บทที่ 2 ทฤษฎี

2.1 อ้อย [16]

อ้อยเป็นพืชตระกูลหญ้า เช่นเดียวกับ ข้าว ข้าวโพด และไม้ไผ่ แหล่งปลูกอ้อยของโลกอยู่ในประเทศแถบร้อนชื้น เช่น ประเทศบราซิล คิวบา ออสเตรเลีย อินเดีย ฟิลิปปินส์และไทย เป็นต้น สำหรับประเทศไทยส่วนใหญ่จะปลูกอ้อยสำหรับทำน้ำตาล มีส่วนน้อยที่ปลูกอ้อยเคี้ยว ซึ่งเป็นอ้อยประเภทที่ใช้บริโภคโดยตรง มีเปลือกและเนื้อนิ่มกว่าอ้อยที่ปลูกเพื่อทำน้ำตาล อ้อยเป็นพืชที่มีลำต้นแข็งแรง ตัน และมักจะตั้งตรง ลำต้นประกอบด้วยข้อและปล้องเช่นเดียวกับพืชตระกูลหญ้า ขนาด รูปร่าง และความยาวของปล้องแตกต่างกันตามพันธุ์และสภาพแวดล้อม ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ลำต้นอาจมีความยาวถึง 2-3 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 2.5-5.0 เซนติเมตร แต่ละปล้องมี 1 ตา เกิดที่ข้อสลับกันคนละข้างของลำต้น และทุกตาจะมีกาบใบหุ้มอยู่ ใบแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่โอบรอบลำต้นและหุ้มตาอยู่เรียกว่า กาบใบ และอีกส่วนหนึ่งเรียกว่า แผ่นใบ ทั้งสองส่วนแยกจากกันตรงกอใบ กาบใบสั้นกว่าแผ่นใบมาก ใบอ้อยมีลักษณะคล้ายใบข้าวแต่ใหญ่กว่ามาก ปลายใบแหลม ขอบใบเป็นจักคล้ายฟันเลื่อยคม มีประมาณ 8-12 ใบ

ใบอ้อยเป็นส่วนสำคัญที่ใช้ผลิตน้ำตาลเพราะสามารถสร้างน้ำตาลจากวัตถุดิบง่ายๆ คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศและน้ำจากดินโดยมีแสงแดดเป็นพลังงาน หรือที่เรียกว่า กระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นกระบวนการที่พืชสีเขียวเปลี่ยนพลังงานจากแสงแดดเป็นพลังงานเคมี ซึ่งอยู่ในรูปของน้ำตาลและแป้ง เป็นต้น ภายในใบอ้อยรวมทั้งพืชสีเขียวทั่วไป จะมีรงคสารสีเขียว ที่เรียกว่า คลอโรฟิลล์ อยู่มากมายทำให้ใบเป็นสีเขียวทั้งใบ ภายในใบมีช่องเปิดเล็กๆมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ทั้งด้านบนและด้านล่างของใบแต่ด้านล่างมีมากกว่า ช่องเปิดนี้เรียกว่า ปากใบทำหน้าที่ถ่ายเทอากาศและน้ำ กระบวนการสังเคราะห์แสงอาจจะแสดงให้เห็น ดังสมการ 2.1

$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow[\text{คลอโรฟิลล์}]{\text{แสงแดด}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O \qquad (2.1)$$

การสังเคราะห์แสงมิใช่เป็นกระบวนการง่ายๆ เช่นที่ปรากฏตามสมการข้างบน แต่เป็นกระบวนการที่ยุ่งยากสลับซับซ้อนประกอบด้วยปฏิกิริยา 2 ขั้นคือ ขั้นแรก เป็นการเปลี่ยนพลังงานแสงแดดซึ่งเป็นพลังงานที่ไม่สามารถเก็บได้โดยตรง ให้มาอยู่ในรูปสารเคมีที่ให้พลังงานสูงคือ NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) และ ATP (adenosine-5-triphosphate) ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นในขณะที่มีแสงเท่านั้น จึงเรียกว่าปฏิกิริยาต้องการแสง (light reaction) ขั้นที่สอง เป็นการนำ

พลังงานที่ได้จากขั้นแรกมาใช้ในการตรึงก๊าซ CO_2 จากอากาศที่เข้าไปในใบทางปากใบและ CO_2 จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบหลายอย่างด้วยการช่วยเหลือของเอนไซม์หลายชนิดซึ่งทำหน้าที่โดยเฉพาะเจาะจงจนกระทั่งได้เป็นน้ำตาล

แหล่งปลูกอ้อยสำหรับผลิตน้ำตาลในประเทศไทย มีอยู่ทุกภาคยกเว้นภาคใต้ ทั้งนี้เพราะสภาพอากาศภาคใต้ไม่เหมาะแก่การปลูกอ้อย กล่าวคือมีฝนตกชุก และมีอากาศร้อนตลอดปี ซึ่งสภาพดังกล่าวทำให้อ้อยมีความหวานน้อย นอกจากนี้อาจจะเป็นเพราะภาคใต้มีพืชอื่นๆที่ให้ผลผลิตดีกว่า เช่น ยางพารา ปาล์ม และกาแฟ เป็นต้น ในปี 2552/53 มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยทั้งประเทศ (ในเขตพื้นที่สำรวจรวม 47 จังหวัด) จำนวน 7.13 ล้านไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกอ้อยส่งโรงงาน 6.74 ล้านไร่ และพื้นที่ปลูกอ้อยทำพันธุ์ 3.9 แสนไร่ โดยมีพื้นที่เพิ่มขึ้นจากปีการผลิต 2551/52 จำนวน 0.29 ล้านไร่หรือร้อยละ 4.3 ซึ่งแสดงรายละเอียดดังตารางที่ 2.1 [17]

ตารางที่ 2.1 ปริมาณการปลูกอ้อยทั่วประเทศปีการเพาะปลูก 2552/53

ภาค	ปริมาณอ้อยส่งโรงงาน (ตัน)			ปริมาณน้ำตาลทราย (ตัน)
	อ้อยสด	อ้อยไฟไหม้	รวม	
เหนือ	5,016,911	14,151,142	19,168,054	1,935,687
กลาง	8,507,554	13,467,601	21,975,155	2,166,462
ตะวันออกเฉียงเหนือ	10,009,398	13,791,432	23,800,831	2,475,672
ตะวันออก	1,183,482	2,357,775	3,541,257	350,891
ทั้งประเทศ	24,717,347	43,767,952	68,485,299	6,928,713

ภาคเหนือ เพาะปลูกอ้อย จำนวน 10 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดลำปาง ตาก แพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก กำแพงเพชร พิจิตร นครสวรรค์ และเพชรบูรณ์ มีพื้นที่ปลูกอ้อย 1.47 ล้านไร่(1,479,661 ไร่) เพิ่มขึ้นจากปีการผลิต 2551/52 จำนวน 0.13 ล้านไร่ (136,286 ไร่) หรือร้อยละ 10.15 เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงพื้นที่เพาะปลูกเดิมที่เป็น ข้าว ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และมันสำปะหลัง เป็นอ้อยในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร และพิษณุโลก

ภาคกลาง เพาะปลูกอ้อย จำนวน 12 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุทัยธานี ชัยนาท สิงห์บุรี ลพบุรี สระบุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ มีพื้นที่ปลูกอ้อยทั้งหมด 2.35 ล้านไร่ (2,351,094 ไร่) เพิ่มขึ้น 0.09 ล้านไร่ (91,421 ไร่) หรือร้อยละ 4.05 โดยพื้นที่ที่มี

การเพาะปลูกอ้อยเพิ่มขึ้นได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี มีการปลูกอ้อยแทนมันสำปะหลัง และข้าวนาปี จังหวัดกาญจนบุรี สระบุรี ปลูกอ้อยแทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และมันสำปะหลัง จังหวัดลพบุรี ปลูกอ้อยแทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และดอกทานตะวัน หลังจากเกษตรกรพักหน้าดินมา 1-2 ปี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ปลูกอ้อยเพิ่มขึ้นในพื้นที่สับปะรด

