การฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อใช้ผลิตเอทานอล
Sterilization of sweet sorghum stem juice for ethanol production

จารุวัฒน์ สุนทรไชยา (Jaruwat Soontornchaiya)[1]
พัฒนา เหล่าไพบูลย์ (Pattana Laopaiboon)[2]
วรวุฒิ ศรีดี (Worawut Sridee)[3]
วิโรจน์ สมพงษ์ (Wirote Sompong)[3]
และ ลักขณา เหล่าไพบูลย์ (Lakkana Laopaiboon)[2*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการฆ่าเชื้อวัตถุดิบ (น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน) ที่เหมาะสมที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงและต้นทุนต่ำ โดยแปรผันวิธีการฆ่าเชื้อ 6 วิธีคือ (1) การใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที (ชุดควบคุม) (2) ไม่มีการฆ่าเชื้อ (3) การใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 70 องศาเซลเซียส 15 นาที (4) การใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 90 องศาเซลเซียส 5 นาที (5) การปรับพีเอชให้เป็น 4 และ (6) การใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ (KMS) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4 และทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ (ยกเว้นวิธีที่ 6) มีองค์ประกอบหลักใกล้เคียงกัน คือมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้อยู่ในช่วง 17.5-19.0 องศาบริกซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 171.13 -180.70 กรัมต่อลิตร เมื่อนำน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อแต่ละวิธีไปหมักเอทานอลแบบกะที่สภาวะนิ่ง โดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048 พบว่า วิธีการฆ่าเชื้อวัตถุดิบที่เหมาะสมและให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงสุดคือ วิธีที่ 3 โดยได้ความเข้มข้นของเอทานอล 74.35 กรัมต่อลิตร (9.41 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) ผลได้ 0.44 กรัมต่อกรัม และอัตราผลผลิต 3.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และการฆ่าเชื้อวิธีนี้มีต้นทุนการฆ่าเชื้อต่ำกว่าวิธีอื่นๆ (1.67 บาท ต่อการฆ่าเชื้อน้ำหมัก 1 ลิตร) ยกเว้นวิธีที่ 2 และ 5

Abstract

This research aimed to determine a suitable sterilization method for sweet sorghum stem juice giving high ethanol production efficiency and cost effectiveness. Six sterilization methods were tested as follows: (1) autoclave at 110°C 15 min (control), (2) no sterilization, (3) autoclave at 70°C 15 min, (4) autoclave at 90°C 5 min, (5) pH adjustment at 4 and (6) KMS addition (200 ppm) with pH adjustment at 4 for 24 h. The results show that the main composition of the juice sterilized by the various methods (except Method 6) were similar with the total soluble solids and total sugar in the juice ranging from 17.5-19.0 °Brix and 171.13-

[1] *นายช่างอิเลคทรอนิคส์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[2] *รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[3] *บัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
**Corresponding author, e-mail : lakcha@kku.ac.th*

180.70 g l^{-1}, respectively. The sterilized juices were used for batch ethanol fermentation under static condition by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048. The juice sterilized by Method 3 gave the highest ethanol production efficiency with ethanol concentration, yield and productivity of 74.35 g l^{-1} (9.41 % v/v), 0.44 g g^{-1} and 3.10 g l^{-1} h^{-1}, respectively. The sterilization cost of Method 3 (1.67 baht per 1 litre of the juice) was lower than that of the other methods except Methods 2 and 5.

คำสำคัญ: การหมักเอทานอล, วิธีการฆ่าเชื้อ, น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน

Keywords: ethanol fermentation, sterilization methods, sweet sorghum stem juice

บทนำ

ข้าวฟ่างหวาน (*Sorghum bicolor* L. Moench) เป็นธัญพืชชนิดหนึ่งที่มีการศึกษาและพัฒนาเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล (Laopaiboon et al., 2007; 2009) เนื่องจากเป็นพืชที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี มีช่วงการเจริญเติบโตและเก็บเกี่ยวผลผลิตสั้นประมาณ 100-140 วัน และคุณภาพของน้ำคั้นจากลำต้นข้าวฟ่างหวานมีความใกล้เคียงกับน้ำคั้นจากอ้อย ซึ่งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้เป็นอย่างดี (ประสิทธิ์, 2547)

การศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยทั่วไปจะศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 หรือ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว วิธีการนี้สิ้นเปลืองพลังงานค่อนข้างสูงในการฆ่าเชื้อ ดังนั้นการลดพลังงานในการฆ่าเชื้อโดยใช้วิธีการฆ่าเชื้อวิธีอื่นๆ เช่น การพาสเจอไรเซชั่น (pasteurization) หรือการใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ (potassium metabisulfide, KMS) (ชัยรัตน์, 2537; โชคชัย และคณะ, 2546; ธีรวัลย์, 2545; วิไล, 2545) หรือแม้แต่ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อ (Roukas, 1996) จึงเป็นทางเลือกในการฆ่าเชื้อและป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบ อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลละเอียดที่บอกถึงประสิทธิภาพของวิธีดังกล่าวในการฆ่าเชื้อเพื่อนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล นอกจากนี้วิธีดังกล่าวยังเป็นวิธีที่ง่าย สิ้นเปลืองพลังงานน้อยกว่าและเหมาะสมกับการนำไปใช้ฆ่าเชื้อวัตถุดิบหรือถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนหรือวิสาหกิจชุมชนหรือโรงงานอุตสาหกรรม หากการผลิตเอทานอลได้รับการสนับสนุนให้ผลิตในระดับครัวเรือนหรืออุตสาหกรรมขนาดกลางและขนาดย่อม เพื่อส่งต่อให้ส่วนกลางหรือหน่วยงานที่รับซื้อน้ำหมักที่มีเอทานอลสูงป้อนโรงงานหรือหน่วยงานเพื่อนำไปกลั่นต่อไปเช่นที่พบในบางรัฐของประเทศสหรัฐอเมริกา (เอทานอลชุมชน, 2552) เป็นต้น อย่างไรก็ตามวิธีการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานด้วยวิธีต่างๆ อาจมีผลต่อองค์ประกอบหลักที่สำคัญในวัตถุดิบ ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลด้วย

