



รายงานการวิจัย

การพัฒนาระบบการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมโดยจุลินทรีย์ SUTSP1
(Development of Ethanol production system
from mixed gas by SUTSP1)



ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การพัฒนาระบบการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมโดยจุลินทรีย์ SUTSP1
(Development of Ethanol production system
from mixed gas by SUTSP1)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผศ.ดร. สิริภรณ์ โพธิวิษยานนท์

สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม

สำนักวิชาสาธารณสุขศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กันยายน 2561

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2556 ซึ่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ได้ให้โอกาสและให้การสนับสนุนแก่คณะวิจัยในการศึกษาวิจัย ทำให้งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ท้ายนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานการวิจัยฉบับนี้จะประโยชน์และเป็นแนวทางหนึ่งในการนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์แก่วงการวิจัย และเกิดประโยชน์ต่อการผลิตพลังงานของประเทศไทยต่อไป

คณะผู้วิจัย



บทคัดย่อ

การศึกษาระบบการผลิตเอทานอลหรือ EthaRex ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ *Geobacillus stearothermophilus* SUTSP1 และ *Petrobacter* sp. SUTSP5 ในการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ โดยมีก๊าซไฮโดรเจนเพิ่มในระบบหรือ Syngas รวมทั้งศึกษาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยระบบดังกล่าว ผลการศึกษาเบื้องต้นสำหรับการทดสอบในขวดทดลองเมื่อสภาวะความเข้มข้นของก๊าซผสม $\text{CO}_2:\text{CO}:\text{H}_2$ ที่ 30:50:60 % โดยปริมาตร เปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth และ Enrichment medium ที่มีจุลินทรีย์บริสุทธิ์แต่ละชนิด 10% โดยปริมาตร ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจุลินทรีย์ SUTSP1 สามารถผลิตเอทานอลในสภาวะอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth ได้ 7.7795% โดยปริมาตร ขณะที่จุลินทรีย์ SUTSP5 ผลิตเอทานอลได้มากถึง 38.7602% โดยปริมาตร คิดเป็น 305.8180 g/L ในสภาวะเดียวกัน จากผลดังกล่าวจึงได้คัดเลือกจุลินทรีย์ SUTSP5 ที่มีความสามารถสูงสำหรับการพัฒนาระบบ EthaRex โดยทำการศึกษาระบบเบื้องต้นในสภาวะดังกล่าว ผลการทดสอบพบว่า ระบบสามารถผลิตเอทานอลได้ดีเมื่อมีความเข้มข้นของก๊าซผสม $\text{CO}_2:\text{CO}:\text{H}_2$ ที่ 30:50:20 % โดยปริมาตร และจุลินทรีย์ SUTSP5 20% โดยปริมาตร จากนั้นทำการศึกษาระบบต่อเนื่องเป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าระบบ EthaRex สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุด 22.4839% โดยปริมาตร คิดเป็นเอทานอลเข้มข้น 177.3980 g/L ภายในชั่วโมงที่ 48 ของการศึกษา ดังนั้นกล่าวได้ว่าระบบ EthaRex มีความสามารถสูงในการผลิตเอทานอลเมื่อมีจุลินทรีย์และสภาวะของระบบที่เหมาะสม

คำสำคัญ (keywords): เอทานอล (Ethanol) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide) ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (Carbon monoxide) ก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen) ระบบการผลิตเอทานอล (EthaRex system) จุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอล (Ethanol producing microorganisms)