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพาะปลูกอ้อยจำนวน 19 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเลย หนองบัวลำภู อุดรธานี หนองคาย สกลนคร นครพนม ชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด กาฬสินธุ์ มุกดาหาร อำนาจเจริญ ยโสธร นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี มีพื้นที่ปลูกอ้อยทั้งหมด 2.84 ล้านไร่ (2,849,690 ไร่) เพิ่มขึ้น 0.07 ล้านไร่ (75,756 ไร่) หรือร้อยละ 2.75 โดยมีการเพาะปลูกอ้อยเพิ่มขึ้นใน พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังเดิม ได้แก่ จังหวัดมหาสารคาม บุรีรัมย์ อุดรธานี กาฬสินธุ์ หนองบัวลำภู และเลย

ภาคตะวันออก ประกอบด้วยพื้นที่เพาะปลูกอ้อยจำนวน 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดปราจีนบุรี สระแก้ว ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง และจันทบุรี มีพื้นที่ปลูกอ้อยทั้งหมด 0.45 ล้านไร่ (454,401 ไร่) ลดลงจากปี 2551/52 จำนวน 5,642 ไร่ หรือร้อยละ 1.23 โดยมีการเปลี่ยนแปลงพื้นที่เพาะปลูกเป็นยางพารา ปาล์มน้ำมัน จังหวัดที่มีการเปลี่ยนแปลงมากได้แก่ จังหวัดฉะเชิงเทรา และชลบุรี ทั้งนี้มีสาเหตุเนื่องจากประสบปัญหาขาดแคลนแรงงานเก็บเกี่ยว และการย้ายโรงงานน้ำตาล

น้ำตาลส่วนใหญ่ที่ผลิตได้ในประเทศไทยคือน้ำตาลทรายซึ่งใช้อ้อยเป็นวัตถุดิบ นอกจากจะใช้บริโภคแล้ว น้ำตาลทรายยังเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศปีละหลายพันล้านบาทอีกด้วย จึงกล่าวได้ว่าอ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศไทย

ส่วนประกอบทางเคมีของอ้อยพบว่าขณะที่อ้อยยังเล็กอยู่ ยังไม่มีการยืดยาวของลำต้นจะมีซูโครสปริมาณต่ำมากจนเกือบไม่มีเลย แต่เมื่อมีการยืดยาวของลำต้นจะมีการสะสมของซูโครสจนกระทั่งอ้อยโตเต็มที่จึงพบว่ามีส่วนประกอบของเส้นใย น้ำอ้อย และเกลือแร่จำพวกซิลิกาอยู่ปริมาณเล็กน้อย ผิวด้านนอกถูกเคลือบด้วยไข ส่วนพวกเม็ดแป้งนั้นพบได้น้อยมากในส่วนของลำต้น ส่วนที่พบมากในลำต้นคือ น้ำอ้อยประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอ้อยทั้งหมดซึ่งในส่วนนี้มีซูโครสที่สามารถละลายน้ำได้เป็นส่วนใหญ่ และมีกลูโคส ฟรุกโทส เกลือแร่ และกรดอินทรีย์อิสระต่างๆ โดยแสดงรายละเอียดดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบต่างๆ ของน้ำอ้อย

องค์ประกอบ	สัดส่วน(%)
น้ำตาลอ้อย	
ซูโครส	70-88
กลูโคส	2-4
ฟรุกโทส	2-4
เกลือ	
เกลือของกรดอนินทรีย์	1.5-4.5
เกลือของกรดอินทรีย์	1.0-3.0
กรดอินทรีย์อิสระ	
กรดคาร์บอลิก	0.1-0.5
กรดอะมิโน	0.5-2.0
สารอื่นที่ไม่ใช้น้ำตาล	
โปรตีน	0.5-0.6
แป้ง	0.001-0.05
ยาง	0.3-0.6
ไขและขี้ผึ้ง	0.05-0.15
สารอื่นไม่แน่ชัด	3.0-5.0

2.2 กากน้ำตาล [5, 18]

ในการผลิตเอทานอลทั้งที่เป็นเครื่องดื่ม และเชื้อเพลิง มักนิยมใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ เนื่องจากกระบวนการหมักสามารถดำเนินการได้ง่าย ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลแล้วเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้เลย กากน้ำตาลที่พบโดยทั่วไปแบ่งเป็นสองชนิดตามแหล่งที่มาคือ กากน้ำตาลอ้อย (sugar cane molasses) และกากน้ำตาลบีท (beet molasses) การเลือกใช้กากน้ำตาลชนิดใดเป็นวัตถุดิบนั้น ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศของแต่ละประเทศ

เนื่องจากกากน้ำตาล (Molasses) เป็นของเหลวที่มีลักษณะข้นเหนียวสีน้ำตาลดำ เป็นผลพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย เนื่องจากกรรมวิธีการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยนั้น เริ่มจากการนำอ้อยเข้าหีบได้น้ำอ้อย กรองเอากากออกจากน้ำอ้อย แล้วเคี่ยวน้ำอ้อยจนได้ผลึกของน้ำตาลทรายตกตะกอนออกมา แยกผลึกน้ำตาลทรายออกจากกากน้ำตาลด้วยหม้อปั่น (Centrifuge) ผลพลอยได้ที่สำคัญจากการผลิตน้ำตาลทรายด้วยวิธีนี้ได้แก่ กากน้ำตาล ขี้ตะกอน (Filter cake) และกากอ้อย (Bagasses) กากน้ำตาลเป็นผลพลอยได้ที่มีคุณค่ามากที่สุด ซึ่งเป็นส่วนของของเหลวที่เหลือหลังจากการแยกเอาผลึกของน้ำตาลออกแล้วมีลักษณะเหนียวข้น สีน้ำตาลเข้ม กากน้ำตาลต่างชนิดกันจะมีองค์ประกอบและคุณสมบัติต่างกัน ความแตกต่างนี้แม้ในกากน้ำตาลชนิดเดียวกันก็ยังต่างกันอีกด้วย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับท้องถิ่นที่ทำการผลิต กรรมวิธีของโรงงาน ฤดูกาล และสภาพการเก็บเกี่ยว ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลจะใช้ black strap molasses เป็นหลัก ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลซูโครส และมี growth factor ต่างๆมากกว่า refinery molasses โดยทั่วไปแล้วกากน้ำตาลเป็น residual syrup ที่ไม่สามารถตกผลึกน้ำตาลโดยกรรมวิธีง่ายๆได้อีก ซึ่งในการผลิตน้ำตาลทรายนั้นจะมีกากน้ำตาลเป็น ผลพลอยได้เกิดขึ้นประมาณ 4-6 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอ้อยที่ใช้ในการผลิต

กากน้ำตาลสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด ตามกรรมวิธีใน การผลิตน้ำตาลทราย คือ

1. กากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาว (Plantation white sugar) ซึ่งเราเรียกว่า Black strap molasses จะมีปริมาณน้ำตาลอยู่ประมาณ 50–60 เปอร์เซ็นต์
2. กากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (Refine sugar) ซึ่งเราเรียกว่า Refinery molasses จะมีปริมาณน้ำตาลอยู่ประมาณ 48 เปอร์เซ็นต์
3. กากน้ำตาลที่ได้จากการทำบางส่วนของน้ำอ้อยแปรสภาพให้เข้มข้นโดยการระเหย (Inverted can juice) ซึ่งเราเรียกว่า Invert molasses หรือ Hightest molasses วิธีนี้เป็นการผลิตกากน้ำตาลโดยตรง มีน้ำตาลอยู่ประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์

กากน้ำตาลมีองค์ประกอบซับซ้อนดังแสดงในตาราง 2.3 ค่าที่ได้เป็นค่าที่พบในกากน้ำตาลของหลายประเทศที่มีการผลิตน้ำตาล ความถ่วงจำเพาะของกากน้ำตาลมีค่าเท่ากับ 1.39-1.49 องค์ประกอบหลักของกากน้ำตาล คือ คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโทส กากน้ำตาลบีทจะมีน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสในปริมาณน้อย แต่จะมีน้ำตาลราฟฟิโนสเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งต่างจากกากน้ำตาลอ้อย กากน้ำตาลอ้อยและกากน้ำตาลบีทมีส่วนที่เป็นสารประกอบอนินทรีย์ในปริมาณสูง มีวิตามินและสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญ (growth factor) ในปริมาณที่แตกต่างกัน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

