Engng.J.CMU.(2019) 26 (1), 193-206

วารสารวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Engineering Journal
Chiang Mai University

การผลิตเอทานอลจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปผักและผลไม้

Ethanol Production from Algae in Cultivation Using Waste Water of Vegetable and Fruit Processing Plant

สุภกิจ ไชยพุฒ* เรวัตร พงษ์พิสุทธินันท์ วาสนา คำโอภาส วศิน วงศ์วิไล และ คมสัน เรืองฤทธิ์

Supakid Chaipoot*, Rewat Phongphisutthinant, Wassana Kamopas, Wasin Wongwilai and Komsan Rungrit

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

Science and Technology Research Institute, Chiang Mai University, Muang, Chiang Mai, 50200

E-mail: ic41062@hotmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์มูลนิธิโครงการหลวง โดยได้ทำการศึกษากระบวนการเตรียมสาหร่ายเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล ศึกษาการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Pediastrum sp. AARL G060, Chlorella sp. AARL G049, Microalgal consortium และ Scenedesmus sp.AARL G085 และวิเคราะห์ต้นทุน และความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ ซึ่งผลการศึกษา ได้ว่า สาหร่ายสายพันธุ์ Microalgal consortium มีความเหมาะสมที่สุด ในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล ด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) ที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที ร่วมกับการย่อยเซลลูโลส ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 2.00 (มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 1 กรัม) บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 ชั่วโมง ซึ่งทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 20.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เท่ากับ 21.36 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และน้ำตาลนอนรีดิวซ์ เท่ากับ 1.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้การผลิตเอทานอลจากสาหร่ายด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เหมาะสม พบว่า ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเท่ากับ 6.71 ใช้ปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 1.30 บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 วัน ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้อยู่ที่ร้อยละ 7.17 สำหรับกระบวนการผลิตเอทานอลจากสาหร่าย Microalgal consortium จำนวน 400 กรัม โดยผ่านกระบวนการเตรียมสาหร่าย และกระบวนการผลิตเอทานอลในสภาวะที่เหมาะสม พบว่า เอทานอลที่ได้มีความเข้มข้นร้อยละ 7.30 ปริมาณน้ำตาลปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่ม เท่ากับ 1.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณของเหลวที่ได้ 3,289 มิลลิลิตร ต้นทุนการผลิตเอทานอลจากสาหร่าย มีค่าเท่ากับ 39.08 บาทต่อลิตร ซึ่งมีระยะเวลาการคืนทุนในการผลิตเอทานอล มีค่าเท่ากับ 4.77 ปี และมีอัตราผลตอบแทนในการลงทุน มีค่าเท่ากับ 21% ตามลำดับ

คำสำคัญ: เอทานอล, การเพาะเลี้ยงสาหร่าย, น้ำเสีย, อุตสาหกรรมแปรรูปผักและผลไม้

ABSTRACT

This research studied ethanol production from algae cultivated by waste water from processing and product development plant of Royal Project Foundation. Ethanol productions from 4 strains of algae

Received 31 October 2017
Revised 3 January 2018
Accepted 16 January 2018

including *Pediastrum* sp. AARL G060, *Chlorella* sp. AARL G049, Microalgal consortium and *Scenedesmus* sp.AARL G085 were studied along with their production cost and economic value. The results showed that the microalgal consortium was the most suitable raw material for ethanol production. Steam explosion at 45 psi for 50 minutes combined with enzymaic digestion by cellulase with concentration of 2.00 ml per 1 g of algae at 50 ° C for 70 hours resulted in 20.25 mg/ml of reducing sugar, 21.36 mg/ml of total sugar content and 1.10 mg/ml of nonreducing sugar. In addition, the optimal condition for ethanol production from algae was 1.30 % *Saccharomyces cerevisiae* using, incubated at pH 6.71 and room temperature for 8 days. The resulting ethanol concentration was 7.17%. When increase the amount of Microalgal consortium to 400 g, it was found that ethanol production from the pretreated algae under optimal conditions had ethanol concentration, reducing sugar and volumes of liquids of 7.30%, 1.15 mg / ml and 3,289 ml, respectivetly. The cost of ethanol production from algae was 39.08 baht per liter with simple payback period of 4.77 years and 21% of return on investment.
Keyword: Ethanol, Algae Cultivation, Waste Water, Vegetable and Fruit Processing Plant

1. บทนำ

ประเทศไทยมีโรงงานแปรรูปอาหารสดเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้มีปริมาณน้ำทิ้งจากการแปรรูปเป็นจำนวนมากด้วยเช่นกัน การนำน้ำทิ้งจากการแปรรูป มาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้น สามารถช่วยบำบัดน้ำและลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งได้ ซึ่งสาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำเสีย จะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในหลายลักษณะ เช่นการนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นเอทานอล น้ำมันชีวภาพ หรือนำไปเป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น สำหรับการผลิตเอทานอลจากสาหร่าย และนำไปใช้ประโยชน์เชิงพลังงานนั้น มีความน่าสนใจ เนื่องจากปัจจุบันน้ำมันเชื้อเพลิงจากฟอสซิลมีราคาที่สูงและผันผวน การผลิตเอทานอลจากสาหร่ายและนำมาใช้เป็นพลังงานทางเลือก จะช่วยเสริมให้เกิดความมั่นคงทางพลังงานและเศรษฐกิจ นอกจากนี้ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปผักและผลไม้จะช่วยลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งถือเป็นการลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ทางหนึ่ง

การผลิตเอทานอลจากสาหร่ายในกลุ่มที่ไม่ใช่อาหารเป็นทางเลือกที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากสาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงเองได้ เจริญเติบโตได้ดีและรวดเร็วในบ่อเพาะเลี้ยง ทั้งในระบบปิดและระบบเปิด สามารถเจริญเติบโตได้ดีในทุกพื้นที่ที่เป็นแหล่งน้ำ แม้แต่ในน้ำเสียหรือน้ำทะเล และไม่ต้องการพื้นที่มากในการเจริญเติบโต สาหร่ายใช้พลังงานในการเจริญเติบโตน้อย ทำให้สามารถสะสมแป้งอยู่ภายในเซลล์ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง โดยทั่วไปสาหร่ายจะสะสมในแป้งและน้ำตาล [1] ซึ่งสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลได้ โดยมีงานวิจัยของ Anwar et al. (2016) [2] ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายที่ได้จากน้ำเสียโดยใช้ *Clostridium phytofermentans* DSM1183 พบว่าหลังจากทำการหมักสาหร่ายได้เอทานอลที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.52 g/L