Abstract

Ethanol production system or EthaRex was studied. This research aims to develop the ability of the microorganisms *Geobacillus stearothermophilus* SUTSP1 and *Petrobacter* sp. SUTSP5 for ethanol production from carbon dioxide, carbon monoxide, and also hydrogen as the additional gas or syngas and also to study the appropriate parameters for ethanol production from these syngas. Preliminary studies in serum bottles were set at the condition of CO₂:CO:H₂ ratio 30:50:60% by volume, microbial culture in nutrient broth or enrichment medium with 10% of microbe and operated 72 hours continuously. It was found that SUTSP1 produced 7.77.95% by volume of ethanol in nutrient broth whereas SUTSP5 achieved the higher concentration of ethanol that was 38.7602% by volume or 305.8180 g/L during the same condition. As a result, the highest capability microbe, SUTSP5 cultured in nutrient broth were thoroughly selected for the enhancement of the EthaRex system. The preliminary tests of this system were performed with various conditions and found that the optimum conditions were CO₂:CO:H₂ ratio 30:50:20% by volume and SUTSP5 was 20% by volume. When the system was operated 96 hours continuously, it also found that this was able to produce ethanol 22.4839% by volume or 177.3980 g/L at 48 hours of study. Therefore, the EthaRex system was highly capable for producing ethanol in the appropriate conditions of microbes and system.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
คำอธิบายสัญลักษณ์	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ทฤษฎีและแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	3
2.1 สถานการณ์เอทานอลโลก	3
2.2 เอทานอล	4
2.3 เทคโนโลยีและกระบวนการผลิตเอทานอล	5
2.3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล	5
2.3.2 กระบวนการการผลิตเอทานอล	8
2.3.3 กระบวนการหมักเอทานอล	16
2.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล	18
2.3.5 ประโยชน์ของเอทานอล	21
2.3.6 ผลกระทบของเอทานอลต่อสุขภาพอนามัย	22
2.4 ก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen, H ₂)	23
2.5 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide, CO ₂)	24
2.5.1 ลักษณะของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.2 ประโยชน์ของคาร์บอนไดออกไซด์	24
2.5.3 ผลกระทบของคาร์บอนไดออกไซด์	25
2.6 ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (Carbonmonoxide, CO)	25
2.6.1 ลักษณะของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์	26
2.6.2 ประโยชน์ของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์	26
2.6.3 ผลกระทบของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์	27
2.7 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	30
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	32
3.1 รูปแบบการวิจัย	32
3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย	32
3.2.1 จุลินทรีย์ในการทดลอง	32
3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	32
3.3 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	33
3.4 การศึกษาการผลิตเอทานอล	33
3.4.1 การผลิตเอทานอลเบื้องต้น	33
3.4.2 การพัฒนาระบบการผลิตเอทานอล	34
3.4.3 การวิเคราะห์ผล	36
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	38
4.1 การศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์	38
4.2 การศึกษาการผลิตเอทานอลของ SUTSP1 และ SUTSP5	41
4.2.1 การศึกษาการผลิตเอทานอลเบื้องต้น	41
4.2.2 การผลิตเอทานอลด้วยระบบผลิตเอทานอลจากก๊าซผสม	46
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	53
5.1 การพัฒนาการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยจุลินทรีย์ ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอล	53
5.2 พารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยระบบ EthaRex	53
5.3 ข้อเสนอแนะ	54

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม	55
ภาคผนวก	59
ประวัติผู้วิจัย	101



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2-1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาการผลิตเอทานอล	29
ตารางที่ 3-1 สภาวะและตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย	36
ตารางที่ 4-1 จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ <i>Petrobacter</i> sp. SUTSP5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด	39
ตารางที่ 4-2 จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ SUTSP5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด	40
ตารางที่ 4-3 ผลการทดสอบเบื้องต้นในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมของ SUTSP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน	42
ตารางที่ 4-4 ผลการทดสอบเบื้องต้นในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยจุลินทรีย์ SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน	44
ตารางที่ 4-5 ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้จากการทดสอบระบบ EthaRex เบื้องต้นที่มีจุลินทรีย์ 10 และ 20% ก๊าซผสม 30:50:20 %โดยปริมาตร	48
ตารางที่ 4-6 ความเข้มข้นของเอทานอลในระบบ EthaRex ที่สภาวะจุลินทรีย์ 20% ก๊าซผสม 30:50:20 %โดยปริมาตร	50
ตารางที่ 4-7 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาการผลิตเอทานอล และผลผลิตที่เกิดขึ้นจากการศึกษา	52

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2-1 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบทางการเกษตร	7
ภาพที่ 2-2 การเกิดเอทานอลจากกระบวนการเกิดก๊าซหรือก๊าซสังเคราะห์ และกระบวนการหมัก	14
ภาพที่ 2-3 กระบวนการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์	15
ภาพที่ 2-4 แบบจำลองการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมโดยจุลินทรีย์	31
ภาพที่ 3-1 แบบจำลองระบบการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมทั้ง 3 ชนิดโดยจุลินทรีย์ SUTSP1 (1. CO ₂ gas; 2. CO gas; 3. H ₂ gas; 4. Flow meter; 5. Regulator; 6. 3-way connector tank; 7. Ethanol bioreactor; 8. Peristaltic pump; 9. Recirculation tank)	34
ภาพที่ 3-2 ระบบการผลิตเอทานอล (EthaRex system)	35
ภาพที่ 4-1 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ SUTSP1 ในช่วงระยะเวลา 7 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)	39
ภาพที่ 4-2 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ SUTSP5 ในช่วงระยะเวลา 7 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)	40
ภาพที่ 4-3 ความเข้มข้นของเอทานอลโดยใช้ก๊าซผสม เมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ SUTSP1 ในอาหาร Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)	43
ภาพที่ 4-4 ความเข้มข้นของเอทานอลโดยใช้ก๊าซผสมเมื่อเพาะเลี้ยง SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)	44
ภาพที่ 4-5 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตจากจุลินทรีย์ SUTSP1 และ SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB)	46
ภาพที่ 4-6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้จากระบบ EthaRex ปริมาณของจุลินทรีย์ และค่าความเป็นกรดต่าง	51