วัตถุประสงค์หลักของโครงการวิจัยนี้คือ เพื่อหาวิธีการฆ่าเชื้อวัตถุดิบ(น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน) ที่เหมาะสมที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงและมีต้นทุนการฆ่าเชื้อวัตถุดิบต่ำ

วัสดุและวิธีการทดลอง

1. จุลินทรีย์และการเตรียมกล้าเชื้อ

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5048 (ซื้อจากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ที่เจริญบน yeast extract malt extract (YM) agar slant ถูกนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว YM โดยเลี้ยงแบบเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-18 ชั่วโมง จากนั้นเพิ่มจำนวนกล้าเชื้อโดยถ่ายยีสต์ดังกล่าวลงในอาหารเดิมปริมาตร 350 มิลลิลิตร โดยให้ได้จำนวนยีสต์เริ่มต้นประมาณ $1x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องบ่มแบบเขย่า (G10 Gyrotory, New Brunswick Scientific Edison,

ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่ 150 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เพื่อนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตเอทานอลต่อไป

2. การเตรียมน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อใช้ในการหมักและวิธีการฆ่าเชื้อ

เก็บเกี่ยวข้าวฟ่างหวานอายุประมาณ 100-120 วัน จากนั้นคั้นน้ำหวานออกจากลำต้น นำน้ำหวานที่คั้นได้กรองผ่านผ้าขาวบาง เพื่อแยกเอาตะกอนที่ปะปนมากับน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานออก จากนั้นนำส่วนของน้ำคั้นที่ได้ไปฆ่าเชื้อโดยวิธีต่างๆ คือ วิธีที่ 1 : การใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (UM-65 L VA, United mechanical, ประเทศไทย) ที่ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที (เป็นชุดควบคุม) วิธีที่ 2 : ไม่มีการฆ่าเชื้อ วิธีที่ 3 : การใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 70 องศาเซลเซียส 15 นาที วิธีที่ 4 : การใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 90 องศาเซลเซียส 5 นาที วิธีที่ 5 : การปรับค่าพีเอชให้เป็น 4 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (37% HCl, AR grade, Labscan, ประเทศไอร์แลนด์) และ วิธีที่ 6 : การใช้ KMS (95.0% $K_2S_2O_5$, AR grade, Ajax, ประเทศออสเตรเลีย) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง โดยแต่ละวิธีใช้ปริมาตรของน้ำคั้น 700 มิลลิลิตร

3. วิธีการทดลอง

3.1 การศึกษาผลของวิธีการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานต่อองค์ประกอบหลักในวัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานก่อนและหลังการฆ่าเชื้อแต่ละวิธี (จากข้อ 2) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ Hand-held refractometer (Atago, ประเทศญี่ปุ่น) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธีฟีนอลซัลฟูริก (Mecozzi, 2005) จำนวนแบคทีเรียปนเปื้อนโดยวิธี Total viable plate count (Ison and Matthew, 1997) และ พีเอช (pH/ATC electrode, Sartorius, ประเทศเยอรมนี)

3.2 การศึกษาการหมักเอทานอลแบบกะในระดับฟลาสก์

เติมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5048 (จากข้อ 1.) ลงในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน (350 มิลลิลิตร) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยวิธีต่างๆ ที่บรรจุในฟลาสก์ที่ป้องกันอากาศเข้า หรือฟลาสก์แอร์ล็อก (air-locked flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยเติมให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นในน้ำหมักเป็น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ทำการทดลอง 2 ซ้ำ) นำฟลาสก์ไปบ่มที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ เพื่อวัดพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณเอทานอล โดย Gas Chromatography (Laopaiboon et al., 2007) ปริมาณเซลล์ยีสต์อิสระที่อยู่ในน้ำหมัก โดยย้อมเซลล์ยีสต์ด้วยเมทิลลีนบลูและนับจำนวนเซลล์โดยใช้ Heamacytometer (Zoecklien et al., 1995) และนับจำนวนแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำหมัก

คำนวณความเข้มข้น (concentration, P) ผลได้ (yield, Y_{ps}) และอัตราผลผลิต (productivity, Q_p) ของเอทานอล (Laopaiboon et al., 2007) โดย

$$Y_{ps} = \frac{S_0 - S_t}{P} \quad \text{และ} \quad Q_p = \frac{P}{t}$$

เมื่อ S_0 และ S_t คือความเข้มข้นของน้ำตาลที่เวลา 0 และเวลา t ชั่วโมง ตามลำดับ และ t คือเวลาของการหมักที่ได้เอทานอลสูงสุด

จากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยวิธีการต่างๆ รวมถึงปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนระหว่างการหมัก

