้ำตาล

ประโยชน์ที่ได้จากกากน้ำตาลมีมากเนื่องจากในกากน้ำตาลประกอบด้วยน้ำตาล 50-60% และแร่ธาตุต่างๆ เช่น สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ ใช้เป็นปุ๋ยเพราะในกากน้ำตาลมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญสำหรับพืช นอกจากนี้ยัง

สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการหมักหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมหมักแอลกอฮอล์ สุรา กรดมะนาว กรดน้ำส้ม กรดแล็กติก ผงชูรส ยีสต์ขนมปัง และยีสต์อาหารสัตว์เป็นต้น (สันทัด, 2544)

ในอุตสาหกรรมการผลิตเหล้าและแอลกอฮอล์ เป็นแหล่งใหญ่ที่ต้องการกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่สำคัญ ผลผลิตที่ได้จากกากน้ำตาลได้แก่ เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) บิวทิลแอลกอฮอล์ (butyl alcohol) อะซีโตน (acetone) กรดซิตริก (citric acid) กรีเซอรอล (glycerol) และยีสต์ นอกจากนั้นถ้านำกากน้ำตาลที่ทำให้บริสุทธิ์ไปหมักและกลั่นจะได้เหล้ายิน (gin) ส่าเหล้าหรือยีสต์ที่ตายแล้ว เป็นผลพลอยได้ซึ่งสามารถนำไปทำเป็นอาหารสัตว์ นอกจากนี้กากน้ำตาลยังใช้เลี้ยงยีสต์สำหรับทำขนมปังและเหล้าได้ด้วย ยีสต์บางชนิดที่ให้โปรตีนสูง เช่น *Torulopsis utilis* นอกจากนั้นยังใช้ทำปุ๋ยหรือปรับปรุงคุณภาพดิน กากน้ำตาลมีส่วนประกอบของโพแทสเซียม อินทรียวัตถุ และธาตุรองอื่นๆ อีกมาก อีกทั้งยังเหมาะสำหรับปรับสภาพดินทราย หรือดินเหลวที่ไม่มีการเกาะตัว เนื่องจากขาดอินทรียวัตถุ และยังสามารถใช้ผสมกับชานอ้อยสำหรับทำถ่านใช้ในครัวเรือน

มีงานวิจัยที่ได้นำกากน้ำตาลมาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของจุลินทรีย์ effective microorganism (EM) ในการย่อยสลายพืชบางชนิดเพื่อการทำปุ๋ยหมัก โดยพบว่าการเติมจุลินทรีย์ EM 0.5 ml และกากน้ำตาล 5 g สามารถย่อยสะเดา จามจุรีได้ดีที่สุดและดีกว่าผักตบชวา (จรัญญา, 2549)

ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับ *Saccharomyces cerevisiae* (Jenning and Lysek, 1999)

Saccharomyces cerevisiae เป็นยีสต์ที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ (budding) เริ่มต้นโดยเซลล์แม่มีการเพิ่มขนาดของเซลล์และมีการสังเคราะห์ทำให้ผนังเซลล์ มีความอ่อนตัวลง เมื่อเกิดแรงเฉื่อยทำให้ไซโตพลาสซึม ไหลออกนอกเซลล์ยังไปส่วนของหนังเซลล์ใหม่ที่ถูกสร้างด้วยเอนไซม์ glucan synthetase และ chitin synthetases

มีการใช้ยีสต์มาตั้งแต่สมัยโบราณในการผลิตขนมปังและเครื่องดื่ม เชื่อว่าเป็นเชื้อที่แยกจากผิวของผลองุ่น เป็นจุลินทรีย์ที่มีการศึกษาเป็นตัวอย่างของกลุ่มยูคาริโอต ในขั้นโมเลกุลและเซลล์ อีกทั้งยังใช้เป็นตัวศึกษาในกระบวนการหมัก (fermentation) ลักษณะของเชื้อมีรูปร่างไข่ (ovoid) มีขนาดประมาณ 5-10 μm