คำอธิบายสัญลักษณ์

ATP	=	Adenosine triphosphate
CFU/ml	=	Colony Forming Unit per Milliliter
HbCO	=	Carboxyhemoglobin
ml/min	=	Milliliter per minute
m ³	=	Cubic meter
M	=	Molarity (mol/L)
MTBE	=	Methyl Tertiary Butyl Ether
GC-FID	=	Gas Chromatography-Flame Ionization Detector



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

การศึกษาพัฒนาอย่างต่อเนื่องโดยนำเอทานอล (Ethanol) ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ (Biofuel) ชนิดหนึ่งมาใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมที่ใช้สำหรับรถยนต์ เรียกว่า แก๊สโซฮอลล์ (Gasohol) (Reed and Nagodawithana, 1991) นั้น ในหลายประเทศได้มีพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากชีววิถีทำให้ได้ไบโอเอทานอล (Bio-ethanol) ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากกระบวนการหมักน้ำตาลจากชีวมวล (Biomass) ได้แก่ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง หรือกากน้ำตาล (Dien et al., 2003; Roble et al., 2003; Georgieva and Ahring, 2007) ด้วยจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* หรือแบคทีเรีย เช่น *Zymomonas mobilis*, *Clostridium thermocellum*, *E. coli* เป็นต้น (Zeikus, 1980; Alterthum and Ingram, 1989; Weuster-Botz., 1993; Lynd et al., 2002; Demain et al., 2005)จากกระบวนการดังกล่าวทำให้เกิดความต้องการข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง หรือกากน้ำตาล จำนวนมากเพื่อให้ทันต่อความต้องการในการผลิตเอทานอล (Baker and Zahner, 2006) ซึ่งการผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมักดังกล่าวต้องผ่านกระบวนการมากมายหลายขั้น เช่น การคัดเลือกชีวมวลที่ทำให้เกิดน้ำตาลปริมาณสูง การแปรรูปทางกายภาพและทางเคมี (Size reduction and chemical pretreatment) กระบวนการหมักต่างๆ (Fermentation) เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาลและเป็นเอทานอล จึงทำให้เกิดแนวคิดใหม่ในการนำก๊าซที่ปล่อยจากกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมหรือในการเผาไหม้ซึ่งเป็นปัญหาทำให้เกิดมลพิษทางอากาศ ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ มาใช้ในการผลิตเอทานอล (Demirbas et al., 2002) เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเกิดพลังงานทดแทนในรูปของเอทานอลและทำให้ลดมลพิษทางอากาศที่เกิดจากอุตสาหกรรมต่างๆ ได้อีกด้วย ซึ่งกระบวนการที่ทำให้ก๊าซคาร์บอนนี้เปลี่ยนไปเป็นพลังงานเชื้อเพลิงนั้นมีหลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นวิธีทางเคมี (Chemical catalysts) โดยใช้ตัวกระตุ้น (Activators) หรือวิธีทางชีวภาพ (Biological conversion) อย่างไรก็ตามวิธีทางเคมีนั้นยังไม่มีประสิทธิภาพมากพอในการผลิตเอทานอล (Stiles et al., 1991) ส่วนวิธีทางชีวภาพทำให้ทั่วโลกสามารถผลิตเอทานอลได้ประมาณ $48.7 \times 10^6 \text{ m}^3$ ต่อปี โดยเฉพาะประเทศบราซิลและสหรัฐอเมริกา มีความสามารถในการผลิตได้ถึง 72.6% ของทั่วโลก ขณะที่ประเทศไทย ผลิตได้เพียง 0.72% เท่านั้น (RFA, 2007) ดังนั้นการนำก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาผลิตเป็นเอทานอลด้วยวิธีทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการทำให้เกิดเชื้อเพลิงชีวภาพมากขึ้น ขณะเดียวกันการนำก๊าซไฮโดรเจนซึ่งเป็นพลังงานสะอาดชนิดหนึ่งมาเป็นสารตั้งต้นร่วมในการผลิตเอทานอลอาจมีส่วนช่วยทำให้เกิดปริมาณเอทานอลมากขึ้นได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อพัฒนาการผลิตเอทานอลจากจุลินทรีย์ SUTSP1 และ SUTSP5 ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสม
- 1.2.2 เพื่อศึกษาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยระบบ EthaRex