3.3 ต้นทุนการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน

คำนวณต้นทุนในการฆ่าเชื้อน้ำคั้นจากลำต้นข้าวฟ่างหวานแต่ละวิธีเมื่อใช้น้ำหมัก 1 ลิตร และเปรียบเทียบต้นทุนที่ใช้ ในการคำนวณต้นทุนการฆ่าเชื้อวัตถุดิบโดยวิธีการใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำจะคำนวณปริมาณความร้อนหรือหน่วยไฟฟ้าที่ใช้โดยต่อหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำเข้ากับมิเตอร์วัดหน่วยไฟฟ้า (Watt-meter) ขนาด 5(15) Amps รุ่น Single Phase Type DD10 (Qingdao Electricity Meter Works, ประเทศจีน) การต่อวงจรแสดงดังรูปที่ 1 วัดค่าหน่วยไฟฟ้าที่ใช้ตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดกระบวนการฆ่าเชื้อ เมื่อได้หน่วยไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้อแล้วนำไปคูณกับราคาของหน่วยไฟฟ้า

3.4 การศึกษาการหมักเอทานอลแบบกะในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เตรียมน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่ให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงสุดจากการหมักในระดับฟลาสก์ (จากข้อ 2.3.2) โดยเตรียมในถังหมัก (Biostat B2 S/N 4507, ประเทศเยอรมนี) ขนาด 5 ลิตร ปริมาตรน้ำหมัก 3.5 ลิตร จากนั้นเติม *S. cerevisiae* TISTR 5048 โดยให้มีความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นในถังหมักเป็น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที จากนั้นเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำหมักดังข้อ 3.2 คำนวณ P, Y_{ps} และ Q_p และเปรียบเทียบผลที่ได้ระหว่างการหมักในระดับฟลาสก์และถังหมัก

ผลการทดลองและอภิปราย

1. ผลของวิธีการฆ่าเชื้อต่อองค์ประกอบหลักในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน

ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานก่อนและหลังการฆ่าเชื้อแต่ละวิธี โดยพบว่า น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานก่อนการฆ่าเชื้อ (วิธีที่ 2) มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 17.8 องศาบริกซ์ น้ำตาลทั้งหมด 180.70 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.01 และมีจำนวนแบคทีเรียที่ปนเปื้อน $5.0x10^4$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร หลังการฆ่าเชื้อโดยวิธีต่างๆ (ยกเว้นวิธีที่ 6) องค์ประกอบหลักในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานมีค่าใกล้เคียงกัน คือมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 17.5-19.0 องศาบริกซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 171.13-180.70 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าวิธีการฆ่าเชื้อที่ใช้ในการทดลองนี้ (ยกเว้นวิธีที่ 6)ไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำหมัก ส่วนการฆ่าเชื้อวิธีที่ 6 พบว่ามีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลือเพียง 16.1 องศาบริกซ์ น้ำตาลทั้งหมด 154.48 กรัมต่อลิตร หรือลดลงประมาณ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ของค่าเริ่มต้น ตามลำดับ การที่ค่าองค์ประกอบหลักที่สำคัญในวัตถุดิบที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 6 มีค่าต่ำกว่าเมื่อใช้วิธีการฆ่าเชื้ออื่นๆ เนื่องจากการฆ่าเชื้อวิธีนี้ต้องทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปหมัก จึงทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานใช้น้ำตาลในช่วง 24 ชั่วโมงนี้ อย่างไรก็ตามจำนวนแบคทีเรียหลังจากทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง (ก่อนนำไปหมัก) มีค่าไม่แตกต่างกับจำนวนแบคทีเรียเมื่อใช้วิธีการปรับพีเอชเพียงอย่างเดียว

2. การหมักเอทานอลแบบกะในระดับฟลาสก์จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ

การฆ่าเชื้อด้วยการใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที จะใช้เป็นชุดควบคุม เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติโดยทั่วไป รูปที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ของน้ำหมักในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที โดย *S. cerevisiae* TISTR 5048 ผลการทดลองพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีค่าลดลง และเริ่มคงที่ที่ 24 ชั่วโมง โดยมีน้ำตาลทั้งหมดเหลือประมาณ 8.5 กรัมต่อลิตร สำหรับจำนวนเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตมีค่าเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ที่ 14 ชั่วโมง พีเอชเริ่มต้นมีค่าประมาณ 5.0 และลดลงเล็กน้อยหลังจากนั้น โดยที่ 24 ชั่วโมงพีเอชมีค่าคงที่ที่ 4.5 การที่พีเอชลดลงเนื่องจากยีสต์ผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างการหมัก และคาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายในน้ำหมักกลายเป็นกรดคาร์บอนิก (Shen et al., 2004). ส่วนเอทานอลในน้ำหมักมีค่าเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ที่ 24 ชั่วโมง โดยมีค่า 71.44 กรัมต่อลิตร

สำหรับการหมักเอทานอลด้วยน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีอื่นๆ พบว่ามีแนวโน้ม การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด จำนวนเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิต และพีเอชของน้ำหมักในระหว่างการหมักคล้ายคลึงกับในการหมักเอทานอลด้วยน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานชุดควบคุม ส่วนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและเอทานอลในน้ำหมักที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีอื่นๆ แสดงดังรูปที่ 3

รูปที่ 3 เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน

ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ ในแง่ของความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้ (รูปที่ 3A) และเอทานอลที่ได้ (รูปที่ 3B) ซึ่งพบว่า ระยะเวลาการหมักที่ให้เอทานอลสูงสุดของทุกสภาวะคือ 24 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อในแต่ละวิธีแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดที่ได้มีค่าใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 68.30-74.68 กรัมต่อลิตร ยกเว้นการฆ่าเชื้อวิธีที่ 6 คือ การเติม KMS 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 4 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ได้ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดเพียง 57.58 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในวัตถุดิบต่ำกว่าเมื่อใช้การฆ่าเชื้อวัตถุดิบด้วยวิธีอื่นๆ (ตารางที่ 1)