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ชื่อ *Saccharomyces* มีรากศัพท์จากภาษาละตินมีความหมายเป็นเชื้อราน้ำตาล (sugar mold or sugar fungus) และ *cerevisiae* มีความหมายแปลว่า เบียร์ และมีชื่อย่อทางวิทยาศาสตร์คือ *S .cerevisiae* การจัดจำแนกเชื้อเป็นหมวดหมู่ได้ดังนี้

Kingdom : *Fungi*

Phylum : *Ascomycota*

Subphylum : *Saccharomycotina*

Class : *Saccharomycetes*

Order : *Saccharomycetales*

Family : *Saccharomycetaceae*

Genus : *Saccharomyces*

Species : *S. cerevisiae*

วงจรชีวิตมี 2 ช่วงซึ่งจะช่วยให้เชื้อรอดจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมและสามารถเจริญเติบโตได้ ช่วงที่มีวงจรชีวิตที่มีจำนวนชุดโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid) เป็นช่วงชีวิตแบบปกติที่มีการสืบพันธุ์แบบไมโตซิส (mitosis) แต่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมจะเป็นช่วงที่เชื้อมีวงจรชีวิตที่มีจำนวนชุดโครโมโซม 2 ชุด (diploid) ซึ่งจะมีการสร้างสปอร์ และแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิส (meiosis) ทำให้สปอร์ที่เกิดขึ้นมีจำรวนชุดโครโมโซม 1n และพร้อมที่จะผสมพันธุ์กันต่อไป

เชื้อยีสต์จัดอยู่ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ต้องการสารเคมีอินทรีย์ในการดำรงชีวิต (chemoorganotrophic organism) ใช้น้ำตาลกลูโคสได้ดีแต่ในธรรมชาติไม่มีกลูโคสในรูปอิสระ ทางโรงงานอุตสาหกรรมจึงมักใช้น้ำตาลมอลโตสและซูโครส โดยทั่วไป *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้ในน้ำตามอลโตส (maltose) และทรีฮาโลส (trehalose) อีกทั้งสามารถใช้น้ำตาลกาแล็คโตส (galactose) ฟรุกโตสในการหมักได้ดีที่สุด ความสามารถการเจริญในน้ำตาลขึ้นอยู่กับสภาวะเพาะเลี้ยงที่มีอากาศ (aerobically) หรือแบบไม่มีอากาศ (anaerobically)

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ (Walker, 1998)

1. อุณหภูมิ

เป็นปัจจัยหลักที่สำคัญในการเจริญของยีสต์ โดยในห้องปฏิบัติการจะเจริญได้ดีระหว่าง 20-30°C แต่ในธรรมชาติ *S. cererevisiae* จะมีอุณหภูมิสูงสุดที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ 35-45°C (T_{max}) และจะมีอุณหภูมิที่ต่ำที่สุดที่เหมาะสมในการเจริญที่ 20°C

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 14 ก.ย. 2554
242462
ทะเบียน.....
เรียกหนังสือ.....

2. น้ำ

เชื้อยีสต์มีความต้องการน้ำในปริมาณสูงสำหรับการเจริญและกระบวนการทำงานของเซลล์ สารอาหารและเอนไซม์จะอยู่ในรูปของสารละลาย *S. cerevisiae* จัดอยู่ในพวกเชื้อยีสต์ที่ไม่ทนต่อแรงดันออสโมติก (non-osmotolerant)

3. ค่า pH ของอาหาร

ช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อยีสต์จะอยู่ในช่วง 4.5-6.5 แต่ในช่วงที่มีความเป็นกรดมากกว่านี้จะส่งผลให้การเจริญของเชื้อยีสต์ลดลง และอาหารที่มีการเติมกรดอินทรีย์จะมีการยับยั้งมากกว่ากรดที่เป็นแร่ธาตุ เช่น กรดไฮโดรคลอริก และกรดฟอสฟอริก เนื่องจากกรดอินทรีย์ไม่สามารถแตกตัวได้เมื่อความเป็นกรดภายในเซลล์ต่ำกว่าภายนอก ทำให้สารอาหารไม่สามารถผ่าน plasma membrane ได้ ซึ่งเป็นหลักการขั้นพื้นฐานในการใช้กรดอ่อนในการยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ในอาหาร