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1.3.1 จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการผลิตเอทานอลได้แก่จุลินทรีย์ SUTSP1 รวมทั้ง SUTSP5 ซึ่งได้จากการคัดแยก หาสายพันธุ์และทดสอบการผลิตเอทานอลแล้วจากงานวิจัยเรื่อง การผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์โดยเชื้อจุลินทรีย์ (สิริภรณ์และคณะ, 2553)
- 1.3.2 พัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมซึ่งได้แก่คาร์บอนทั้ง 2 ชนิดและก๊าซไฮโดรเจนเป็นก๊าซที่สังเคราะห์ขึ้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 เป็นทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จากก๊าซมลพิษร่วมกับก๊าซไฮโดรเจนมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตด้วยจุลินทรีย์
- 1.4.2 สามารถนำจุลินทรีย์และระบบการผลิตเอทานอลที่ศึกษาวิจัยเป็นแนวทางให้แก่ภาคอุตสาหกรรมที่มีการปล่อยก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งนำก๊าซไฮโดรเจนซึ่งเป็นพลังงานสะอาดนำไปประยุกต์ใช้โดยการนำก๊าซดังกล่าวไปผลิตเอทานอลต่อไป
- 1.4.3 เป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้แก่ภาคอุตสาหกรรมในการลดมลพิษที่เกิดจากก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
- 1.4.4 เขียนบทความเพื่อเผยแพร่ผลการวิจัย หรือตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารทางด้านพลังงาน และสิ่งแวดลอม

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

จากปัญหาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) อันเกิดขึ้นจากการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซเรือนกระจกอื่น ๆ ออกสู่บรรยากาศโลกของมนุษย์ มีแนวโน้มทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น การพัฒนาการนำก๊าซที่ปล่อยจากกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมหรือในการเผาไหม้ ซึ่งเป็นปัญหาทำให้เกิดมลพิษทางอากาศ ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ มาใช้ในการผลิตเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ (Abubackar et al., 2015; Liew et al., 2016; Elizondo et al., 2017; Phillips et al., 2017) จึงมีความจำเป็นและควรพัฒนาให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเกิดพลังงานทดแทนในรูปของเอทานอลและทำให้ลดมลพิษทางอากาศที่เกิดจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ และตอบสนองต่อความต้องการเอทานอลของโลก คาดว่าจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งในกระบวนการวิจัยนั้นมียุทธศาสตร์ความรู้ประกอบการศึกษา มีรายละเอียดดังนี้

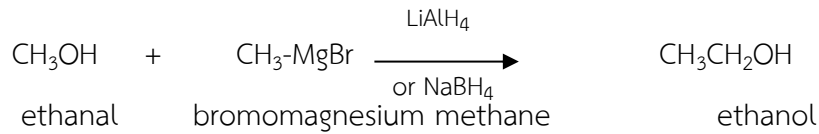
- 2.1 สถานการณ์เอทานอลโลก
- 2.2 เอทานอล
- 2.3 เทคโนโลยีและกระบวนการผลิตเอทานอล
- 2.4 ก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen, H₂)
- 2.5 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide, CO₂)
- 2.6 ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (Carbonmonoxide, CO)
- 2.7 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

2.1 สถานการณ์เอทานอลโลก

ในปี 2560 การผลิตเอทานอลของโลกมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จาก 98.4 พันล้านลิตร เป็น 99.7 พันล้านลิตร และคาดการณ์ว่าจะยังคงอยู่ต่ำกว่าระดับสถิติปี 2558 ที่ 99.9 พันล้านลิตร ซึ่งลดลงจากเดิม เนื่องจากบราซิลมีผลผลิตลดลง จำนวน 1 พันล้านลิตร แต่จะชดเชยจากการผลิตที่เพิ่มขึ้นของสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป จีน และไทย มีการคาดการณ์ว่าการบริโภคเอทานอลโลกจะมีการเติบโตอย่างจำกัดในปี 2560 โดยเพิ่มขึ้นจากปี 2559 ที่ 97.8 พันล้านลิตรเป็น 98.2 พันล้านลิตร ซึ่งยังคงต่ำกว่าระดับสถิติที่บันทึกได้ในปี 2558 ที่ 98.5 พันล้านลิตร โดยพบว่าการบริโภคในสหรัฐฯ เพิ่มขึ้น จากนโยบาย RFS ที่สนับสนุนให้มีการบริโภคเอทานอลเพิ่มขึ้น ซึ่งชดเชยจากการคาดการณ์จากบราซิลว่าจะหดตัว 0.9 พันล้านลิตร ส่วนการบริโภคที่เพิ่มขึ้นมีจำนวนเล็กน้อยในประเทศต่าง ๆ