สาหร่ายจัดเป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันมาก ซึ่งมีขนาดที่เล็กมากตั้งแต่สาหร่ายเซลล์เดียวที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ไปจนถึงสาหร่ายขนาดใหญ่ [3] ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายนั้น จะเป็นกระบวนการที่สร้างและสะสมพลังงานเพื่อใช้ในการดำรงชีวิต โดยพลังงานที่ได้จะอยู่ในรูปน้ำตาล ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกใช้ในกระบวนการไกลโคไลซิสด้วยการหายใจ และน้ำตาลอีกส่วนหนึ่งจะถูกเก็บไว้ในรูปแบบต่างๆ ตามผนังเซลล์หรือแวคิวโอล ซึ่งจะสะสมไว้ในรูปของ แป้ง น้ำตาล พอลิแซ็กคาไรด์ และไขมัน [4, 5] โดยน้ำตาลที่พบมากในสาหร่ายสีเขียวและสีน้ำตาล คือ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) เช่น กลูโคส [6] นอกจากนี้ Siddhanta et al. (2001) [7] ยังพบว่าน้ำตาลในสาหร่าย *Ulva* spp. เป็นน้ำตาลในกลุ่มของ น้ำตาลแรมโนส ไซโลส และกรดกลูโคโลนิค หรือเรียกว่า glucuronoxylorhamnan เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Pengnzhan et al. (2002) [8] ที่พบน้ำตาลแรมโนส

และไซโลส ในสาหร่ายกลุ่ม *U*. pertusa ซึ่งนอกจากน้ำตาลกลุ่มดังกล่าวแล้วยังพบน้ำตาล กลูโคส แมนโนส กาแลคโตส และอะราบิโนสอีกด้วย แต่พบในปริมาณน้อย มีงานวิจัยที่ให้ความสนใจการใช้ประโยชน์จากน้ำตาลที่สะสมในสาหร่ายโดยเฉพาะสาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อผลิตเป็นเอทานอล โดยใช้เทคโนโลยีการหมักจากเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นยีสต์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่ไม่เหมาะสมได้ดี เช่น มีความทนต่อเอทานอลเข้มข้น ทนอุณหภูมิสูง ทนแรงดันออสโมซิส และมีความสามารถในการตกตะกอนร่วมด้วย เนื่องจากในการหมักเอทานอลตามทฤษฎีของกลูโคส จากกลูโคส 1 กรัม จะให้เอทานอล 0.51 กรัม แต่ในทางปฏิบัติแล้ว 1 กรัม กลูโคสจะให้เอทานอลเพียงร้อยละ 90 ของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงสารประกอบคาร์บอนไปเป็นผลิตภัณฑ์ตามทฤษฎีของผลผลิต (theoretical yield) [9] ซึ่งมีรายงานของ Sree et al. (2000) [10] พบว่า *Saccharomyces cerevisiae* V3. มีความทนต่อความร้อนสูง ทนแรงดันออสโมซิส และสามารถจับกลุ่มตกตะกอนได้เป็นอย่างดี ซึ่งให้ปริมาณเอทานอลที่สูงเท่ากับ 60 กรัมต่อลิตร จากกลูโคส 150 กรัม ที่ 40 องศาเซลเซียส

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงเป็นการศึกษาศักยภาพการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์ มูลนิธิโครงการหลวง โดยพิจารณาสาหร่าย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pediastrum* sp. AARL G060, *Chlorella* sp. AARL G049, Microalgal consortium และ *Scenedesmus* sp. AARL G085 และแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ การเตรียมวัตถุดิบสาหร่ายเพื่อผลิตเอทานอล และกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการศึกษาได้พิจารณาสาหร่ายที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลในปริมาณที่สูงที่สุด นอกจากนี้งานวิจัยได้ทำการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเอทานอล รวมถึงความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์อีกด้วย

2. วิธีการวิจัย

ในการดำเนินงานวิจัยนี้ได้ใช้สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์ มูลนิธิโครงการหลวงจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pediastrum* sp. AARL G060, *Chlorella* sp. AARL G049, Microalgal consortium และ *Scenedesmus* sp. AARL G085 ซึ่งจากการตรวจวิเคราะห์สมบัติของน้ำเสียที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง พบว่า มีลักษณะเป็นกรดอ่อน มีค่าการนำไฟฟ้าสูง และสารอาหารบางตัวสูง เช่น แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (24.1 mg/L) นอกจากนี้ยังพบปริมาณสารอินทรีย์และอนินทรีย์เป็นจำนวนมากโดยมีค่า COD (3160 mg/L) และ BOD (2400 mg/L) สูง ซึ่งน้ำเสียที่มีสมบัติดังกล่าวมีค่าอยู่ในช่วงที่สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้

ในขั้นตอนการศึกษาศักยภาพการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปผักและผลไม้ ได้ทำการศึกษากระบวนการเตรียมสาหร่ายเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล การศึกษาการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 4 สายพันธุ์ และการวิเคราะห์ต้นทุน และความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ โดยขั้นตอนการศึกษากระบวนการเตรียมสาหร่ายเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล ได้ใช้สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. AARL G049 เป็นตัวแทนในการศึกษา เนื่องจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. AARL G049 จะมีอัตราการเติบโตค่อนข้างสูง และลักษณะของโครงสร้างเซลล์สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. AARL G049 จะมีความคล้ายคลึงกับสาหร่ายอีก 3 สายพันธุ์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. AARL G049 เป็นตัวแทนในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสาหร่ายเพื่อผลิตเป็นเอทานอล