รูปที่ 4 เปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียในน้ำหมักในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อในแต่ละวิธี ซึ่งพบว่าการฆ่าเชื้อทั้ง 6 วิธี จะมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของจำนวนแบคทีเรียคล้ายกัน คือจำนวนแบคทีเรียจะลดลงเล็กน้อยจากชั่วโมงที่ศูนย์ และเริ่มคงที่ที่ชั่วโมงที่ 24 การที่จำนวนแบคทีเรียในน้ำหมักมีค่าลดลงเนื่องจากในระหว่างการหมักมีปริมาณเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่ทนต่อเอทานอลความเข้มข้นสูงมากไม่ได้ (Zoecklien et al., 1995) นอกจากนี้พบว่าในชุดควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียต่ำสุด (log 1.48 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร) ส่วนการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการอื่นๆ มีจำนวนแบคทีเรียใกล้เคียงกันคือ อยู่ในช่วง log 2.90 - 2.98 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร สำหรับในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการฆ่าเชื้อมีจำนวนแบคทีเรียสูงสุด (log 4.14 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)ซึ่งมากกว่าจำนวนที่พบในชุดควบคุมประมาณ 2.8 เท่า

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เนื่องจากเอทานอลและองค์ประกอบต่างๆ ในน้ำหมักเริ่มคงที่ที่ชั่วโมงที่ 24 ในทุกๆ สภาวะการทดลอง ดังนั้นจึงเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลที่ชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก โดยพบว่า วิธีการฆ่าเชื้อที่ให้ P, Y_{ps} และ Q_p สูงสุด คือ การฆ่าเชื้อวิธีที่ 3 และวิธีที่ 4 โดยได้ค่า P 74.35-74.68 กรัมต่อลิตร (9.41-9.45 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) Y_{ps} 0.44 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ และ Q_p 3.10-3.11 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมยังพบว่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลที่ได้สูงกว่าของชุดควบคุมเล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นเพราะชุดควบคุมใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อสูงกว่า 20-40 องศาเซลเซียส ทำให้สูญเสียสารอาหารที่จำเป็นในการผลิตเอทานอลไปบางส่วน

3. ต้นทุนในการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน โดยวิธีต่างๆ

การคำนวณต้นทุนในการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยวิธีต่างๆ จะคำนวณเทียบกับเมื่อใช้น้ำหมัก 1 ลิตร โดยวิธีใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที ต้นทุนการฆ่าเชื้อจะคิดเป็นหน่วยไฟฟ้าที่ใช้ ตามช่วงอุณหภูมิ 3 ช่วงคือ

(1) ช่วงเพิ่มความร้อน หรือ Heat up (30 - 110 องศาเซลเซียส)

(2) ช่วงอุณหภูมิที่ต้องการ (110 องศาเซลเซียส)

(3) ช่วงลดอุณหภูมิ หรือ Cool down (110 - 50 องศาเซลเซียส, 50 องศาเซลเซียส คืออุณหภูมิที่สามารถเปิดหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำได้)

ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3 ซึ่งพบว่าหน่วยไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้อมีค่าเท่ากับ 0.75+0.10+0.10 = 0.95 กิโลวัตต์ชั่วโมง และราคาหน่วยไฟฟ้าที่ใช้มีค่าเท่ากับ 2.99 บาท (ข้อมูลได้จากกองอาคารสำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น เดือนมกราคม 2552) ดังนั้นค่าใช้จ่ายในการฆ่าเชื้อโดยวิธีนี้มีค่าเท่ากับ 0.95x2.99 = 2.84 บาท ต่อน้ำหมัก 1 ลิตร ส่วนวิธีการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิอื่นก็ใช้หลักการเดียวกัน

สำหรับวิธีที่ 5 และ 6 เป็นการคำนวณต้นทุนสารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ โดยสารเคมีที่ใช้คือ กรดไฮโดรคลอริก (37% HCl) ชนิด AR grade (Labscan ประเทศไอร์แลนด์) ขนาดบรรจุ 2.5 ลิตร ราคา 400 บาท และ KMS (95.0% $K_2S_2O_5$) ชนิด AR grade (Ajax ประเทศออสเตรเลีย) ขนาดบรรจุ 500 กรัม

ราคา 800 บาท โดยใช้ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม

ผลการคำนวณต้นทุนในการฆ่าเชื้อวัตถุดิบด้วยวิธีต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4 ซึ่งจะเห็นได้ว่า ต้นทุนในการฆ่าเชื้อโดยวิธีที่ 2 มีค่าต่ำสุด รองลงมาคือ วิธีที่ 5, 3, 6, 4 และ 1 ตามลำดับ

วิธีที่ 2 และ 5 มีต้นทุนการฆ่าเชื้อต่ำเป็น 2 อันดับแรก อย่างไรก็ตามน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ฆ่าเชื้อด้วย 2 วิธีดังกล่าวนี้ เมื่อนำไปหมักเอทานอลได้ความเข้มข้นเอทานอลเพียง 68.30-68.39 กรัมต่อลิตร ในขณะที่น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 3 และ 4 เมื่อนำไปหมักเอทานอลให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงและมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาต้นทุนในการฆ่าเชื้อพบว่าวิธีที่ 3 มีต้นทุนการฆ่าเชื้อต่ำกว่าวิธีที่ 4 ดังนั้นจึงเลือกใช้วิธีที่ 3 เป็นสภาวะที่จะใช้ในการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานในการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร ต่อไป นอกจากนี้แล้วหากเปรียบเทียบต้นทุนในการฆ่าเชื้อวิธีที่ 3 กับชุดควบคุม (วิธีที่ 1) พบว่าสามารถลดต้นทุนการฆ่าเชื้อน้ำหมักลงได้ถึง 1.17 บาทต่อน้ำหมัก 1 ลิตร