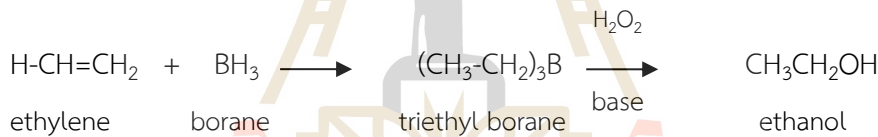
4) การสังเคราะห์เอทานอลจากปฏิกิริยาระหว่างเมทานอลกับกรีนาร์รีเอเจนต์

กรีนาร์รีเอเจนต์เกิดจากอัลคิลเฮไลด์ทำปฏิกิริยาแมกนีเซียมใน anhydrous diethyl ether จะได้อัลคิลแมกนีเซียมเฮไลด์ (Alkylmagnesium halide) ซึ่งเป็นกรีนาร์รีเอเจนต์ โดยอัลคิลแมกนีเซียมเฮไลด์จะทำปฏิกิริยากับเมทานอลได้เป็นเอทานอล

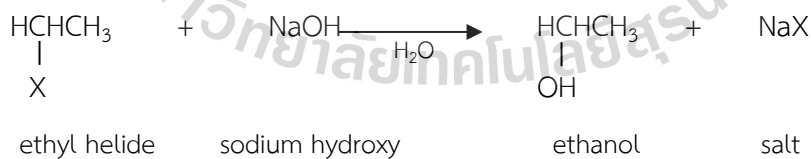


5) การสังเคราะห์เอทานอลจากปฏิกิริยาไฮโดรเรชันของเอทิลีน (Ethylene)

เป็นปฏิกิริยาระหว่างเอทิลีน (Ethylene) กับไฮโดรด์ของโบรอน ที่เรียกว่า โบรอน BH_3 (ไดเมอร์ของโบรอน คือ B_2H_6 ซึ่งเรียกว่า ไดโบรอน) จะให้สารประกอบ 3 ไตรอัลคิลโบรอน ซึ่งเมื่อนำไปออกซิไดซ์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะได้เอทานอล



6) การสังเคราะห์เอทานอลจากการไฮโดรไลซิสเอทิลเฮไลด์ (Ethyl helide; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{X}$) โดยเกิดปฏิกิริยาในสถานะที่เป็นต่าง



ข้อดีและข้อเสียของการสังเคราะห์เอทานอลโดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมี

1) ข้อดี

- ปฏิกิริยาเกิดได้รวดเร็วและให้ความถูกต้องที่สามารถคำนวณได้อย่างใกล้เคียงหรือแน่นอน
- ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูงภายหลังเกิดปฏิกิริยา
- มีปฏิกิริยาในการสังเคราะห์เอทานอลหลากหลายวิธี