สารประกอบไนโตรเจน และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆอีกหลายชนิดยังนับเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญ เช่น chlorogenic และ caffeic acids, uronic acids, sugar alcohol organic acids, amino acids, nucleotides, sterols, tannins, plant pigments gums, waxes และ lipids ดังแสดงในตารางที่ 2.4 โดยเฉพาะกากน้ำตาลบีทจะมีสารประกอบพวก non-amino acid nitrogen-containing substances อยู่ในปริมาณสูง เช่น betaine และ polyamine ชนิดต่างๆ การนำกากน้ำตาลที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลมักจะเกิดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นเช่น osmophilic yeast หรือจุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักเอทานอล ซึ่งสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีปริมาณ dry matter มากกว่า 65 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และในบางครั้งสามารถพบสปอร์ของราและแบคทีเรียในกากน้ำตาลที่เก็บรักษาในถังเก็บที่มีช่องว่างระหว่างระดับของกากน้ำตาลกับฝาถังเก็บ ที่จะมีการกลั่นตัวของไอน้ำในอากาศที่อยู่ระหว่างช่องว่างนี้ ส่งผลให้บริเวณผิวของกากน้ำตาลมีความเข้มข้นลดลงเนื่องจากไอน้ำกลั่นตัวมาเจือจางทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ [19]

แต่อย่างไรก็ตามในการหมักเอทานอลด้วยการใช้กากน้ำตาล กระบวนการหมักบางส่วนอาจถูกยับยั้ง ทำให้ผลิตเอทานอลได้น้อยลง อันเนื่องมาจากกากน้ำตาลมีเกลืออนินทรีย์ต่างๆ มากมายและเกิดการหมักที่ทำ ให้ได้สารจำพวก by-product อื่นๆ เช่น glycerol 2,3-butanediol, acetoin, acetaldehyde, volatile acid เป็นต้น นอกจากนี้ในกากน้ำตาลยังมีสารที่ยับยั้งการเจริญของยีสต์ เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งเกิดจากการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในกระบวนการผลิตน้ำตาล และสารประกอบพวก hydroxyl methylfurfural เกิดจากในการผลิตน้ำตาลซึ่งมีความร้อนและความเป็นกรดสูงจะทำให้น้ำตาลควบแน่นกับกรดอะมิโนเกิด hydroxyl methylfurfural ขึ้นมา โดยพบว่าสารประกอบกลุ่มนี้มีผลยับยั้งไกลโคไลติกเอนไซม์ (glycolytic enzyme) และมีผลต่อเอนไซม์อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde dehydrogenase) ทำให้เกิดการสะสมของอะซิตัลดีไฮด์ ซึ่งกระทบต่อการเจริญช่วง lag phase ของ *S. cerevisiae*

จากข้อมูลจะเห็นได้ว่ากากน้ำตาลมีประโยชน์อยู่มากมาย เนื่องจากในกากน้ำตาลประกอบด้วยน้ำตาลและแร่ธาตุต่างๆ ที่เป็นประโยชน์โดยตรง สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ และการหมักเอทานอลเนื่องจากกากน้ำตาลประกอบด้วยน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ซึ่งเป็นแหล่งอาหาร พลังงานที่เหมาะสมและราคาไม่แพง จึงมีการใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์หลายชนิด ใช้เป็นปุ๋ย เพราะในกากน้ำตาลมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญสำหรับพืช นอกจากนี้กากน้ำตาลยังใช้เป็นวัตถุดิบใน อุตสาหกรรมการหมักหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมการหมักแอลกอฮอล์ สุรา กรดมะนาว กรดน้ำส้ม กรดแล็กติก ผงชูรส ยีสต์ขนมปัง และยีสต์อาหารสัตว์ เนื่องจากกากน้ำตาลมีราคาถูกและเหมาะสมกว่าเมื่อเทียบกับวัตถุดิบชนิดอื่นๆ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ - 3 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน 246184
เลขเรียกหนังสือ

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบต่างๆ ของกากน้ำตาล

Carbohydrates	Percentage values (%)				
	Solids	Sugars	Sucrose	Invert	Raffinose
Blackstrap	80-86	50-65	30-40	10-25	-
Beet	76-85	48-58	47-55	0.2-2.0	0.2-2.0
Refinery	76-84	50-58	32-42	14-20	-
High test	82-86	72-75	-	72-75	-

Vitamins	Percentage values (mg/kg)	
	Cane	Beet
Biotin	3	0.4
Folic acids	0.04	0.2
Inositol	6000	8000
Pantothenate	55	100
Pyridoxin	3	5
Riboflavin	3	0.4
Thaiamine	2	1.3
Nicotinic acid	800	45
Choline	600	400

Minerals	Percentage values (%)	
	Cane	Molasses
Sodium	0.1-0.4	0.3-0.7
Potassium	1.5-5.0	2-7
Calcium	0.4-0.8	0.1-0.5
Chlroide	0.7-3.0	0.5-1.5
Phosphorus	0.03-0.1	0.02-0.1
Sulphur	0.3-0.8	0.15-0.5

ตารางที่ 2.4 สารประกอบไนโตรเจนต่างๆ ที่พบในกากน้ำตาล

Nitrogenous compounds	Usual range (%)	Indicative average express(%)
Nitrogenous compounds	2.5-4.5	4.0
Crude proteins	0.3-0.5	0.5
Amino acids	mg / g molasses	
Alanine	0.02-0.2	
r-Aminobutyric acid	0.06-0.08	
Aspatic acid	0.9-1.65	
Glutamic acid	1.02-1.04	
Glycerine	0.06-0.07	
Leucine	0.03-0.05	
Lysine	0.05-0.07	
Serine	0.39-0.8	
Threonine	0.3-0.9	
Valine	0.11-0.2	