การคำนวณหน่วยไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำในงานวิจัยนี้ จะเป็นค่าหน่วยไฟฟ้าที่ใช้เมื่อใช้น้ำหมักในหม้อนึ่งเพียง 1 ลิตรเท่านั้น หากปริมาตรน้ำหมักในหม้อนึ่งเปลี่ยนไปอาจได้ค่าหน่วยไฟฟ้าที่ใช้ต่อน้ำหมัก 1 ลิตรเปลี่ยนไปด้วย ดังนั้นจึงไม่สามารถคิดหน่วยไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้อเทียบเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาตรน้ำหมักที่ใช้ได้ อย่างไรก็ตามแนวโน้มของต้นทุนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อวิธีที่ 1, 3 และ 4 ยังคงเป็นเหมือนเดิม

3.4 การหมักเอทานอลแบบกะในถังหมัก

การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด จำนวนเซลล์ยีสต์ และพีเอช ของน้ำหมักในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 3 เมื่อหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที พบว่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกับการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีเดียวกันที่หมักในระดับฟลาสก์ โดยรูปที่ 5 เปรียบเทียบการใช้น้ำตาลและการเกิดเอทานอลในระหว่างหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อวิธีที่ 3 ที่หมักในระดับฟลาสก์และในถังหมัก ซึ่งพบว่าความเข้มข้นเอทานอลของการหมักในระดับฟลาสก์มีค่าสูงกว่าเล็กน้อย ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นของการหมักในถังหมัก (167.07 กรัมต่อลิตร) มีค่าต่ำกว่าค่าน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นของการหมักในฟลาสก์ (171.13 กรัมต่อลิตร) ในขณะที่น้ำตาลเหลือที่เวลา 24 ชั่วโมงมีค่าใกล้เคียงกัน คือ 3.98 และ 3.28 กรัมต่อลิตร เมื่อหมักในระดับฟลาสก์และในถังหมัก ตามลำดับ

เมื่อคำนวณ P, Y_{ps} และ Q_p ของการหมักในถังหมักพบว่า มีค่าใกล้เคียงกับเมื่อหมักในฟลาสก์ คือมีค่า P 71.08 กรัมต่อลิตร (9.00 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) Y_{ps} 0.43 กรัมต่อกรัม และ Q_p 2.96 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ผลการทดลองที่ได้แสดง ให้เห็นว่าภาชนะและปริมาตรน้ำหมักที่ใช้ในการทดลองนี้ ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล

4. สรุปผลการทดลอง

การศึกษาวิธีการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* TISTR 5048 โดยแปรผันวิธีการฆ่าเชื้อ 6 วิธี พบว่า วิธีการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงสุดคือ การฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 70 องศาเซลเซียส 15 นาที โดยได้ความเข้มข้นเอทานอล 74.35 กรัมต่อลิตร (9.41 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) ผลได้ 0.44 กรัมต่อกรัม และอัตราผลผลิต 3.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการหมัก 24 ชั่วโมง และวิธีนี้มีต้นทุนการฆ่าเชื้ออยู่ในเกณฑ์ต่ำกว่าวิธีอื่นๆ (ยกเว้นวิธีที่ไม่ต้องฆ่าเชื้อ และการปรับพีเอช) คือ 1.67 บาท ต่อการฆ่าเชื้อน้ำหมัก 1 ลิตร และเมื่อขยายขนาดการหมักเอทานอลเป็นหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลใกล้เคียงกับเมื่อหมักในระดับฟลาสก์ ผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาการผลิตเอทานอลในห้องปฏิบัติการและใช้เป็นแนวทางในการฆ่าเชื้อวัตถุดิบในระดับอุตสาหกรรมได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (ทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2551) ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ประสิทธิ์ ใจศิล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน และศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (FerVAAP) มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์วัสดุและอุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

ประสิทธิ์ ใจศิล. 2547. การวิเคราะห์สถานการณ์พืช : พืชพลังงาน. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการการปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์พืช ครั้งที่ 17 เรื่อง ก้าวไปข้างหน้ากับการปรับปรุงพันธุ์พืชยุคใหม่ วันที่ 15-17 ธันวาคม 2547 ณ ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม.

ชัยรัตน์ โมไนยพงศ์. 2537. การพาสเจอร์ไรซ์น้ำองุ่น. **ไวน์ ไวน์ ไวน์.** กรุงเทพฯ : บริษัทโปรลายน์มีเดีย จำกัด.

โชคชัย วนภู, นันทกร บุญเกิด และ ลำไพ ดิษฐวิบูลย์. 2546. การทำไวน์ผลไม้. **คนทำไวน์ : Winemaker.** นครราชสีมา: สมบูรณ์พริ้นติ้ง.

ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน. 2545. การทำไวน์ผลไม้. **เรียนรู้การทำไวน์ผลไม้ด้วยตนเอง.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ :บริษัทบาร์โค้ดส์อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด.

วิไล รังสาดทอง. 2545. **เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัทเท็กซ์แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด.