2.2 เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH⁻ group) ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน มีสูตรเคมี C₂H₅OH เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งเป็นของเหลวไม่มีสีจุดไฟติดระเหยง่าย น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 46.07 จุดเดือดประมาณ 78 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว -115 องศาเซลเซียส ความหนาแน่นที่ 20 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.789 g/cm³ ให้ค่าพลังงานความร้อน (Calorific value) โดยการเผาไหม้ประมาณ 12,800 บีทียูต่อปอนด์ เป็นของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยง่ายจุดไฟติด ละลายในน้ำและสารอินทรีย์อื่น ๆ ได้ดี ติดไฟง่าย ให้เปลวไฟสีน้ำเงินที่ไม่มีควัน และปกติสามารถรวมตัวกับน้ำ อีเทอร์ หรือคลอโรฟอร์มได้ทุกส่วน เป็นแอลกอฮอล์ที่สามารถนำมาบริโภค นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิง ในรูปเอทานอลไร้ น้ำ (Anhydrous ethanol) ที่มีความบริสุทธิ์สูง (เข้มข้นร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร) หรืออาจใช้เป็นเอทานอลที่มีน้ำ (hydrous ethanol) เอทานอลเกิดจากการหมักพืชเพื่อเปลี่ยนแปลงจากพืชเป็นน้ำตาล แล้วเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ เมื่อทำให้เป็นแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 95% โดยการกลั่นจะเรียกว่าเอทานอล (Ethanol) ซึ่งสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ได้จัดแบ่งประเภทของเอทานอลเป็น 4 ประเภท ได้แก่ Denatured alcohol, Fine alcohol, Industrial alcohol, และ Absolute alcohol โดยแต่ละประเภทจะถูกนำไปใช้ประโยชน์แตกต่างกันไป ประโยชน์ใช้สอยของ เอทานอลจึงมีหลายประการ เช่น ใช้เป็นเครื่องต้มแอลกอฮอล์ ใช้ในการผลิตยา ใช้เป็นตัวทำละลายในการผลิตผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมหลายชนิด ใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์สารเคมีและสารชีวเคมี ใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อขับเคลื่อนเครื่องยนต์ เอทานอลที่นำไปผสมในน้ำมันเพื่อใช้เติมเครื่องยนต์เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์ตั้งแต่ 99.5% โดยปริมาตรซึ่งสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ และใช้เป็นสารเพิ่มออกเทนให้แก่ น้ำมันเบนซินสำหรับรถยนต์ การนำเอาเอทานอลไปใช้นั้นสามารถนำไปใช้ได้หลายทางดังนี้

1. แอลกอฮอล์ ที่ใช้รับประทานได้โดยตรง (Portable Alcohol) ส่วนใหญ่จะถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมสุรา เครื่องสำอางค์ และยา

2. แอลกอฮอล์ ที่ไม่ใช้รับประทานโดยตรง (Industrial Alcohol) เช่น กรดอะซิติก หรือ กรดน้ำส้ม กรดมะนาว ที่สามารถนำไปใช้ต่อในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องต้ม อุตสาหกรรมทางการแพทย์ และนอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้ ในอุตสาหกรรมเส้นใย และโลหะ

3. แอลกอฮอล์ ที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงมีความบริสุทธิ์สูงร้อยละ 95 หรือร้อยละ 99.5-99.6 แอลกอฮอล์ ที่มีความบริสุทธิ์ แตกต่างกันนี้ สามารถนำมาใช้ทำเป็นเชื้อเพลิงได้ 3 แบบ คือ

3.1 แอลกอฮอล์ บริสุทธิ์ร้อยละ 95 ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมัน เบนซิน หรือดีเซล ใช้กับเครื่องยนต์ ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง

3.2 แอลกอฮอล์ บริสุทธิ์ร้อยละ 99.5-99.6 เมื่อผสมกับน้ำมันเบนซิน จะเรียกกันว่า แก๊ซโซฮอล์โดยที่แก๊ซโซฮอล์ 95 หมายถึงการผสมน้ำมันเบนซิน 95 กับเอทานอล ในสัดส่วน 9:1 โดยที่ยังรักษาค่าออกเทนไว้ได้ในระดับเดิม สัดส่วนการผสมเอทานอล กับน้ำมันนั้น มีใช้กันอยู่ หลายประเภท ในหลากหลายประเทศ E85 เป็นชื่อที่เรียก เชื้อเพลิงที่ได้จากการผสม น้ำมันกับเอทานอล โดยมีสัดส่วนของเอทานอล สูงถึงร้อยละ 85 และมีค่าออกเทนสูง มีใช้กันในประเทศในแถบ บราซิล อเมริกา และ ยุโรป อย่างไรก็ตาม น้ำมันชนิดนี้ไม่สามารถใช้กับเครื่องยนต์ รุ่นส่วนใหญ่ที่ใช้อยู่ในประเทศไทย เนื่องจากต้องเป็นเครื่องยนต์ที่มีเครื่องยนต์ ที่ทนต่อการกัดกร่อนสูงกว่าปกติ ดังนั้นในการใช้น้ำมันชนิดนี้ จึงจำเป็นต้องใช้เวลาในการเตรียมความพร้อมทั้งในด้านของผู้ใช้เครื่องยนต์ และรวมถึงผู้จำหน่ายน้ำมันที่ต้องคำนึงถึงกระบวนการผลิตและขั้นตอนการจัดจำหน่าย (Electricity and Industry Magazine)

3.3 เป็นสารเคมีที่ช่วยเพิ่มค่าออกเทน ในน้ำมันโดยการเปลี่ยนรูป เอทานอล เป็น ETBE (Ethyl Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่ง MTBE เป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้เนื่องจากก่อให้เกิดมลภาวะในอากาศที่สูงกว่าสารเติมแต่งอื่น ๆ