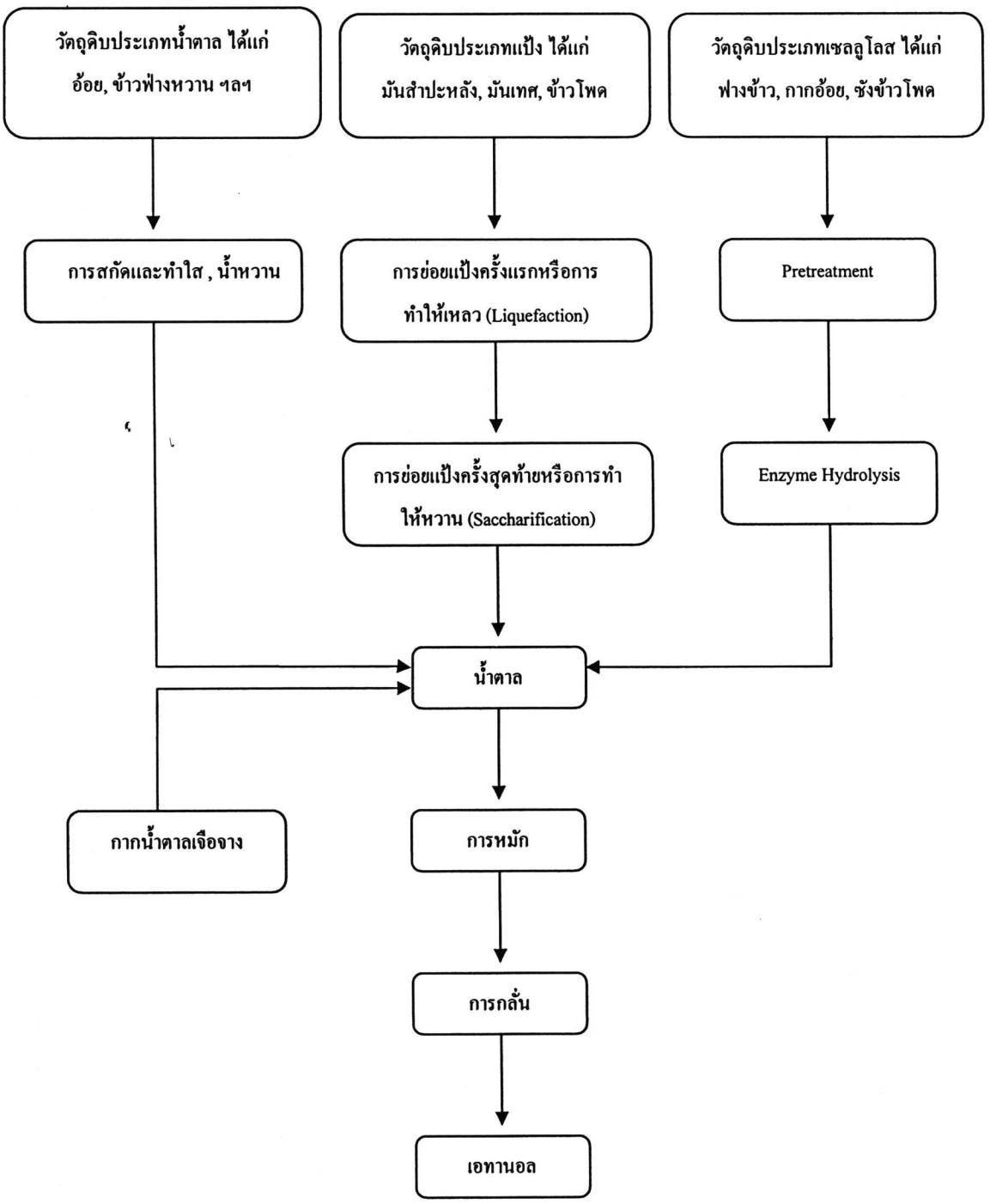
2.3 เอทานอล [2]

เอทานอล (Ethanol) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารประกอบในกลุ่มแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เอทานอลเป็นแอลกอฮอล์ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้บริโภค (Beverage alcohol) และใช้เป็นเชื้อเพลิง (Fuel alcohol) เอทานอลที่บริโภคจะต้องเป็นแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักด้วยกระบวนการทางธรรมชาติ ไม่ใช่กระบวนการสังเคราะห์ ปัจจุบันจึงมีกฎหมายบังคับให้การผลิตเอทานอลเพื่อเป็นเชื้อเพลิงต้องมาจากการผลิตจากธรรมชาติด้วย โดยนำเอทานอลมาใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงได้ 3 รูปแบบ ได้แก่

1. ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงเพื่อทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล
2. ใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ (Gasohol) หรือผสมกับน้ำมันดีเซล เรียกว่า ดีโซฮอล์ (Diesohol)
3. ใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนของน้ำมันให้กับเครื่องยนต์ ได้แก่ Ethyl Tertiary Butyl Ether (ETBE)

การใช้เอทานอลเป็นแหล่งพลังงานทดแทน [20] ในปัจจุบันน้ำมันยังคงเป็นแหล่งพลังงานหลักของโลก มักจะประสบปัญหาด้านราคาเพิ่มขึ้น ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ต้องนำเข้าน้ำมันมาจากต่างประเทศโดยเฉพาะอย่างยิ่งจาก กลุ่มประเทศโอเปค (OPEC) ทุกครั้งที่เกิดวิกฤตการณ์น้ำมัน ประเทศไทยจะได้รับผลกระทบทางเศรษฐกิจจากการขึ้นราคาน้ำมันเชื้อเพลิง การใช้เอทานอลเป็นส่วนผสมเชื้อเพลิงในรถยนต์จะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ถูกนำมาพิจารณาเพื่อแก้ปัญหาด้านพลังงาน การผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมเพื่อนำเอทานอลไปใช้เป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันจึงได้รับความสนใจมากขึ้น โดยมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อลดต้นทุนในการผลิต การพัฒนากระบวนการหมัก และการเลือกวัตถุดิบที่มีราคาถูก เช่น หัวมันสำปะหลังมันเส้น แป้งมันสำปะหลัง อ้อย และกากน้ำตาล เป็นต้น

เอทานอลสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ น้ำตาล แป้ง และเซลลูโลส เป็นต้น วัตถุดิบหรือพืชที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักได้แก่ อ้อย ข้าวฟ่างหวาน สามารถนำมาใช้ผลิตเอทานอลโดยการหมักด้วยยีสต์ได้โดยตรง ส่วนพืชที่มีแป้งและเซลลูโลสจะต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนแป้งและเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลก่อนที่จะนำเข้าสู่กระบวนการหมัก ดังรูปที่ 2.1 แสดงการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบทางการเกษตร ในการผลิตเอทานอลจากพืชที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักจะต้องมีขั้นตอนหลัก 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนที่หนึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในขั้นตอนนี้จะต้องย่อยแป้งสองครั้งคือ การย่อยครั้งแรกหรือการทำให้เหลว (Liquefaction) และการย่อยแป้งเหลวครั้งสุดท้ายเป็นน้ำตาลหรือการทำให้หวาน (Saccharification) การย่อยครั้งแรกนี้เป็นการทำให้แป้งเหลวโดยใช้เอนไซม์ในกลุ่มแอลฟาอะมิเลส (α-amylase) ซึ่งโดยทั่วไปเอนไซม์กลุ่มนี้จะเกิดกิจกรรมได้ดีที่อุณหภูมิสูงโดยประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส การย่อยในขั้นตอนนี้จะมีการเปลี่ยนแป้งให้เป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลงได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่าเด็กซ์ตริน (dextrin) จากนั้นจะเป็นการย่อยแป้งครั้งสุดท้ายหรือเป็นการย่อยเพื่อทำให้แป้งโมเลกุลเล็กเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่มีความหวานมากขึ้น ในขั้นตอนนี้ จะใช้เอนไซม์ในกลุ่มกลูโคอะมิเลส (Glucoamylase) โดยจะเกิดกิจกรรมได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 60-65 องศาเซลเซียส จากนั้นเมื่อผ่านขั้นตอนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลแล้ว จะเข้าสู่ขั้นตอนที่สอง คือ ขั้นตอนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ (*S. cerevisiae*) โดยเชื้อยีสต์จะใช้น้ำตาลกลูโคสที่ย่อยได้เปลี่ยนเป็น เอทานอล อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักคือ 30-35 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ประมาณ 48-72 ชั่วโมง ซึ่งโดยรวมแล้วทั้งสองขั้นตอนหลักจะใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน จึงจะสามารถผลิตเอทานอลได้อย่างสมบูรณ์ ความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักที่ได้จะมีค่าประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งจะต้องนำน้ำหมักที่ได้ไปกลั่นต่อเพื่อกำจัดน้ำออกและทำให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์สูง (ร้อยละ 99.5)



รูปที่ 2.1 การผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบทางการเกษตร

การผลิตเอทานอลจากพืชที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ จำเป็นต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบ (pretreatment) ก่อนที่จะได้เซลลูโลสแบ่งออกได้เป็นสามประเภทใหญ่ๆ คือ การปรับสภาพด้วยวิธีเชิงกล วิธีทางเคมี และทางชีวภาพ จากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการย่อยเซลลูโลส (hydrolysis) กระบวนการนี้เป็นการเปลี่ยนเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส โดยใช้กรด ด่าง หรือเอนไซม์เซลลูเลสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ถ้าวัตถุดิบผ่านการปรับสภาพแล้วจะได้น้ำตาลมากกว่า 90% เมื่อเทียบกับการไม่ปรับสภาพจะให้น้ำตาลเพียง 20% หลังจากได้น้ำตาลกลูโคส จึงเข้าสู่ขั้นตอนการหมักเอทานอลเช่นเดียวกับการผลิตเอทานอลจากพืชประเภท น้ำตาล และ แป้ง