2.1 การศึกษาการผลิตเอทานอลจากสาหร่าย

การทดลองที่ 1 ศึกษากระบวนการเตรียมสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอทานอล

ทำการศึกษาวิธีการทำลายโครงสร้างของเซลล์สาหร่าย ด้วยการปรับสภาพวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) โดยพิจารณาที่ความดัน 25-45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่เวลา 20-60 นาที จากนั้น วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลนอนรีดิวซ์ วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Design Expert 7.1 (Statease Inc., USA) [11]

จากนั้นศึกษาการย่อยสลายโครงสร้างของเซลล์สาหร่าย ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (ที่ความเข้มข้น 1.0-6.34 นอร์มอล) ผสมผงสาหร่ายและสารละลาย Citrate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.4 ในอัตราส่วน 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร แล้วจึงนำไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ ทำการแยกสารละลายออกจากของแข็งด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 4,500 rpm เป็นเวลา 15 นาที แล้วกรองแยกสารละลายส่วนใสด้วยกระดาษกรอง Whatman® No.4 จะได้สารละลายที่นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลนอนรีดิวซ์ตามวิธีการของ AOAC (2000)

เปรียบเทียบการศึกษาการย่อยโครงสร้างของเซลล์สาหร่าย ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส โดยแปรผันปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ปริมาณ 0.25–2.00 (มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 1 กรัม) และใช้เวลาในการบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส 24–72 ชั่วโมง หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment with 2 center points [11]

ทำการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลนอนรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายที่ผ่านกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ และผ่านการย่อยด้วยกระบวนการที่เหมาะสม

การทดลองที่ 2 ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อบริสุทธิ์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้กระบวนการที่เหมาะสมในการเตรียมสาหร่ายจากการทดลองที่ 1 เพื่อให้เอทานอลสูงที่สุด

ทำการศึกษาความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เหมาะสมเพื่อผลิตเอทานอลสูงที่สุด โดยพิจารณาปริมาณความเป็นกรด-ด่างที่ 5.00–7.00 ปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 0.10–1.50 ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-10 วัน หลังจากนั้นทำการวัดปริมาณเอทานอล และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่ม โดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment design with 2 center points [11]

การทดลองที่ 3 ศึกษาคุณภาพเอทานอลที่ผลิตได้จากสาหร่าย คือ ปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่ม ปริมาณของเหลวที่ได้ และปริมาณกากสาหร่ายที่เหลือจากการบ่ม

2.2 การวิเคราะห์ต้นทุน และความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ [11]

สำหรับการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเอทานอลได้วิเคราะห์หาต้นทุนการผลิต โดยอาศัยการคำนวณทางเศรษฐศาสตร์ เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจในการเลือกระบบการผลิต โดยการวิเคราะห์ต้นทุนจะอาศัยวิธีการ Life Cycle Cost Analysis (LCC) ซึ่งเป็นวิธีการที่คิดค่าใช้จ่ายตลอดอายุโครงการ ทั้งนี้จะพิจารณาต้นทุนรวมรายปี (บาท/ปี) โดยพิจารณามูลค่าเงินลงทุนสุทธิ, ค่าใช้จ่ายด้านพลังงานที่ใช้ในการผลิต และค่าใช้จ่ายในการดำเนินการและบำรุงรักษา (บาท/ปี) ดังสมการที่ 1

$$C_{pu} = \frac{\dot{C}_P}{\dot{E}_P} \qquad (1)$$

เมื่อ C_{pu} คือ ต้นทุนต่อหน่วยการผลิต (บาท/หน่อยการผลิต), คือ ต้นทุนรวมรายปี (บาท/ปี) และ คือ การผลิตที่ผลิตได้ต่อปี (หน่อยการผลิต/ปี)

การหาต้นทุนรวมของการผลิตจะทำการคำนวณจากการทำสมดุลต้นทุน ดังสมการ 2

$$\dot{C}_P = \dot{C}_C + \dot{C}_E + \dot{C}_{O\&M} \qquad (2)$$

เมื่อ $\&_P$ คือ ต้นทุนรวมรายปี (บาท/ปี), $\&_C$ คือ มูลค่าเงินลงทุนสุทธิ (มูลค่าเงินลงทุนที่หักมูลค่าซากแล้ว) (บาท/ปี), $\&_E$ คือ ค่าใช้จ่ายด้านพลังงานที่ใช้ในการผลิต (บาท/ปี) และ $\&_{O\&M}$ คือ ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการและบำรุงรักษา (บาท/ปี)

นอกจากนี้ ทางโครงการจะทำการวิเคราะห์ระยะเวลาคืนทุน (Simple Payback Period, SPP) จากสมการ (3)

$$SPP = \frac{First\ Cost}{Cost\ \ Saving or \Pr ofit} \qquad (3)$$

สำหรับผลตอบแทนในการลงทุน (Internal Rate of Return, IRR) จะใช้เป็นเครื่องมือประกอบการตัดสินใจในการลงทุน โดยพิจารณาอัตราส่วนลดที่ทำให้มูลค่าเงินปัจจุบันสุทธิในการลงทุน (Net Present Value, NPV) เท่ากับศูนย์ หรือเข้าใกล้ศูนย์ วิธีนี้มีการนำเอาค่าอัตราดอกเบี้ยมาร่วมคำนวณด้วย ทำให้สามารถวิเคราะห์ได้ถูกต้องมากขึ้น วิธีการหาอัตราผลตอบแทนการลงทุนเป็นการหาโดยวิธีลองผิดลองถูก (Trial and Error) อัตราส่วนลดที่หาได้คือค่า IRR นั่นคือค่า i ที่ทำให้ NPV(i) เท่ากับ 0 ทั้งนี้สามารถพิจาณาสมหารที่ 4 และ 5

$$NPV = \sum_{t=1}^{n} \frac{NCF_n}{(1+IRR)^n} - TIC = 0 \qquad (4)$$

$$TIC = \sum_{t=1}^{n} \frac{NCF_n}{(1+IRR)^n} \qquad (5)$$

เมื่อ NCF_n คือ เงินจ่ายลงทุนตอนติดตั้งระบบ (Total investment Baht), IRR คือ อัตราผลตอบแทนในการลงทุน, n คือ อายุการใช้งานของระบบ (ปี) และ TIC คือ ต้นทุนพลังงานที่ประหยัดได้ (Energy Cost Savings) หรือ กำไรที่ระบบสามารถทำได้ (Profit) รายปีตั้งแต่ปลายปี 1 ถึง n (บาท)