2.3 เทคโนโลยีและกระบวนการผลิตเอทานอล

2.3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1) วัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Saccharide material) ได้แก่ อ้อยและกากน้ำตาล ซึ่งจะนำเข้าสู่กระบวนการผลิตเอทานอลได้โดยตรงโดยไม่ผ่านกระบวนการใดๆ ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้จะมีน้ำตาลซูโครส (Sucrose) เป็นองค์ประกอบหลัก

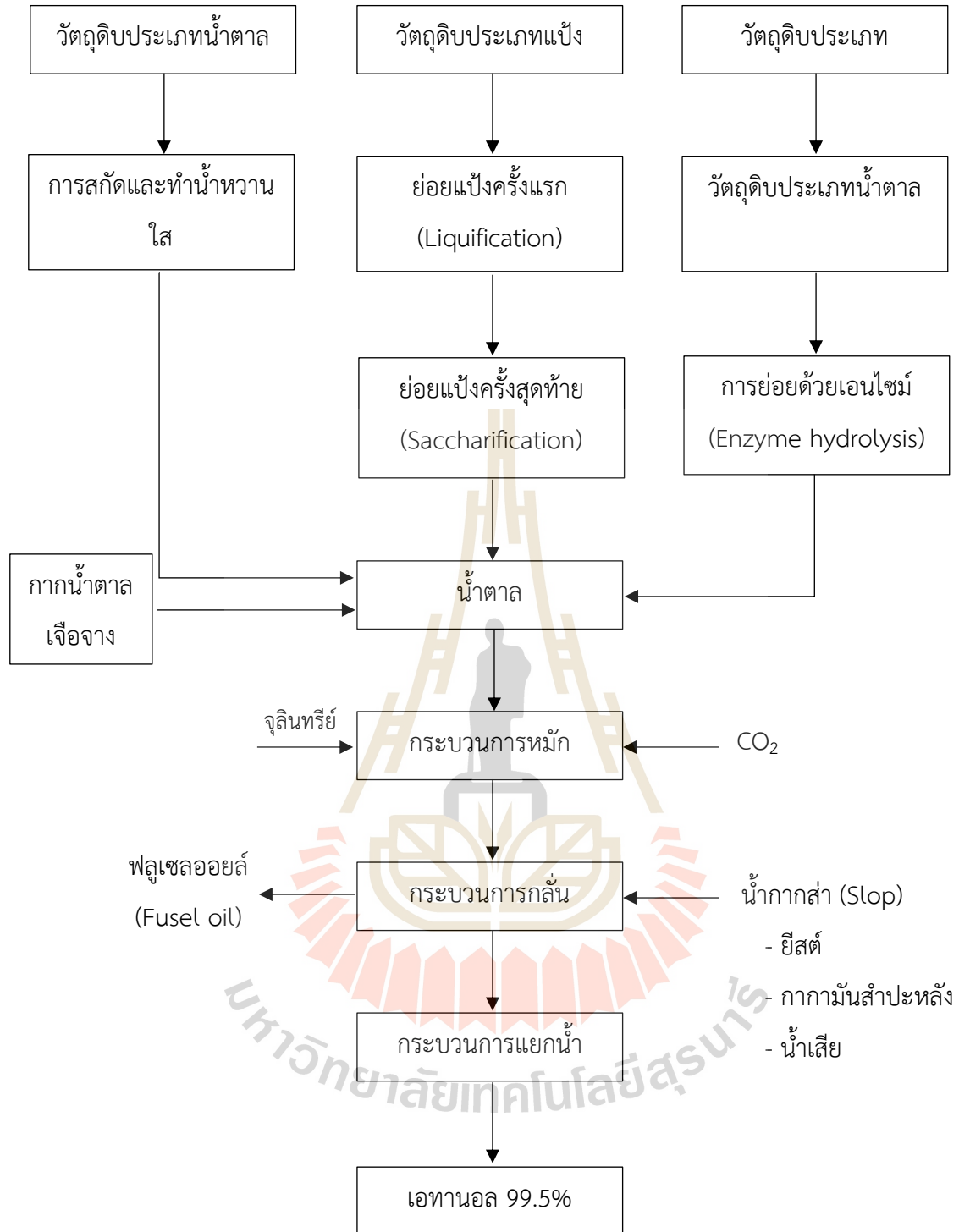
2) วัตถุดิบประเภทแป้ง (Starchy material) ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี และมันสำปะหลัง โดยแป้งจะเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส โดยที่ก่อนจะนำเข้าสู่กระบวนการผลิตเอทานอล สารจำพวกแป้งจะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารจำพวกน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวโดยการย่อยของเอนไซม์ (Enzymatic hydrolysis) ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมัก ซึ่งการย่อยแป้งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