2.4 ยีสต์

ยีสต์ เป็นราชนิดหนึ่งที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ (budding) หรือแบ่งตัว (fission) เนื่องจากเป็นพืชเซลล์เดี่ยวจึงเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ได้เร็วกว่าเชื้อราที่เป็นเส้นสาย และมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ดีกว่า เนื่องจากมีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงกว่า ยีสต์แตกต่างจากสาหร่ายเพราะไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ ไม่เหมือนโพรโตซัวเพราะมีผนังเซลล์ที่แข็งแรง นอกจากนี้ยังแตกต่างไปจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ เพราะมีขนาดใหญ่กว่าและสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันด้วย โดยทั่วไปขนาดเซลล์ยีสต์ใหญ่กว่าแบคทีเรีย ขนาดของยีสต์แตกต่างกันตั้งแต่ความกว้าง 1-5 ไมโครเมตรและความยาว 5-30 ไมโครเมตรหรือมากกว่า มักมีลักษณะเป็นรูปไข่แต่บางชนิดมีรูปร่างยาวและบางชนิดเป็นทรงกลม ยีสต์แต่ละชนิดจะมีรูปร่างเฉพาะ แม้จะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ก็ยังมีความแตกต่างที่ขนาดและรูปร่างของแต่ละเซลล์ ซึ่งขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม ยีสต์ไม่มีแฟลกเจลลาหรืออวัยวะอื่นในการเคลื่อนที่ ยีสต์ได้รับไนโตรเจนจากสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์จำพวกไนโตรเจน เพื่อนำไปสร้างโปรตีน ยีสต์ส่วนใหญ่สามารถใช้แอมโมเนียไอออนได้ ยีสต์ต้องการซัลเฟอร์เพื่อการเจริญซึ่งอาจอยู่ในรูปซัลเฟต หรือสารอินทรีย์ซัลเฟอร์

ยีสต์สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 0-47 องศาเซลเซียส บางชนิดจะไม่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส ในขณะที่บางชนิดจะไม่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส ยีสต์ที่ก่อให้เกิดโรคจะเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปยีสต์เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่มีความเป็นกรดระหว่าง pH 3.5-3.8 ซึ่งจะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่ [21]

การคัดเลือกเชื้อยีสต์สำหรับการหมักเอทานอลในอุตสาหกรรมการหมักจะขึ้นกับชนิดของอาหารหรือคาร์โบไฮเดรต โดยทั่วไปการหมักเอทานอลจากน้ำตาลมักจะเหมาะกับเชื้อยีสต์พวก *Saccharomyces* เช่น *S. cerevisiae, S. ellipsoideus, S. uvarum(carlsbergensis)* นอกจากนั้นยังมีการศึกษาเชื้อตัวอื่นๆ

เช่น *Candida pseudotropicalis* สามารถหมักเอทานอลจากน้ำตาลแลคโตสได้ เชื้อ *C. utilis* ใช้หมักน้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ เนื่องจากเชื้อนี้สามารถใช้น้ำตาลเพนโตสได้ เชื้อ *Pachysolen tannophilus* และ *Pichia stiptis* สามารถใช้น้ำตาลไซโลสในการหมักเอทานอล [22] ยีสต์เหล่านี้มีความสามารถในการหมักน้ำตาลชนิดต่างๆ แต่เนื่องจาก *S. cerevisiae* เป็นยีสต์ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่ายีสต์ชนิดอื่น และเป็นยีสต์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการหมักน้ำตาลกลูโคส เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกจนเป็นที่ยอมรับในอุตสาหกรรมการหมัก คุณสมบัติที่ดีคือสามารถเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสสูง มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถหมักน้ำตาลอื่นๆได้ เช่น ฟรุกโทส แมนโนส ซูโครส และมอลโทส เป็นต้น [23]

2.4.1 การผลิตเอทานอลโดยยีสต์

กระบวนการผลิตเอทานอลเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในเซลล์จุลินทรีย์ โดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจน หรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย ให้เป็นเอทานอล ซึ่งจุลินทรีย์จะสามารถให้พลังงานจากกระบวนการการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล

ยีสต์สามารถทำการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้โดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ผลผลิตที่ได้จะเป็นเอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และพลังงานในรูป ATP ซึ่ง ATP ที่ได้จะมีจำนวนน้อยกว่าที่ได้ในสภาพที่มีออกซิเจน

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + CO_2 + (2ATP) \qquad (2.2)$$

ในสภาพที่มีออกซิเจน ยีสต์จะใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อผลิตน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ และพลังงานในรูป ATP ซึ่งเรียกสภาวะนี้ว่าการหายใจ (respiration) ซึ่งยีสต์จะขยายเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างมาก

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 6H_2O + 6CO_2 + (38\ ATP) \qquad (2.3)$$

โดยทั่วไปยีสต์สามารถใช้น้ำตาลเฮกโซส (hexose) ทั้งในรูปเชิงเดี่ยวและเชิงซ้อน เช่น กลูโคส (glucose) ฟรุกโทส (fructose) กาแลคโตส (galactose) แมนโนส (mannose) ซูโครส (sucrose) และแรฟฟิโนส (raffinose) เป็นต้น ยีสต์ที่ใช้น้ำตาลเหล่านี้ได้แก่ *S. cerevisiae, S. uvarum , Kluveromyces fragilis* และยีสต์บางชนิด เช่น *Candida utilis* สามารถใช้น้ำตาลเพนโตส (pentose) เช่น ไซโลส

(xylose) ส่วนแป้งและ เซลลูโลส (cellulose) ยีสต์ไม่สามารถใช้ได้โดยตรง นอกจากจะต้องทำการย่อยเป็นน้ำตาลเสียก่อนโดยใช้กรดหรือเอนไซม์เป็นตัวช่วย ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่เป็นแหล่งสะสมน้ำตาลจะใช้สายพันธุ์ *Saccharomyces* และ *Schizosaccharomyces* ซึ่งยีสต์พวกนี้จะให้เอทานอลในปริมาณสูง

2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักเอทานอล

ปัจจัยต่างๆ ที่สำคัญในการหมักเอทานอล ได้แก่ ความเข้มข้นของซับสเตรต ความเข้มข้นของเอทานอล ธาตุอาหาร อุณหภูมิ ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และความเป็นกรดด่าง ปัจจัยเหล่านี้มีผลเกี่ยวเนื่องกันในกระบวนการหมัก ในการหมักให้มีประสิทธิภาพนั้นจำเป็นต้องควบคุมสภาวะในการหมักให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด [24]

ความเข้มข้นของน้ำตาล มีผลต่อการหมัดเอทานอลคือ ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกินขีดจำกัด (22 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จะเกิดการรบกวนการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำให้เจริญเติบโตได้ยาก ดังนั้นการหมักจะเป็นไปอย่างเชื่องช้า และไม่สมบูรณ์ ซึ่งเกิดจากการยับยั้งของแรงดันออสโมซิส ซึ่งเซลล์ของยีสต์จะเกิด พลาสโมซิส โดยปกติแล้วกระบวนการหมักจะใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลไม่เกิน 18 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นอกจากนี้ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกินยังส่งผลให้มีน้ำตาลเหลือทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ และเป็นปัญหาต่อการกำจัดน้ำเสียอีกด้วย หากเป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ เช่น กลูโคส และ ฟรุกโทส อัตราการหมักจะเกิดได้รวดเร็วกว่าพวกที่มีโมเลกุลใหญ่ๆ เช่น ซูโครส และ มอลโตส เพราะยีสต์สามารถนำน้ำตาลโมเลกุลเล็กไปใช้ได้ทันที [25, 26]