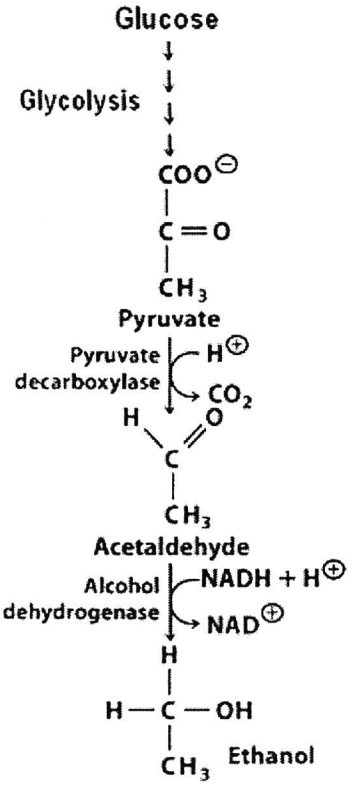
กระบวนการหมักของเชื้อยีสต์

น้ำตาลถือได้ว่าเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน กระบวนเมตาบอลิซึมน้ำตาลของเชื้อยีสต์จะมีทั้งกระบวนการหมัก การหายใจ และการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

การหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมลกุลของน้ำตาลกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล 2 โมเลกุล และคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล ดังสมการ

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

ก่อนการหมัก 1 โมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็น 2 โมเลกุลของไพรูเวท ที่เกิดขึ้นในขั้น glycolysis (ภาพ 7)



ภาพ 7 กระบวนการสังเคราะห์เอทานอล (วราวุฒิ, 2529)

กระบวนการไกลโคไลซิสเกิดในไซโตพลาสซึมของเชื้อยีสต์ เป็นขั้นตอนที่สร้างพลังงานให้เชื้อยีสต์พร้อมทั้ง precursor และยังลดพลังงานสำหรับการสังเคราะห์สารชีวเคมี โดยมีเอนไซม์ที่สำคัญคือ phosphofructokinase และ pyruvate kinase ซึ่งช่วยในการสร้าง ATP (Dawes, 1986) จะมีการใช้พลังงาน 2 ATP และสร้างพลังงานออกมา 4 ATP จะได้พลังงานเกิดขึ้น 2 ATP โดยมี NAD เป็นตัวรับอะตอมไฮโดรเจน (H^+) จากนั้น pyruvate จะถูกเปลี่ยนเป็น acetaldehyde ด้วยเอนไซม์ pyruvate decarboxylase และacetaldehyde เปลี่ยนเป็นเอทานอล ด้วยเอนไซม์ alcohol hydrogenase

ในการหมักเอทานอลเชื้อยีสต์มีความต้องการไนโตรเจน วิตามิน แร่ธาตุต่างๆในการเจริญเติบโตและช่วยในการผลิตเอทานอล ในกระบวนการผลิตไวน์ องุ่นในหลายๆชนิดเช่น chardonnay ปกติจะขาดไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อยีสต์ (Walker, 1998)

ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับ *Zymomonas* sp. (Holt *et al.*, 1994)

แบคทีเรีย *Zymomonas* sp. เป็นแกรมลบรูปแท่ง อยู่เป็นคู่ ยาวประมาณ 2-6 μm และกว้าง 1.0-1.4 μm ปกติไม่เคลื่อนที่ แต่ถ้าเคลื่อนที่จะมีการสร้าง polar flagella 1-4 เส้น มีการเจริญแบบทั้งใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน บางสายพันธุ์เป็น obigately anaerobe เป็น