เอทานอลชุมชน [ออนไลน์]. [อ้างเมื่อ 17 ธันวาคม 2552].เข้าถึงได้จากhttp://www.surathai.net/index.php

Ison, A.P. and Matthew, G.B. 1997. Measurement of biomass. In: Rhodes, P.M. and Stanbury, P.F. (eds) **Applied Microbial Physiology: A Practical Approach.** New York, Oxford University Press.

Laopaiboon, L., Thanonkeo, P., Jaisil, P. and Laopaiboon, P. 2007. Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048. **World J Microbiol Biotechnol** 23: 1497-1501.

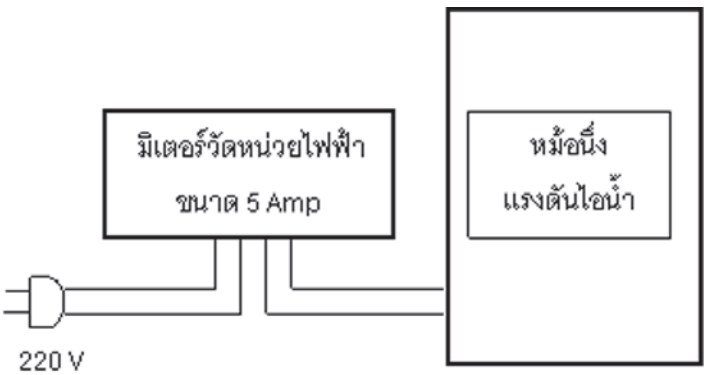
Laopaiboon, L., Nuanpeng, S., Srinophakun, P., Klanrit, P. and Laopaiboon, P. 2009. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology : Effects of carbon and nitrogen supplementations. **Bioresour Technol** 100: 4176-4182.

Mecozzi, M. 2005. Estimation of total carbohydrate amount in environmental samples by the phenol-sulphuric acid method assisted by multivariate calibration. **Chemom Intell Lab Syst** 79: 84-90.

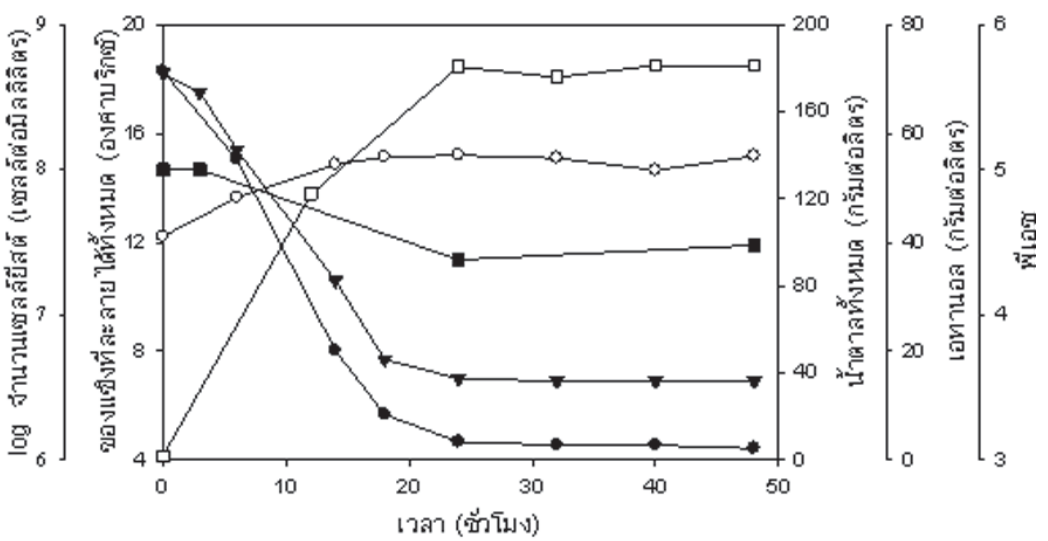
Roukas, T. 1996. Ethanol production from non-sterilized beet molasses by free and immobilized *Sacchromyces cerevisiae* cells using fed-batch culture. **J Food Eng** 27: 87-96.

Shen, H.Y., Schrijver, S.D., Moonjai, N., Verstrepen, K.J., Delvaux, F. and Delvaux, F.R. 2004. Effects of CO_2 on the formation of flavour volatiles during fermentation with immobilized brewer's yeast. **Appl Microbiol Biot** 64: 636-643.