ความเข้มข้นของเอทานอล มีขีดจำกัดของความเข้มข้นเอทานอลอยู่ที่ ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร (ขีดจำกัดนี้อาจสูงหรือต่ำกว่านี้ขึ้นกับชนิดของยีสต์ แต่เท่าที่พบจะสูงไม่เกิน 18 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาณของเอทานอลที่สูงจะส่งผลยับยั้งการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ และโปรตีน ซึ่งผลนี้จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง ในขณะที่เซลล์ยีสต์บางส่วนตายซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาที่เอทานอลทำให้โปรตีนเซลล์เสื่อมสภาพ จะทำให้การหมักจะหยุดชะงักแม้จะยังคงมีน้ำตาลเหลืออยู่ในน้ำส่าปริมาณเท่าใดก็ตาม ระดับการยับยั้งจะสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมอื่น โดยเฉพาะเมื่อมีน้ำตาลความเข้มข้นสูงและอุณหภูมิสูงทำให้การยับยั้งรุนแรงขึ้น

ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์ ไม่ว่าจะเป็นการเตรียมกล้าเชื้อ (inoculum) หรือ media สำหรับการหมักจะคล้ายกัน เพียงแต่ว่าในการเตรียมกล้าเชื้อนั้นจะต้องให้ความสมบูรณ์ของธาตุอาหารเป็นพิเศษ เนื่องจากมีความต้องการให้ได้จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นมากและรวดเร็ว สำหรับการใช้

media เพื่อการหมักนั้น ธาตุอาหารต่างๆ จะมีอยู่ใน media แล้วยีสต์ต้องการธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารหลักได้แก่ สารประกอบคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส สำหรับธาตุอาหารรอง ได้แก่ แคลเซียม โปแตสเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟอร์ ซึ่งมีความต้องการในปริมาณที่น้อย แต่จำเป็นและขาดไม่ได้ [27]

แหล่งคาร์บอน ส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักเอทานอล คือน้ำตาลที่ได้จากวัตถุดิบต่าง ๆ เช่น กากน้ำตาล น้ำอ้อย ข้าวฟ่างหวาน หัวบีท (sugar beet) และสารคาร์โบไฮเดรตที่เป็นวัตถุดิบจำพวกแป้งต่างๆ เช่น แป้งข้าวโพด มันฝรั่ง มันสำปะหลัง ธัญพืชต่างๆ รวมทั้งวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร นอกจากนี้วัตถุดิบเหลือใช้หลายอย่างก็สามารถนำมาใช้ได้ เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ซึ่งมีส่วนประกอบของเซลลูโลสอยู่ และอาจใช้เศษไม้ ขี้เลื่อยที่เหลือจากโรงงานนำมาย่อย เพื่อให้เกิดน้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักได้

ยีสต์ใช้ไนโตรเจนในรูปเกลืออินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต นอกจากนี้ยังสามารถใช้สารอื่นเป็นแหล่งไนโตรเจนได้อีก เช่น Mono และ Triammonium sulfate จะช่วยในการเจริญเติบโตของยีสต์ได้ดีขึ้น มีการทดลองเพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างแอมโมเนียที่เติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อกับความสามารถในการหมักยีสต์ พบว่าแอมโมเนียที่ใส่ลงไปนี้ ไม่ได้มีส่วนช่วยกระตุ้นการหมัก หรือการผลิตเอทานอลในกระบวนการโดยตรง แต่จะไปมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยยีสต์จะใช้วัตถุดิบสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้ได้จำนวนเซลล์มากขึ้น [28, 29]

ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 0.4 ของน้ำหนักแห้ง โดยอยู่ในรูป Methionine และกรดอะมิโน (amino acid) เนื่องจาก Methionine ที่ใส่ลงไปในอาหารเสริมมีราคาแพง ดังนั้นในอุตสาหกรรมจึงใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตแทน เช่น ในการหมักกากน้ำตาล (Black strap molases) จึงมักเติมแอมโมเนียซัลเฟต เพื่อดึงสารประกอบซัลเฟอร์มาใช้เพื่อการเจริญเติบโตของยีสต์

ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นในการสร้างพลังงาน (ATP) สังเคราะห์นิวคลีโอโปรตีน (nucleoprotein) และสารอื่นๆ ภายในเซลล์ และยังช่วยเป็นบัฟเฟอร์ รักษาค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ การเติมฟอสฟอรัสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะให้เป็นโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต(Na_2HPO_4) แอมโมเนียมฟอสเฟต (NH_4PO_4) และแคลเซียมซุปเปอร์ฟอสเฟต ($Ca(H_2PO_4)_2$) ในการเลี้ยงเชื้อควรมีการทดสอบดูว่าปริมาณฟอสฟอรัสเพียงพอหรือไม่ เพราะถ้าไม่เพียงพอจะทำให้เซลล์อ่อนแอได้ [30]

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

วิตามิน ความต้องการวิตามินในการเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ โดยพบว่ายีสต์ขนมปังทุกสายพันธุ์ต้องการไบโอติน (biotin) และมียีสต์หลายสายพันธุ์ต้องการกรดแพนโททีนิก (pantotenic acid) โดยกรดนี้เป็นองค์ประกอบของโคเอนไซม์เอ (coenzyme A) และมีความจำเป็นสำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมคาร์โบไฮเดรตและลิพิด นอกจากนี้ไพริดอกซิน (pyridoxine) และ ไทอะมีน (thiamine) มีความจำเป็นต่อท็อปยีสต์ (top yeast) โดยเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักคาร์โบไฮเดรตและเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโน

อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ ที่อุณหภูมิสูง ยีสต์จะเจริญเติบโตช้าและหมักเอทานอลได้ต่ำ ดังนั้นในการหมักควรควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 37 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 40-45 องศาเซลเซียส ปริมาณเอทานอลที่หมักได้จะลดลงอย่างมาก นอกจากอุณหภูมิจะมีผลต่อการหมักแล้วยังมีผลทำให้จำนวนเซลล์ต่ำลง โดยปกติแล้วในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลใช้อุณหภูมิในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก [31] การหมักเอทานอลที่มีอัตราการหมักสูงจะส่งผลให้มีความร้อนเกิดขึ้นสูง ซึ่งพบว่าในระหว่างการหมักจะมีความร้อนเพิ่มขึ้นในอัตรา 149.5 แคลอรี่ต่อกรัมน้ำตาลซูโครส หรือ 140.2 แคลอรี่ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส ความร้อนที่เกิดขึ้นมาจากการคายความร้อน ในกระบวนการเมตาบอลิซึ่มของยีสต์ ถ้าไม่มีการระบายความร้อนออกจะส่งผลให้น้ำหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นกระบวนการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมจึงต้องใช้ระบบหล่อเย็น เพื่อลดอุณหภูมิของถังหมัก [32, 33]

ออกซิเจนมีหน้าที่หลักของออกซิเจน คือ เป็นตัวรับอิเลคตรอนขั้นสุดท้ายในลูกโซ่การหายใจ นอกจากนี้ออกซิเจนยังทำหน้าที่เป็น growth factor ของยีสต์ โดยเกี่ยวข้องในการสังเคราะห์กรดไขมันที่มี พันธะคู่ รวมทั้งกรดโอลิอิค (Oleic acid) กรดลิโนเลอิก (Linoleic) และเออเกอสเตอรอล (Ergosterol) ออกซิเจนนอกจากจะช่วยในการส่งเสริมการเจริญภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจนของยีสต์แล้ว ยังเพิ่มความสามารถในการทนเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงของยีสต์ด้วย [34] แต่อย่างไรก็ตามการให้ออกซิเจนปริมาณมากในระหว่างการหมักจะมีผลให้การผลิตเอทานอลลดลง เนื่องจากออกซิเจนส่งเสริมให้เกิดการหายใจ (pasture effect) [35] จากการทดลองหมักเอทานอลโดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าในสภาวะที่มีการเขย่าขวดยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้สูงกว่าสภาวะที่ไม่เขย่าถึง 33 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการผลิตสูงกว่า 1.7 เท่า นั่นแสดงว่าการให้อากาศเพียงเล็กน้อยจะช่วยให้ยีสต์ใช้กลูโคสได้ดีขึ้น และทนต่อเอทานอลมากขึ้น [36]

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยทั่วไปยีสต์จะเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพในการหมักได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีช่วงความเป็นกรดด่าง (ค่าพีเอช) ระหว่าง 3.5-6.0 ในระหว่างการหมักความเป็น