chemoorganotrophic สามารถเจริญและหมักได้ในอาหารที่ความเข้มข้นของกลูโคสหรือฟรุกโตส 1 โมล ทำให้เกิดเอทานอลและเกิดกรดแลคติกบางส่วน บางสายพันธุ์สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้แต่แหล่งคาร์บอนชนิดอื่นจะไม่สามารถใช้ได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้ออยู่ที่ 25-30 °C ลักษณะโคโลนีมีลักษณะมันวาว ผิวเรียบ สีขาวถึงเหลืองอ่อน มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 mm เมื่อทดสอบเชื้อทางเคมีจะให้ผลลบใน oxidase test และผลบวกสำหรับ catalase test ไม่เกิดการย่อยเจลาติน ไม่สามารถใช้ nitrate และไม่เกิดการสร้างอินโดล ต้องการกรดอะมิโนหลายชนิดในการเจริญ แต่ไม่มีตัวไหนที่ต้องการเป็นพิเศษ เป็นเชื้อที่สามารถเกิดการปนเปื้อนได้ในเบียร์ น้ำผลไม้ และใช้เป็นเชื้อที่ใช้หมักในน้ำว่านหางจระเข้ น้ำตาล น้ำอ้อย และน้ำผึ้ง การจัดกลุ่มทางวิทยาศาสตร์ของ *Zymomonas* sp. ได้ดังนี้คือ

Kingdome : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Class : *Alpha Proteobacteria*

Order : *Sphingomonadales*

Family :*Sphingomonadaceae*

Genus : *Zymomonas*

มีรายงานว่า *Zymomonas mobilis* มีประโยชน์ในการผลิตและทนต่อเอทานอลได้ดีกว่า *Saccharomyces cerevisiae* เนื่องจาก *Zymomonas mobilis* มีความสามารถในการใช้น้ำตาลซูโครส กลูโคสและฟรุกโตสผ่านกระบวนการ Entner-Deudoroff parthway (E-D pathway) แต่มีส่วนที่เป็นปัญหาในการผลิตเอทานอลสำหรับวัตถุดิบจากภาคเกษตรกรรมคือ ไม่สามารถเปลี่ยนคาร์บอนโมเลกุลใหญ่เช่น เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) หรือแป้ง ให้เป็นเอทานอลได้ ทำให้มีการตัดต่อพันธุกรรมเพื่อใส่ยีนที่สามารถผลิต hydrolytic enzyme ในการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ให้เป็นน้ำตาล มีการใส่ยีน *pet* operon ที่ทำหน้าที่ผลิตเอทานอล เข้ากับยีน *pdc* ในการผลิตเอนไซม์ pyruvate decarboxylase และ *adhll* ในการผลิตเอนไซม์ alcohol dehydrogenase จาก *Zymomonas mobilis* เข้าสู่แบคทีเรียชนิดอื่นเพื่อให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ที่ปรับปรุงให้ดียิ่งขึ้นนอกจากนี้ในรายงานยังกล่าวว่า *Zymomonas mobilis* มีคุณสมบัติที่ดีในการผลิตเอทานอลเนื่องจากสามารถทนต่อความเข้มข้นเอทานอลที่สูงกว่าเชื้อยีสต์ เกิดชีวมวลต่ำ ไม่ต้องมีการเติมออกซิเจนในระหว่างการหมัก สามารถตัดต่อพันธุกรรมได้ ใช้ปริมาณน้ำตาล และให้ปริมาณ เอทานอลที่สูง