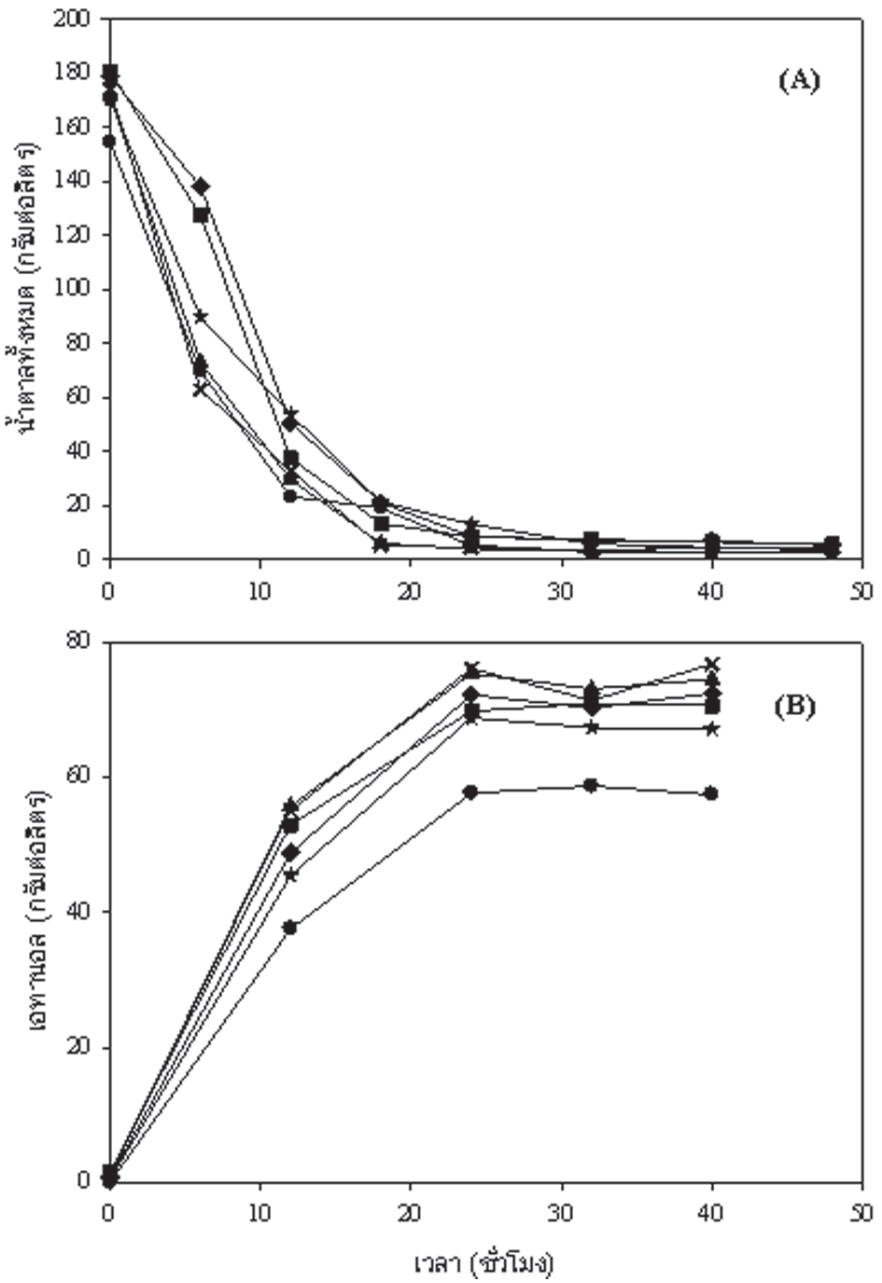
Zoecklien, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. 1995. Laboratory procedures. In : **Wine Analysis and Production.** Chapman & Hall, New York.



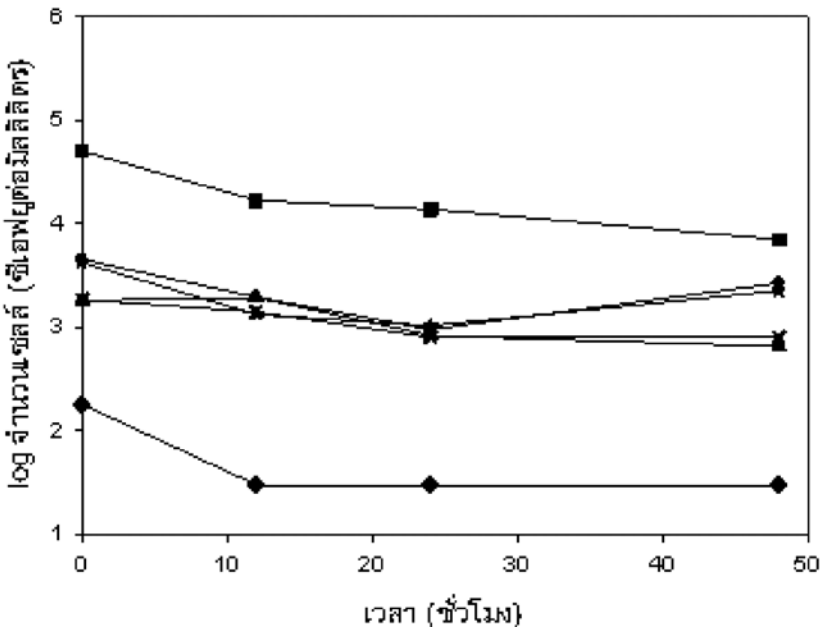
รูปที่ 1. แผนผังการต่อวงจรของหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำและมิเตอร์เพื่อวัดหน่วยไฟฟ้าที่ใช้