กรดด่างอาจลดต่ำลงอันเนื่องมาจากกรดที่สร้างขึ้นจากยีสต์ ถ้าค่าพีเอชต่ำลงถึง 3.0 ยีสต์บางสายพันธุ์จะหยุดการหมักหรือหมักได้ไม่ดี [37] ดังนั้นในขั้นตอนการหมักเอทานอล จึงต้องปรับอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 4.0-5.0 ด้วยกรดซัลฟูริกหรือกรดแลคติกเพื่อให้ยีสต์อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนมากับอาหารด้วย [38, 39]

2.6 กระบวนการผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลที่ได้รับความสนใจในระดับอุตสาหกรรมมี 4 แบบ ได้แก่ การหมักแบบแบตช์ (batch fermentation) การหมักแบบเฟด-แบตช์ (fed-batch fermentation) การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous fermentation) และการหมักแบบต่อเนื่อง (continuous fermentation) การหมักแบบแบตช์และแบบต่อเนื่องมีการนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางที่สุด เนื่องจากมีความต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักเอทานอลจึงมีการพัฒนาทั้งสองระบบและมีการนำเอาเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้ [40] ซึ่งปัญหาที่พบบ่อยในการหมักแบบต่อเนื่องคือการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในขณะหมัก ทั้งนี้เป็นเพราะระบบการควบคุมนำน้ำตาลเข้าและออกมักมีปัญหาเรื่องรูรั่วระหว่างรอยต่อจึงเป็นปัญหาใหญ่สำหรับโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการใช้ระบบนี้

การหมักแบบแบตช์ การหมักแบบแบตช์เป็นกระบวนการหมักที่เพาะเลี้ยงยีสต์ในระบบปิด (closed system) มีปริมาณสารอาหารเริ่มต้นจำกัด โดยระยะแรกที่มีการใส่กล้าเชื้อยีสต์จะยังไม่มีการเพิ่มจำนวน เนื่องจากเป็นช่วงปรับตัวให้เข้าสู่สภาพแวดล้อมใหม่ (lag phase) ซึ่งกระบวนการหมักในระยะนี้ทางอุตสาหกรรมจะต้องทำให้สั้นที่สุด เพื่อลดต้นทุนการผลิตหลังจากเชื้อปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้แล้ว อัตราการเจริญของเชื้อจะเพิ่มขึ้นซึ่งเรียกว่า ระยะ log phase การยืดระยะ log phase ให้ยาวที่สุดจะช่วยให้การผลิตมวลเซลล์ หรือสารเมแทบอไลต์ ปฐมภูมิได้ในปริมาณมาก การผลิตเอทานอลจึงจำเป็นต้องยืดระยะนี้ให้ยาวนานที่สุด ทั้งนี้เพราะเอทานอลจัดเป็นสารเมแทบอไลต์ปฐมภูมิ และเมื่อสิ้นสุดระยะนี้อัตราการเจริญของเชื้อจะคงที่เรียกว่าระยะ stationary phase ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะต่อการผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ แต่ถ้ายังคงหมักต่อไปเรื่อยๆ จะส่งผลให้เซลล์ลดจำนวนลง อันเนื่องมาจากสารอาหารที่มีจำกัด และสารต่างๆ ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นขณะหมักนั้นคือเข้าสู่ระยะ dead phase [41]

สำหรับการหมักแบบแบตช์นั้นได้มีการใช้กันอย่างกว้างขวาง และใช้กันมานานนับ 100 ปีในโรงงานการผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสม โดยกระบวนการหมักนั้นขึ้นกับปริมาณเริ่มต้นของคาร์โบไฮเดรตที่เติมเข้าไป และถูกใช้อย่างสมบูรณ์เมื่อผ่านกระบวนการหมักนาน 36-48 ชั่วโมง โดย

อุณหภูมิขณะหมักอยู่ในช่วง 10-30 องศาเซลเซียส และพีเอชเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 4.5 โดยการหมักแบบนี้ให้ค่าผลผลิตของเอทานอลอยู่ในช่วง 90-95 เปอร์เซ็นต์ของค่าผลผลิตทางทฤษฎี และมีค่าความเข้มข้นของเอทานอลอยู่ในช่วง 10-16 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักซึ่งการผลิตจะได้ค่ามากน้อยเพียงใด การเลือกใช้วัตถุดิบถือว่ามีความสำคัญมาก แม้กระบวนการหมักด้วยวิธีนี้จะใช้ต้นทุนต่ำ และไม่ต้องการระบบควบคุมที่ทันสมัยมากนัก แต่จะเสียเวลาค่อนข้างมากในการเตรียมการหมักใหม่ในแต่ละครั้ง เช่น การทำความสะอาดถังหมัก การทำให้ถังหมักอยู่ในสภาพปลอดเชื้อโดยการใช้ความเย็น ความร้อน การเตรียมกล้าเชื้อใหม่สำหรับหมัก เป็นต้น ดังนั้นกระบวนการหมักโดยวิธีแบบต่างๆ จึงถูกทดลองและพัฒนาขึ้นเพื่อแก้ไขข้อเสียที่เกิดจากกระบวนการหมักแบบแบตช์

การหมักแบบเฟด-แบตช์ (fed-batch fermentation) เป็นกระบวนการหมักที่ผสมผสานวิธีการระหว่างการหมักแบบแบตช์กับการหมักแบบต่อเนื่อง ทั้งนี้เพื่อแก้ไขปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการหมักทั้งสองแบบดังกล่าวจึงทำให้การหมักโดยวิธีนี้เป็นที่นิยมใช้ในโรงงานกำรผลิตเอทานอล ข้อดีที่เด่นชัดของการหมักแบบเฟด-แบตช์คือการป้องกันไม่ให้น้ำตาลที่มีความเข้มข้นมากเกินไป จะยับยั้งการเจริญและการหมัก เริ่มต้นของกระบวนการหมักแบบเฟด-แบตช์คล้ายกับกระบวนการหมักแบบแบตช์ เพียงแต่การหมักแบบเฟด-แบตช์มีการเติมน้ำตาลให้เป็นช่วงๆ ของการหมักและควบคุมความเข้มข้นของน้ำตาลที่อยู่ในถังหมักให้คงที่ หลังจากเติมอาหารใหม่เข้าไปแล้วจะไม่มีการดึงเอาอาหารเก่าออก ดังเช่นการหมักแบบต่อเนื่อง จึงทำให้วิธีนี้ช่วยลดปัญหาการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ และช่วยให้ยีสต์หมักเอทานอลได้ดีขึ้น อีกทั้งยังช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนที่เกิดจากรอยรั่วของข้อต่อในระบบการหมักแบบต่อเนื่องที่ต้องมีการเอาอาหารใหม่เข้าและดึงเอาอาหารเก่าออก [34, 40]

การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous fermentation) จะเริ่มต้นด้วยกระบวนการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ก่อน แต่เมื่ออาหารที่ให้ในระบบเริ่มที่จะหมดก็จะมีการนำน้ำหมักออกจากระบบเพื่อแยกเอทานอลออก ซึ่งจะเหลือน้ำหมักส่วนหนึ่งไว้ในถังหมัก หลังจากนั้นจะมีการเติมน้ำตาลเข้าไปในระบบในปริมาตรเท่ากับปริมาตรที่ดึงออกเพื่อให้ปริมาตรทำงานคงที่ และเมื่ออาหารในระบบใกล้หมดอีกก็จะดึงน้ำหมักออกและป้อนน้ำหมักใหม่เข้าไปอีกครั้ง ทำเช่นนี้ไปเรื่อยๆ คล้ายกับการหมักแบบต่อเนื่อง แต่ไม่ใช่การหมักแบบต่อเนื่อง ระบบจะเข้าสู่สภาวะที่เรียกว่าสภาวะคงที่เทียม (pseudo-steady state)ในการหมักแบบนี้ คือ สามารถเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ได้ต่อเนื่อง ระบบไม่แพงเท่าระบบหมักแบบต่อเนื่อง และสารอาหารที่ให้เข้าไปมีการใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนข้อเสียคือจะต้องระมัดระวังเรื่องการปนเปื้อนของเชื้อตัวอื่นๆ ที่ไม่ต้องการและต้องใช้แรงงานคอยดูแลติดตามการใช้สารอาหารของจุลินทรย์ และการแยกเอทานอลออกพร้อมกับการเติมน้ำตาลเข้าไปใหม่ จึงดูค่อนข้างยุ่งยากถ้าหากดำเนินการหมักแบบต่อเนื่องไปตลอด