3. ผลการวิจัย

การศึกษาวิธีการทำลายโครงสร้างของเซลล์สาหร่ายด้วยการปรับสภาพวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) การย่อยสลายโครงสร้างด้วยกรดไฮโดรคลอริก เพื่อให้เซลล์สาหร่ายแตกตัวก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส โดยใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเป็นตัวชี้วัดให้ผลการศึกษาดังนี้

3.1 ผลการศึกษากระบวนการเตรียมสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอทานอล

ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพสาหร่ายด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) ที่ความดัน 25-45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว โดยใช้เวลา 15-30 นาที โดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment design with 2 center points และวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Design Expert 7. 1 (Statease Inc. ,USA) เพื่อสภาวะที่เหมาะสม สามารถแสดงผลการศึกษาได้ดังตารางที่ 1 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ในรูปสมการถดถอย (Multiple regression) เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนองกับความดันและเวลาที่ระดับต่างๆ พบว่าความดันและเวลาในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสามารถแสดงในรูปสมการถดถอย ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 การทดลองในการศึกษาการปรับสภาพสาหร่ายด้วยกระบวนการระเบิดไอน้ำ

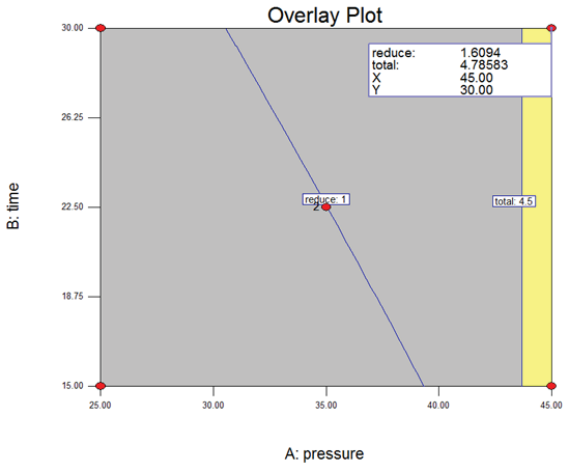
การทดลอง	รหัส	ความดัน (psi)	เวลา (min)	ปริมาณน้ำตาล (mg/ml)		
				น้ำตาลรีดิวซ์	น้ำตาลทั้งหมด	น้ำตาลนอนรีดิวซ์
1	(1)	25.00	15.00	0.62±0.02	3.22±0.02	2.60±0.01
2	a	40.00	15.00	1.28±0.02	3.84±0.02	2.56±0.01
3	b	25.00	30.00	0.85±0.02	3.81±0.01	2.96±0.01
4	ab	40.00	30.00	1.65±0.01	4.32±0.01	2.67±0.02
5	-α a	21.89	22.50	0.60±0.03	3.13±0.01	2.53±0.03
6	+α a	43.11	22.50	1.57±0.04	6.78±0.05	5.20±0.04
7	-α b	32.50	11.89	0.75±0.04	3.31±0.01	2.56±0.03
8	+α b	32.50	33.11	1.20±0.04	3.51±0.01	2.31±0.02
9	cp1	32.50	22.50	1.01±0.04	3.29±0.01	2.27±0.02
10	cp2	32.50	22.50	0.98±0.03	3.27±0.02	2.29±0.02

ตารางที่ 2 สมการความสัมพันธ์ระหว่างความดันและเวลาในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ

คุณภาพ	สมการความสัมพันธ์กับตัวแปร	R^2
น้ำตาลรีดิวซ์	= 0.4624 – 0.0179 (ความดัน) – 0.0002 (เวลา) + 0.0006 (ความดัน)^2 + 0.001 (เวลา)^2 + 0.0005 (ความดัน) (เวลา)	0.9910
น้ำตาลทั้งหมด	= 9.7431 - 0.4499 (ความดัน) + 0.0075 (ความดัน)^2	0.7559

จากตารางที่ 2 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ขึ้นอยู่กับความดันและเวลาในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ และความสัมพันธ์ร่วม (Interaction) ระหว่างความดันและเวลาโดยความดันและเวลาที่เพิ่มขึ้นทำให้น้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณน้ำตาลทั้งหมดขึ้นอยู่กับความดันในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ โดยความดันเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้นด้วย สอดคล้องกับรายงานของ คมสันและคณะ (2559) [13] ซึ่งได้ทำการปรับสภาพสาหร่ายไส้ไก่ (*Enteromorpha intestinalis*) ด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 25 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทำให้น้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นร้อยละ 292.63 และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 17.35

จากสมการที่ได้ในตารางที่ 2 สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความดันและเวลาในกระบวนการระเบิดที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 7.10 (Statease Inc., Minneapolis, USA) และกำหนดขอบเขตปัจจัยที่ศึกษาและคุณลักษณะที่ต้องการ พบว่า ความดันและเวลาที่เหมาะสมในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ คือ ที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งแสดงตามภาพที่ 1



ภาพที่ 1 พื้นที่การตอบสนองของความดันและเวลาในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ

3.2 ผลการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) ที่เหมาะสมในการปรับสภาพสาหร่าย

ผลการศึกษาระยะเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ซึ่งเป็นค่าความดันที่มีความเหมาะสมในการสร้างน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมดจากสาหร่ายได้มากที่สุด โดยพิจารณาระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิด 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที พบว่า การระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่ระยะเวลา 50 และ 60 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากกว่าที่ระยะเวลา 20, 30 และ 40 นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่ระยะเวลา 50 นาที ให้เป็นระดับที่เหมาะสมกว่าที่ระยะเวลา 60 นาที เพราะใช้เวลาน้อยกว่า จึงทำให้เกิดการประหยัดในเรื่องต้นทุนมากกว่า ทั้งนี้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการระเบิดไอน้ำความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่ระยะเวลาระเบิดต่างกัน แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการระเบิดไอน้ำความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่ระยะเวลาระเบิดต่างกัน