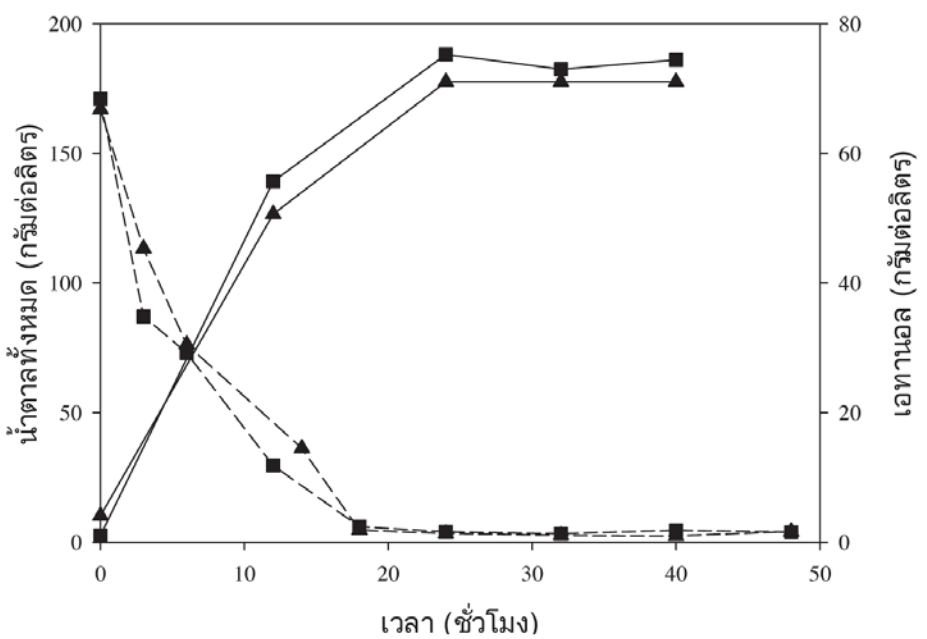
รูปที่ 2. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที (ชุดควบคุม) (▼ = ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ○ = จำนวนเซลล์ยีสต์, ● = น้ำตาลทั้งหมด, □ = เอทานอล และ ■ = พีเอช)



รูปที่ 3. การใช้น้ำตาล (A) และการผลิตเอทานอล (B) ในระหว่างการหมักเมื่อใช้น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ฆ่าเชื้อโดยวิธีต่างๆ (control = ◆, no treatment = ■, autoclave 70 °C = ▲, autoclave 90 °C = X, pH 4 = ★ และ KMS+pH 4 = ●)



รูปที่ 4. จำนวนแบคทีเรียในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อวิธีต่างๆ(control = ◆, no treatment = ■, autoclave 70 °C = ▲, autoclave 90 °C = X, pH 4 = ★ และ KMS+pH 4 = ●)



รูปที่ 5. การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลระหว่างการหมักในระดับฟลาสก์ (■) และในถังหมัก (▲) เมื่อใช้น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 70 องศาเซลเซียส 15 นาที

ตารางที่ 1. องค์ประกอบน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานก่อนและหลังการฆ่าเชื้อแต่ละวิธี

วิธีการฆ่าเชื้อ		TSS* (องศาบริกซ์)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	แบคทีเรีย (ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)
1	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 110 °ซ 15 นาที	18.2	178.53	5.00	$1.8x10^2$
2	ไม่มีการฆ่าเชื้อ (ก่อนการฆ่าเชื้อ)	17.8	180.70	5.01	$5.0x10^4$
3	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 70 °ซ 15 นาที	19.0	171.13	4.66	$1.8x10^3$
4	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 90 °ซ 5 นาที	19.0	173.89	4.60	$1.85x10^3$
5	ปรับพีเอชให้เป็น 4	17.5	172.11	3.92	$4.2x10^3$
6	เติม KMS 200 พีพีเอ็ม + ปรับพีเอชเป็น 4 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง	16.1	154.48	3.97	$4.5x10^3$

* ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ตารางที่ 2. ความเข้มข้น (P) ผลได้ (Y_{ps}) และอัตราผลผลิต (Q_p) ของเอทานอลที่เวลา 24 ชั่วโมง ของการหมักน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการฆ่าเชื้อ		P (กรัมต่อลิตร)	Y_{ps} (กรัมต่อกรัม)	Q_p (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
1	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 110 °ซ 15 นาที	71.44	0.42	2.98
2	ไม่มีการฆ่าเชื้อ	68.30	0.39	2.85
3	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 70 °ซ 15 นาที	74.35	0.44	3.10
4	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 90 °ซ 5 นาที	74.68	0.44	3.11
5	ปรับพีเอชให้เป็น 4	68.39	0.43	2.85
6	เติม KMS 200 พีพีเอ็ม + ปรับพีเอชเป็น 4 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง	57.58	0.38	2.40

ตารางที่ 3. หน่วยไฟฟ้าที่ใช้ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ ของการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ 110 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที โดยใช้ปริมาตรน้ำหมัก 1 ลิตร

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความดัน (ปอนด์ต่อตารางนิ้ว)	เวลาที่ใช้* (นาที)	หน่วยไฟฟ้าที่ใช้* (กิโลวัตต์ชั่วโมง)
30 – 110	0 – 0.64	31	0.75
110	0.64	15	0.10
110 - 50	0.64 - 0	75	0.10

*เป็นค่าที่ได้จากการทดลอง 5 ครั้ง

ตารางที่ 4. ต้นทุนในการฆ่าเชื้อน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน 1 ลิตร ด้วยวิธีต่างๆ ก่อนนำไปหมักเพื่อผลิตเอทานอล

	วิธีการฆ่าเชื้อ	หน่วยไฟฟ้ารวมที่ใช้ (กิโลวัตต์ชั่วโมง)	เวลารวมที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ (นาที)	ต้นทุนในการฆ่าเชื้อ (บาท)
1	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 110 °ซ 15 นาที	0.95	121	2.84
2	ไม่มีการฆ่าเชื้อ	0	0	0
3	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 70 °ซ 15 นาที	0.56	58	1.67
4	หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 90 °ซ 5 นาที	0.70	75	2.09
5	ปรับพีเอชให้เป็น 4*	0	10	1.6
6	เติม KMS 200 พีพีเอ็ม + ปรับพีเอชเป็น 4 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง**	0	1440	1.92

* ใช้กรดไฮโดรคลอริก 37% ชนิด AR grade (Labscan ประเทศ Ireland)

** ใช้ KMS ($K_2S_2O_5$) 95.0% ชนิด AR grade (Ajax ประเทศ Australia)