กระบวนการ Saccharification และ Fermentation

Zymomonas mobilis มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ carbohydrate hydrolase เพื่อใช้ในการย่อยสารตั้งต้นที่มีโมเลกุลซับซ้อน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการนี้คือ เอทานอล โดยกระบวนการ saccharification จะเกิดกระบวนการหมักตามมา (SSF: simultaneous saccharification and fermentation) มีรายงานการใช้ SSF ในการย่อยแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้ *Z. mobilis* และ *S. uvarum* ATCC 26602 พบว่า *Z. mobilis* มีกระบวนการหมักเสร็จสิ้นภายใน 20 ชั่วโมง เร็วกว่า *S. uvarum* ATCC 26602 ที่กระบวนการหมักเสร็จสิ้นที่ 33 ชั่วโมง และมีประสิทธิภาพในการหมักที่ดีกว่าที่ 95% (Poosaran *et al.*, 1985) มีการศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยข้าวฟ่างหวานโดยใช้การหมักแบบเชื้อผสมระหว่างเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *Z. mobilis* ได้ 29.7 g ethanol/ 100 g sorghum (Lezinou *et al.*, 1994) มีการทดสอบการใช้เอนไซม์เซลลูเลส ร่วมกับ *Z. mobilis* และ *S. cerevisiae* ในการย่อย กลูแคน (glucan) เป็นเวลา 3 วัน ได้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลมากกว่า 85% และได้ เอทานอล 10.1% (v/v) (Eklund and Zacchi, 1994) และ มีการใช้เชื้อ *Z. mobilis* ร่วมกับเอนไซม์ glucoamylase ในการผลิตเอทานอลจาก maltodextrin ได้เอทานอล 9.3% (v/v) (Agrawal and Basappa, 1996)

Potassium metabisulfite (KMS)

ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ที่มีคุณภาพจะต้องมีสุขลักษณะที่ดี ไม่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในการกำจัดดินและจุลินทรีย์จากอุปกรณ์ต้องตระหนักก่อนว่าไวน์เป็นอาหาร ไม่ควรใช้สารทำความสะอาดที่ไม่มีประสิทธิภาพหรือไม่สามารถกำจัดสิ่งปนเปื้อนได้ โดยทั่วไปจะใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ (potassium metabisulfite) (KMS) ความเข้มข้นโดยปริมาณ 200 mg/l หรือ 200 ppm และกรดซิตริก (citric acid) เพื่อทำการปรับค่าความเป็นกรดที่ 3.0 จะสามารถทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) นอกจากนั้นการทำความสะอาดด้วยไอน้ำ น้ำร้อน หรือน้ำสบู่ก็ให้ประสิทธิภาพที่ยังพอใช้ได้ แต่ถ้าเป็นภาชนะขนาดเล็กเช่นขวด หรือถังขนาดเล็กสามารถใช้น้ำร้อนแช่เพื่อทำการฆ่าเชื้อได้ (Lum, 1998)

โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ (Potassium metabisulfite) มีสูตรทางเคมีคือ $K_2S_2O_5$ มีลักษณะเป็นผงสีขาว เมื่อแตกตัวจะให้ซัลเฟอร์ เป็นสารเคมีที่ใช้เป็น antioxidant ช่วยป้องกันการเปลี่ยนสีและรสชาติในไวน์ได้ ใช้แทนโซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ (Sodium metabisulfite) ใส่ในอาหารเพื่อลดโซเดียมในอาหาร เมื่อแตกตัวจะได้โพแทสเซียมออกไซด์ และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ดังสมการ

$$K_2S_2O_5(s) \longrightarrow K_2O(s) + 2SO_2(g)$$

มีรายงานการใช้ KMS 100 ppm ในน้ำสับปะรดที่หมักเอทานอลด้วย *S. cerevisiae* และ *Williopsis saturnus* โดยใช้เป็นเชื้อผสมในอัตราส่วน 1:1000 โดยเปรียบเทียบการหมักกับ *S. cerevisiae* เพียงอย่างเดียว พบว่าเชื้อผสมได้ปริมาณเอทานอล และเอสเทอร์ ที่มากกว่า *S. cerevisiae* แบบเดียว (Lee *et al.*, 2010) มีการศึกษา KMS ปริมาณ 20 mg/l (200 ppm) ในการหมักไวน์ จากองุ่นขาวพันธุ์ *Parellada* โดย *S. cerevisiae* Na33 พบว่าการเติม KMS จะทำให้เกิด SO_2 ทำให้เพิ่มการใช้กรดอะมิโน และเพิ่มกลิ่นที่หอมกว่าการหมักที่ไม่เติม KMS (Teresa *et al.*, 2007) ในการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิการหมักไวน์องุ่นโดย *S. cerevisiae* มีปริมาณน้ำตาล 200 g/l (w/v) ฆ่าเชื้อด้วย KMS ความเข้มข้น 60 mg/l (600 ppm) โดยดูผลของอุณหภูมิตั้งแต่ 15-35°C พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ในทุกช่วงอุณหภูมิ แต่ที่อุณหภูมิ 35°C มีจำนวนเซลล์ที่ลดลง แต่มีปริมาณกลีเซอรอลมากขึ้น และที่อุณหภูมิต่ำมีการหมักเอทานอลที่ดีกว่าอุณหภูมิสูง (Ma *et al.*, 2003)