เวลาในการระเบิด(นาที)	ปริมาณน้ำตาล (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	
	น้ำตาลรีดิวซ์^{ns}	น้ำตาลทั้งหมด
20	1.52±0.07	6.20^{d}±0.01
30	1.54±0.03	6.64^{c}±0.02
40	1.53±0.08	7.20^{b}±0.02
50	1.54±0.07	8.51^{a}±0.01
60	1.57±0.07	8.51^{a}±0.01
กรรมวิธีควบคุม	0.23±0.01	2.99^{e}±0.01

หมายเหตุ: - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

- ns คือข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)
- กรรมวิธีควบคุม คือปริมาณน้ำตาลที่วัดจากตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ

3.3 ผลการศึกษาสภาวะการย่อยเซลลูโลสด้วยสารละลายกรดที่เหมาะสมในการปรับสภาพสาหร่าย

หลังจากกระบวนการเตรียมสาหร่าย ด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นระยะเวลา 50 นาทีแล้ว ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 1.0 , 2.0 , 3.0 , 4.0 , 5.0 และ 6.34 นอร์มอล ตามลำดับ ใช้สารละลายสาหร่ายที่ผ่านการระเบิดไอน้ำต่อกรดไฮโดรคลอริก อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และนำมาวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4 พบว่า ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่สามารถย่อยเซลลูโลสได้มากสุด คือ ที่ความเข้มข้น 6.34 นอร์มอล โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด เท่ากับ 8.66 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) แสดงว่า ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่เพิ่มขึ้น สามารถย่อยเซลลูโลสเพื่อให้เป็นน้ำตาลได้เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของสาหร่ายที่ผ่านการย่อยด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นที่ต่างกัน

ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
1.00	2.03^{g}±0.09
2.00	2.78^{f}±0.09
3.00	3.80^{d}±0.05
4.00	4.94^{c}±0.08
5.00	6.08^{b}±0.31
6.34	8.66^{a}±0.29

หมายเหตุ: - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

3.4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเซลลูโลสในสาหร่ายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

หลังจากกระบวนการเตรียมสาหร่าย ด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นระยะเวลา 50 นาทีแล้ว ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์

เซลลูเลส โดยแปรผันปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ปริมาณ 0.25 – 2.00 (มิลลิตรต่อสาหร่าย 1 กรัม) และเวลาในการบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 72 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment design with 2 center points และวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Design Expert 7.1 (Statease Inc.,USA) เพื่อสภาวะที่เหมาะสม สามารถแสดงผลการศึกษาได้ดังตารางที่ 5 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ในรูปสมการถดถอย (Multiple regression) เพื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนองปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในการบ่มที่ระดับต่างๆ พบว่าปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในการบ่มมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสามารถแสดงในรูปสมการถดถอย ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 แผนการทดลองในการศึกษาการย่อยสาหร่ายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

การทดลอง	รหัส	ปริมาณเซลลูเลส (ml/g.algae)	เวลาบ่ม (hr)	ปริมาณน้ำตาล (mg/ml)		
				น้ำตาลรีดิวซ์	น้ำตาลทั้งหมด	น้ำตาลนอนรีดิวซ์
1	(1)	0.25	24.00	10.72±0.61	11.92±0.73	1.20±0.54
2	a	2.00	24.00	16.70±0.70	16.88±0.42	0.18±0.31
3	b	0.25	72.00	11.15±0.75	13.26±0.57	2.11±0.74
4	ab	2.00	72.00	18.66±1.81	19.10±1.91	0.44±0.23
5	-α a	0.25	48.00	10.82±0.70	12.11±0.35	1.29±0.15
6	+α a	2.00	48.00	18.58±0.65	19.35±1.33	0.77±0.41
7	-α b	1.13	24.00	11.40±1.85	11.76±1.69	0.37±0.55
8	+α b	1.13	72.00	17.86±0.54	17.89±1.17	0.03±0.01
9	cp1	1.13	48.00	15.75±0.62	16.66±0.92	0.91±0.02
10	cp2	1.13	48.00	15.59±0.48	16.30±1.78	0.71±0.08

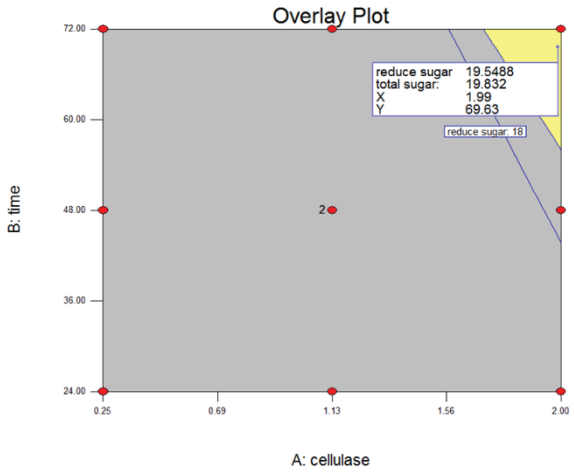
ตารางที่ 6 สมการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอมไซม์เซลลูเลสและเวลาในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ

คุณภาพ	สมการความสัมพันธ์กับตัวแปร	R^2
น้ำตาลรีดิวซ์	= 7.2203 + 4.0479 (ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส) + 0.0614 (เวลาในการบ่ม)	0.8744
น้ำตาลทั้งหมด	= 8.5376 + 3.4371 (ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส) + 0.0640 (เวลาในการบ่ม)	0.8697

จากตารางที่ 6 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในบ่ม โดยปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในบ่มที่เพิ่มขึ้นทำให้น้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kim *et al.* (2014) [14] ที่พบว่าโครงสร้างของสาหร่ายจะมีการกระจายตัวมากขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของความดัน ทำให้เอนไซม์เซลลูเลสสามารถเข้าถึงโครงสร้างของเซลลูโลสได้มากยิ่งขึ้น ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นตามการย่อยของเอนไซม์เซลลูเลสที่มากขึ้น ในขณะที่น้ำตาลนอนรีดิวซ์จะมีค่าลดลงจากการทำงานของเอนไซม์และเกิดการสลายตัวจากความร้อนที่มากขึ้นจากการเพิ่มความดัน