การหมักแบบต่อเนื่อง (continuous fermentation) จะมีการเติมสารอาหารให้แก่ระบบอย่างต่อเนื่องพร้อมๆ กับการไหลออกของน้ำหมักอย่างต่อเนื่อง โดยที่อัตราการไหลเข้าออกของระบบไม่ควรสูงกว่าอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการชะจุลินทรีย์ออกจากระบบ ทำให้ไม่มีจุลินทรีย์ในระบบการหมัก ในระบบการหมักในช่วงหลัง ๆ จะมีความคงที่ไม่ขึ้นกับเวลา (Steady state) ระบบการหมักแบบนี้เหมาะกับระบบที่ต้องการผลผลิตในปริมาณสูงและมีการควบคุมระบบแบบอัตโนมัต ระบบนี้ยังไม่เป็นที่ใช้แพร่หลาย แต่มีใช้บ้างแล้วกับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวทดแทนอาหารสัตว์ และระบบการหมักก๊าซชีวภาพจากของเสียโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น

2.7 จลนพลศาสตร์การผลิตเอทานอล [11]

สมการจลนพลศาสตร์การหมัก ส่วนใหญ่เป็นสมการที่เกี่ยวข้องทางด้านชีวเคมี ซึ่งรูปแบบสมการเหล่านี้ประกอบด้วย กลุ่มของสมการทางคณิตศาสตร์ที่อธิบายสิ่งที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ข้อดีของแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์นี้คือ สามารถอธิบายปรากฏการณ์ทางชีวภาพ ค่าคงที่ต่างๆในสมการนั้นมีความหมายทางด้านชีวภาพ แต่โครงสร้างของรูปแบบสมการนี้ มีลักษณะไม่เป็นเส้นตรง มีความซับซ้อน และยากในการให้ความหมายของพจน์ต่างๆในสมการ ซึ่งแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของโมนอด (Monod) เป็นแบบที่นิยมใช้มากที่สุด แต่ไม่สามารถใช้อธิบายจลนพลศาสตร์การหมักได้ในหลายๆกรณี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงสมการ โดยการเพิ่มกลุ่มพจน์ทางคณิตศาตร์เพื่อทำให้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงต่างๆในระหว่างการหมักซึ่งมีความซับซ้อนได้ ในการออกแบบพจน์ต่างๆที่เพิ่มเติมเข้ามา ดังที่กล่าวมานั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ที่มีความซับซ้อนน้อยและง่ายต่อการใช้งาน ดังนั้นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ Logistic model จึงเหมาะเพื่อใช้อธิบายจลนพลศาสตร์การหมักเอทานอล ซึ่งประกอบด้วยองค์ประกอบหลักสามส่วนคือ สมการการเจริญเติบโตของเซลล์ สมการการเกิดผลิตภัณฑ์ และสมการการใช้สับสเตรทของเซลล์

การหาอัตราการเจริญของเซลล์ สามารถอธิบายตามสมการ (2.4) ดังนี้

$$\frac{dX}{dt}=\mu_m X\left(1-\frac{X}{X_m}\right) \tag{2.4}$$

โดยกำหนดให้ $t=0,\ \therefore\ X=X_0\ ,\ S=S_0,\ P=0$

เมื่อ X คือ ค่าปริมาณเซลล์ยีสต์ (กรัมต่อลิตร)

X_m คือ ค่าความเข้มข้นเซลล์ยีสต์สูงสุด (กรัมต่อลิตร)

μ_m คือ ค่าอัตราจำเพาะสูงสุดของการเติบโต (ต่อชั่วโมง)

จากสมการ (2.4) สามารถหาค่าปริมาณเซลล์ยีสต์ (X) ในช่วงเวลาใดๆ เมื่อ X_0 คือ ค่าปริมาณเซลล์ยีสต์เริ่มต้นจากการทดลอง S_0 คือ ค่าปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นจากการทดลอง ดังสมการที่ (2.5) ซึ่งเป็นสมการที่แสดงผลได้ของอัตราการผลิตเซลล์ยีสต์

$$X=\frac{X_0X_me^{\mu_m t}}{X_m-X_0+X_0e^{\mu_m t}} \tag{2.5}$$

ในแบบจำลองนี้กำหนดให้การผลิตเอทานอลมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของยีสต์ ความเข้มข้นเอทานอลที่เพิ่มขึ้นจะสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของการเจริญเติบโตของยีสต์ ซึ่งเป็นลักษณะของ Growth-linked product สามารถอธิบายตามสมการ (2.6) โดยสมการนี้จะอธิบายอัตราการผลิตเอทานอล และช่วงเวลาที่ใช้ของการผลิตเอทานอลเปรียบเทียบกับการเจริญของเซลล์

$$\frac{dP}{dt}=Y_{p/x}\frac{dX}{d\left(t-\Delta t\right)} \tag{2.6}$$

เมื่อ P คือ ค่าปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

$Y_{p/x}$ คือ ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์จากเซลล์ยีสต์ (กรัมผลิตภัณฑ์ต่อกรัมเซลล์ยีสต์)

Δt คือ ค่าระยะการปรับตัวของการผลิตเอทานอล (ชั่วโมง)

จากสมการ (2.6) สามารถหาค่าปริมาณเอทานอลที่เวลาใดๆดังสมการ ที่ (2.7)

$$P=Y_{p/x}\left[\frac{X_0X_me^{\mu_m(t-\Delta t)}}{X_m-X_0+X_0e^{\mu_m(t-\Delta t)}}-\frac{X_0X_me^{-\mu_m\Delta t}}{X_m-X_0+X_0e^{-\mu_m\Delta t}}\right] \quad (2.7)$$

การหาอัตราการใช้ สับสเตรทของยีสต์ สามารถอธิบายจากสมการที่ (2.8)

$$-\frac{dS}{dt}=\frac{1}{Y_{x/s}}\cdot\frac{dX}{dt}+m\cdot X \quad (2.8)$$

เมื่อ S คือ ค่าปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

$Y_{x/s}$ คือ ค่าผลได้ของเซลล์ยีสต์จากสารอาหาร(กรัมเซลล์ยีสต์ต่อกรัมน้ำตาล)

m คือ ค่าคงที่บำรุงรักษาเซลล์ (ต่อชั่วโมง)

จากสมการที่ (2.8) และพารามิเตอร์ μ_m และ X_m สามารถหาค่าปริมาณน้ำตาลที่เวลาใดๆ ดังสมการที่ (2.9)

$$S=S_0-\frac{1}{Y_{x/s}}\left[\frac{X_0X_me^{\mu_mt}}{X_m-X_0+X_0e^{\mu_mt}}-X_0\right]-\frac{X_mm}{\mu_m}\ln\frac{X_m-X_0+X_0e^{\mu_mt}}{X_m} \quad (2.9)$$

การศึกษาแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์การหมักเอทานอลโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ Logistic model นั้นจะต้องคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ μ_m, X_m, $Y_{p/x}$,Δt , $Y_{x/s}$ และ m ที่เวลาใดๆ จากสมการ (2.5) (2.7) และ (2.9) จึงจำเป็นต้องออกแบบการทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลมากพอสำหรับใช้ในการคำนวณหาค่าตัวแปรต่างๆ งานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นศึกษา ตัวแปรที่มาจากความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นคงที่ ดังนั้นจึงทำการทดลองโดยการปรับค่าปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นหลายๆ ค่าแล้วทำการหมักเพื่อหา อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์ อัตราการผลิตเอทานอล และอัตราการใช้น้ำตาล เพื่อนำไปใช้กับแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ Logistic model