การผลิตเอทานอลจากของเหลือทิ้งทางการเกษตร

มีการนำน้ำเวย์ที่เหลือจากการผลิตเนยมาผลิตเป็นเอทานอลโดยใช้ยีสต์ *Kluyveromyces marxianus* UFV-3 พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาล lactose ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณเอทานอล ที่ปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลที่ 50 กรัมต่อลิตรหรือมากกว่า (Silveira *et al.*, 2005) มีรายงานการใช้ *S. cerevisiae* ร่วมกับเอนไซม์ β-galactosidase ผลิตเอทานอลจากน้ำเวย์เนย (Staniszewski *et al.*, 2007) มีการศึกษาการหมักเอทานอลใน simple fermentation medium พบว่าการเติมแป้งถั่วเหลือง ในอาหารทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์ *S. bayanus* พบว่าที่ความเข้มข้นของแป้งถั่วเหลือง 4% ในน้ำตาลกลูโคส 300 กรัมต่อลิตร หมักเป็นระยะเวลา 64 ชั่วโมง ได้จำนวนเซลล์มากที่สุดและได้เอทานอล 12.8% (v/v) (Cristina *et al.*, 1985) มีการศึกษาการผลิตเอทานอลจากกากกระดาษโดย *Zymomonas mobilis* NBRC 13756 พบว่าหลังการบ่ม 48 ชั่วโมงได้เอทานอล 18 g/l ที่ความเข้มข้นของกากกระดาษ 200 g/l (Yamashita *et al.*, 2008)

ประเทศไทยมีการผลิตเอทานอลจากอ้อยเพื่อใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิง โดยผสมแอลกอฮอล์ที่อัตราส่วนผสมต่างกัน ในเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่ต่างกัน ความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่ใช้จะต้องไม่น้อยกว่า 99.5% โดยปริมาตร ซึ่งสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ โดยประเทศไทยมีการนำเอทานอลผสมกับน้ำมันเบนซินเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง หรือที่เรียกกันว่า แก๊สโซฮอล์ การผลิตแก๊สโซฮอล์ในประเทศไทยเกิดจากแนวพระราชดำริของพระบาทสมเด็กพระเจ้าอยู่หัวเมื่อปี 2528 โดยโครงการส่วนพระองค์ได้ศึกษาการผลิตแก๊สโซฮอล์เพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน โดยผลิตเอทานอลจากอ้อย (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2552) มีการศึกษาการผลิต

เอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดย *S. cerevisiae* 5049 โดยย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) ที่ pH 6 อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและนำสารละลายมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์ amyloglucosidase ที่ pH 4 อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอล 2.28 g/l (จิรศักดิ์ และกัลยา, 2547) มีรายงานการผลิตเอทานอลจากกากชานอ้อย ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำตาล โดยทำการย่อยด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 190 °C เป็นเวลา 5 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมงและทำการหมักด้วย *S. cerevisiae* TMB 3400 เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 4.5 g/l (Carrasco *et al.*, 2009) นอกจากนั้นยังมีรายงานการใช้ฟางข้าวในการผลิตเอทานอล โดยแช่ฟางข้าวในสารละลายแอมโมเนีย หลังจากนั้นย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส และหมักด้วย *S. cerevisiae* ATCC 20062 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 12.7 g/l (Ko *et al.*, 2009)