จากสมการที่ได้ในตารางที่ 6 สามารถหาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในบ่มที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 7.10 (Statease Inc., Minneapolis, USA) และกำหนดขอบเขตปัจจัยที่ศึกษาและคุณลักษณะที่ต้องการ พบว่า ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในบ่มที่เหมาะสม คือ ปริมาณเซลลูเลส

1.99 (มิลลิตรต่อสาหร่าย 1 กรัม) และเวลาในการบ่มที่ 69.65 ชั่วโมง ซึ่งแสดงตามภาพที่ 2



ภาพที่ 2 พื้นที่การตอบสนองของปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในบ่ม

จากผลการศึกษาข้างต้นได้ว่า การย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส สามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดได้มากกว่าการย่อยเซลลูโลสด้วยสารละลายกรด ดังนั้นจึงเลือกการย่อยเซลลูโลสของสาหร่ายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเป็นวิธีการเตรียมสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลต่อไป

3.5 ผลการคัดเลือกสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอล

จากการศึกษาสามารถเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลนอนรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายที่ผ่านการกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ คือ ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที แล้ว ทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 2.00 (มิลลิตรต่อสาหร่าย 1กรัม) บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 70 ชั่วโมง โดยสาหร่ายที่นำมาทดลองมี 4 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Pediastrum* sp. และ Microalgal consortium ผลการทดลองดังตารางที่ 7 พบว่า สาหร่ายพันธุ์ Microalgal consortium หลังจากผ่านกระบวนการเตรียมสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอทานอลแล้วให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุด รองลงมาคือสาหร่ายพันธุ์ *Chlorella* sp., *Pediastrum* sp. และพันธุ์ *Scenedesmus* sp. ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดน้อยที่สุด ดังนั้นสาหร่ายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อบริสุทธิ์มากที่สุดคือสายพันธุ์ Microalgal consortium

ตารางที่ 7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่าย 4 ชนิดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการระเบิดไอน้ำทำการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส และระยะเวลาในการบ่มที่เหมาะสม

สาหร่าย	ปริมาณน้ำตาล (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)		
	น้ำตาลรีดิวซ์	น้ำตาลทั้งหมด	น้ำตาลนอนรีดิวซ์
Chlorella sp.	17.91±0.53^{b}	20.17±0.78^{b}	2.26±1.22^{b}
Scenedesmus sp.	1.86±0.08^{d}	2.47±0.09^{d}	0.06±0.07^{d}
Pediastrum sp.	6.96±0.33^{c}	7.66±0.05^{c}	0.70±0.34^{c}
Microalgal consortium	20.25±0.54^{a}	21.36±0.67^{a}	1.10±0.85^{a}

หมายเหตุ: - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่า ค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

3.6 ผลการศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

การผลิตเอทานอลจากสาหร่ายสายพันธุ์ Microalgal consortium ควบคุมค่าความเป็นกรด–ด่าง 4.4 นำไปผ่านกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ ที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 2.00 (มิลลิตรต่อสาหร่าย 1 กรัม) บ่มที่

50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 ชั่วโมงทำการแปรผันปริมาณความเป็นกรด-ด่างที่ 5.00–7.00 และปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ปริมาณร้อยละ 0.10–1.50 ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการวัดปริมาณเอทานอล และหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่ม โดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment design with 2 center points และผลการทดลองที่ได้ถูกวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Design Expert 7.1 (Statease Inc., USA) เพื่อสภาวะที่เหมาะสม แสดงผลดังตารางที่ 8 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ในรูปสมการถดถอย (Multiple regression) เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนองความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ระดับต่างกัน พบว่ามีผลต่อปริมาณเอทานอลและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังการบ่มอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งสามารถแสดงในรูปสมการถดถอย ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 8 แผนการทดลองในการศึกษาการย่อยสาหร่ายจากการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณ *S.cerevisiae*

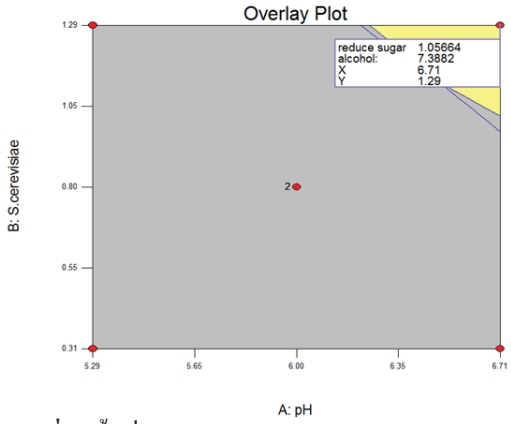
สิ่งทดลอง	รหัส	pH	ปริมาณ *S.cerevisiae* (%)	เอทานอล (%)	น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)
1	(1)	5.29	0.31	5.67±0.29	1.34±0.06
2	a	6.71	0.31	6.17±0.15	1.19±0.08
3	b	5.29	1.29	6.43±0.12	1.13±0.03
4	ab	6.71	1.29	7.77±0.25	0.97±0.09
5	-α a	5.00	0.80	5.60±0.17	1.33±0.11
6	+α a	7.00	0.80	6.33±0.29	1.18±0.10
7	-α b	6.00	0.10	5.6±0.29	1.22±0.10
8	+α b	6.00	1.50	6.73±0.25	1.15±0.04
9	cp1	6.00	0.80	6.43±0.12	1.20±0.07
10	cp2	6.00	0.80	6.57±0.40	1.20±0.06

ตารางที่ 9 สมการความสัมพันธ์ระหว่างความดันและเวลาในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ

คุณภาพ	สมการความสัมพันธ์กับตัวแปร	R^2
เอทานอล	= 5.3663 + 0.0312 (ความเป็นกรด-ด่าง) – 2.5928 (ปริมาณ *S. cerevisiae*) + 0.5952 (ความเป็นกรด-ด่าง) (ปริมาณเชื้อ)	0.8230
น้ำตาลรีดิวซ์	= 1.8693 – 0.0955 (ความเป็นกรด-ด่าง) - 0.1333 (ปริมาณ *S. cerevisiae*)	0.7144

จากตารางที่ 9 พบว่า ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์หลังการบ่มขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่างและปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังการบ่มลดลง

จากสมการที่ได้ในตารางที่ 9 สามารถหาค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 7.10 (Statease Inc., Minneapolis, USA) กำหนดขอบเขตปัจจัยที่ศึกษาและคุณลักษณะที่ต้องการ พบว่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เหมาะสม คือ ความเป็นกรด-ด่าง 6.71 และปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 1.29 แสดงตามภาพที่ 3



ภาพที่ 3 พื้นที่การตอบสนองความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

3.7 ผลของเวลาในการบ่มสาหร่าย Microalgal consortium ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ผลการศึกษาระยะเวลาบ่มที่เวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 วัน และทำการวัดปริมาณเอทานอล และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่ม สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณเอทานอล และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่ม ที่ระยะเวลาในการบ่มต่างกัน

ระยะเวลาบ่ม (วัน)	เอทานอล (ร้อยละ)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
2	5.17±0.29^{c}	1.49±0.09^{a}
4	6.17±0.29^{b}	1.30±0.07^{b}
6	6.83±0.29^{a}	1.20±0.03^{b}
8	7.17±0.15^{a}	1.07±0.04^{c}
10	7.13±0.23^{a}	1.06±0.02^{c}

หมายเหตุ: - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่า ค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

จากตารางที่ 10 พบว่า เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้น ทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) จนถึงวันที่ 8 และลดลงเล็กน้อยในวันที่ 10 เนื่องจากระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น การเจริญเติบโตของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* จะมีค่าลดลง ทั้งนี้เอทานอลเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ และผลผลิตพลอยได้บางชนิด เช่น กรดอินทรีย์ ก็เป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ รวมถึงการปนเปื้อนด้วยแบททีเรียและยีสต์อื่นที่อาจเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นกรดอินทรีย์จึงทำให้เอทานอลเกิดการลดลงได้ สาวิตรี (2549) [9] ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการบ่มด้วยเชื้อบริสุทธิ์ *Saccharomyces cerevisiae* ของสาหร่ายพันธุ์ Microalgal consortium คือ 8 วัน ซึ่งให้ค่าเอทานอลมากที่สุด ที่ร้อยละ 7.17 และมีน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่มอยู่ที่ 1.07 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3.8 ผลวิเคราะห์ต้นทุน และความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

การศึกษาเพื่อหาต้นทุนการผลิตในอนาคตอาศัยการคำนวณทางด้านเศรษฐศาสตร์ เพื่อประกอบการตัดสินใจในการเลือกระบบการผลิต วิธีการคำนวณเพื่อให้ได้ค่าต้นทุนการผลิต จะอาศัยวิธีการ Life Cycle Cost Analysis (LCC) ซึ่งเป็นวิธีการที่คิดค่าใช้จ่ายตลอดอายุโครงการ สำหรับการคำนวณต้นทุนที่เกิดขึ้นในการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายภายใต้โครงการนี้ ได้อาศัยข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ ดังนี้

1. การศึกษาการผลิตเอทานอลจากการหมักสาหร่ายด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* บริสุทธิ์ ในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลอง โดยใช้สาหร่ายพันธุ์ Microalgal consortium จำนวน 400 กรัม ผสมสารละลาย Citrate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลลาร์ ค่าความเป็นกรด–ด่าง 4.4 อัตราส่วน 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร นำไปผ่านกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที และทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 2.00 (มิลลิตรต่อสาหร่าย 1 กรัม) บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 ชั่วโมง ทำการปรับความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายสาหร่าย ให้มีค่าเท่ากับ 6.71 เติมเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 1.30 บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 วัน หลังจากนั้นศึกษาคุณภาพเอทานอลที่ผลิตได้จากสาหร่าย พบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้อยู่ที่ร้อยละ 7.30 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่มเท่ากับ 1.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และปริมาณของเหลวที่ได้ 3,289 มิลลิลิตร

2. การศึกษาเพื่อหาต้นทุนการผลิตในอนาคตอาศัยการคำนวณทางด้านเศรษฐศาสตร์ เพื่อประกอบการตัดสินใจในการเลือกระบบการผลิต วิธีการคำนวณเพื่อให้ได้ค่าต้นทุนการผลิต จะอาศัยวิธีการ Life Cycle Cost Analysis (LCC) ซึ่งเป็นวิธีการที่คิดค่าใช้จ่ายตลอดอายุโครงการ [12] สำหรับการคำนวณต้นทุนที่เกิดขึ้นในกระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Microalgal consortium และการผลิตเอทานอลจากสาหร่าย ภายใต้โครงการนี้ได้อาศัยข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ ดังนี้

- เงินลงทุนในกระบวนการต่าง ๆ
- ค่าดำเนินการและบำรุงรักษา (Operating and Maintenance Cost) กำหนดให้เป็นปีละ 1 เปอร์เซ็นต์ของเงินลงทุนเบื้องต้น
- กำหนดอายุการใช้งานของอุปกรณ์ เท่ากับ 30 ปี
- อัตราส่วนลด (Discount rate) เท่ากับอัตราดอกเบี้ยเงินกู้ลูกค้าชั้นดี (MLR) ของธนาคารกรุงเทพ (เดือนพฤษภาคม 2560) เท่ากับร้อยละ 6.25 ต่อปี [15]
- อัตราการเพิ่มขึ้น (Escalation rate) ของค่าใช้จ่าย 3% per annum [16]
- กำหนดมูลค่าซากของระบบเท่ากับ 10% ของเงินลงทุน

จากผลการศึกษาพบว่า ต้นทุนการผลิตเอทานอล มีค่าเท่ากับ 39.08 บาทต่อลิตร (ที่ความเข้มข้นเอทานอล 7%) และระยะเวลาการคืนทุนในการผลิตเอทานอล มีค่าเท่ากับ 4.77 ปี และมีอัตราผลตอบแทนภายใน เท่ากับ 21%

4. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์ มูลนิธิโครงการหลวง โดยได้ทำการศึกษากระบวนการเตรียมสาหร่ายเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล ศึกษาการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 4 สายพันธุ์ และการวิเคราะห์ต้นทุน และความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ ซึ่งผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังนี้

การศึกษากระบวนการเตรียมสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอทานอล พบว่า สาหร่ายพันธุ์ Microalgal consortium มีความเหมาะสมที่สุดในการนำมาปรับสภาพด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) ร่วมกับการย่อยเซลลูโลส โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้คือ นำสาหร่าย Microalgal consortium มาผสมสารละลาย Citrate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลลาร์ ค่าความเป็นกรด – ด่าง 4.4 อัตราส่วน 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร นำไปผ่านกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที แล้ว ทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 2.00 (มิลลิตรต่อสาหร่าย 1 กรัม) บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 ชั่วโมง ซึ่งสารละลายที่ได้จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 20.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เท่ากับ 21.36 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และน้ำตาลนอนรีดิวซ์ เท่ากับ 1.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เหมาะสมพบว่า ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเท่ากับ 6.71 ใช้ปริมาณเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 1.30 บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 วัน ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้อยู่ที่ร้อยละ 7.17

การนำสาหร่าย Microalgal consortium จำนวน 400 กรัม ทดลองหมักโดยผ่านกระบวนการเตรียมสาหร่ายและกระบวนการผลิตเอทานอลที่เหมาะสม พบว่า เอทานอลที่ได้มีความเข้มข้นร้อยละ 7.30 ปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการบ่ม เท่ากับ 1.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณของเหลวที่ได้ 3,289 มิลลิลิตร ต้นทุนการผลิตเอทานอลจากสาหร่าย มีค่าเท่ากับ 39.08 บาทต่อลิตร ซึ่งมีระยะเวลาการคืนทุนในการผลิตเอทานอล มีค่าเท่ากับ 4.77 ปี และมีอัตราผลตอบแทนในการลงทุน มีค่าเท่ากับ 21%

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจากน้ำเสียในอุตสาหกรรมแปรรูปผักและผลไม้

เพื่อผลิตเอทานอล ภายใต้การจัดการแบบไม่มีของเสีย ภายใต้ทุนวิจัยจากกองทุนเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน และสำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยนี้ ขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ และคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้เอื้อเฟื้อสถานที่ทำงานวิจัยและเก็บข้อมูล และขอขอบคุณสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนงบประมาณในการนำเสนอผลงานทางวิชาการในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] เหนือพล ดวงเบี้ย. ผลกระทบของวัฏจักรมืดและสว่างต่อผลผลิตสาหร่ายขนาดเล็ก ในปฏิกรณ์แบบแนวตั้ง, วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2556.

[2] Fathima, A.A., Sanitha, M., Kumar, T., Iyappan, S. and Ramya, M. Direct utilization of waste water algal biomass for ethanol production by cellulolytic *Clostridium phytofermentans* DSM1183. *Bioresource Technology*, 2016; 202: 253–256.

[3] ปรีชา สุวรรณพินิจ และนงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. จุลชีววิทยาทั่วไป. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร, 2548.

[4] ยุวดี พีรพรพิศาล. สาหร่ายวิทยา. โชตนาปรินท์ติ้ง, เชียงใหม่, 2549.

[5] ยุวดี พีรพรพิศาล. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่, 2549.

[6] มนธิรา ฐิติปัญโญ. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และศึกษาชนิดของน้ำตาลจากสาหร่ายทะเล. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2555.

[7] Siddhanta, A. K., Goswami, A. M., Ramavat, B. K., Mody, K. H. and Mairh, O. P. Water soluble polysaccharides of marine algal species of Ulva (Ulvales, Chlorophyta) of India waters. *Indian Journal of Marine Sciences*, 2001; 30: 166-172.

[8] Phengzhan, Y., Quanbin, Z., Ning, L., Zuhong, X., Yanmei, W. and Zhi'en, L. Polysaccharides from Ulva pertusa (Chlorophyta) and preliminary studies on their antihyperlipidemia activity. *Journal of Applied Phycology*, 2002; 15: 21-27.

[9] สาวิตรี ลิ่มทอง. ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2549.

[10] Sree, N.K., M. Sridhar, K. Suresh, I.M. Banat and L.V. Rao. Isolation of thermotolerant, osmotolerant, flocculating *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol production. *Bioresource Technology*, 2000; 72: 43-46.

[11] ไพโรจน์ วิริยจารี. การออกแบบการทดลองขั้นสูง. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่, 2555.

[12] ทนงเกียรติ เกียรติศิริโรจน์, นายกิตติกร สาสุจิตต์, อดิศักดิ์ ปัตติยะ. การพัฒนาชีวมวลเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยการจัดการแบบไม่มีของเสีย, รายงานฉบับสมบูรณ์, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2557.

[13] คมสัน เรืองฤทธิ์, สุภกิจ ไชยพุฒ, เรวัตร พงษ์พิสุทธินันท์, วาสนา คำโอภาส และวศิน วงศ์วิไล. การศึกษาความเป็นไปได้ในการเตรียมสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลจากสาหร่ายทะเล. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2559.

[14] Kim, D. H., Lee, S. B. and Jeong, G.-T. Production of reducing sugar from Enteromorpha intestinalis by hydrothermal and enzymatic hydrolysis. Bioresource Technology, 2014; 161: 348-353.

[15] อัตราส่วนลด (Discount rate) [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา:
http://www.bangkokbank.com/DocumentsLoan/LoanRates_16May2017.pdf

[16] กฤตภาส ศุภกรมงคล, นิคม แหลมสัก และพรรณนภา ศักดิ์สูง. การจัดทำแผนยุทธศาสตร์ระดับชุมชนในการผลิตน้ำมันดีเซลจากชีวมวลไม้โตเร็ว. *SDU RESEARCH JOURNAL*, 2014; 7(1): 71-81.