1) การทำให้เหลว (liquefaction) ขั้นตอนนี้จะใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะไมเลส (α -amylase) ย่อยแป้งที่อุณหภูมิประมาณ 100-105 องศาเซลเซียส ให้ได้โมเลกุลขนาดเล็กลงและมีความหนืดลดลง ของเหลวที่ได้จะมีค่าสมมูลเดกซ์โทรส (Dextrose equivalent : DE) อยู่ในช่วงร้อยละ 10-15 เรียกว่า มอลโตเดกซ์ทริน (Maltodextrin)

2) การทำให้หวาน (Saccharification) สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งควรมีค่าสมมูลเด็กซ์โทรส (Dextrose equivalent : DE) สูง ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เข้าไปย่อยให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพื่อนำเข้าสู่กระบวนการหมักต่อไป

3) วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) วัตถุดิบกลุ่มนี้จะเป็นผลิตผลพลอยได้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ชังข้าวโพด และของเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และ ลิกนิน (Lignin) เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาวในรูปของผลึก ซึ่งก่อนเข้าสู่กระบวนการผลิตเอทานอลจะต้องถูกเปลี่ยนไปเป็นสารจำพวกน้ำตาลเสียก่อน โดยกระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบทางการเกษตรแสดงดังภาพที่ 2-1





ภาพที่ 2-1 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบทางการเกษตร

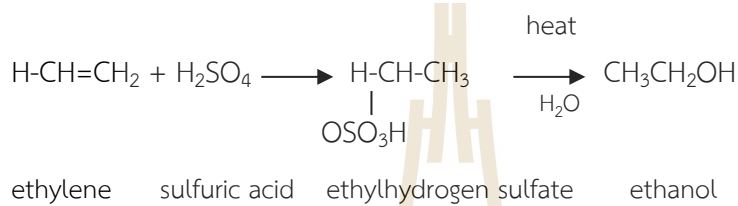
2.3.2 กระบวนการการผลิตเอทานอล

การผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

2.3.2.1 การผลิตเอทานอลทางเคมี

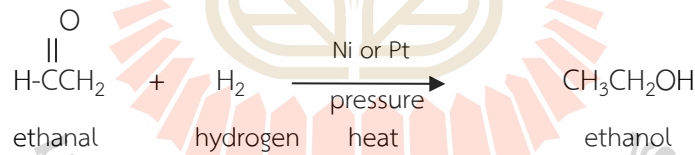
ปฏิกิริยาทางเคมีในการสังเคราะห์เอทานอล มีดังนี้

1) การสังเคราะห์เอทานอลจากปฏิกิริยาการเติมน้ำให้กับเอทิลีน (Ethylene) โดยเป็นการไฮเดรชันเอทิลีนด้วยกรดซัลฟูริก ผลผลิตที่เกิดขึ้นคือ เอทิลไฮโดรเจนซัลเฟต ซึ่งเมื่อนำไปไฮโดรไลซ์ด้วยน้ำร้อนจะได้เอทานอล ดังสมการ



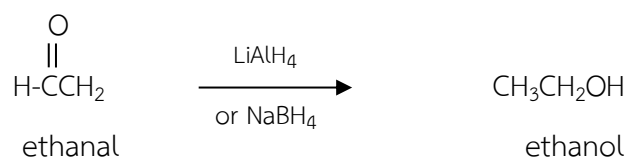
2) การสังเคราะห์เอทานอลโดยการเติมไฮโดรเจนให้กับอัลดีไฮด์

การสังเคราะห์โดยวิธีนี้ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้ที่ความร้อนและความดันสูงโดยมีนิกเกิล (Nickel) และแพลตตินัม (Platinum) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ดังปฏิกิริยารีดักชันของเอทานาลไปเป็นเอทานอล



3) การสังเคราะห์เอทานอลจากปฏิกิริยารีดักชันของสารเอทานาลด้วยไฮโดรด์

โดยจะใช้ลิเทียมอะลูมิเนียมไฮไดรด์ (LiAlH₄) หรือโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH₄) เป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent)



- ใช้การดูแลเอาใจใส่ไม่ยาวนานเหมือนการหมักเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ที่ต้องรักษาสภาพที่เหมาะสมในระหว่างกระบวนการหมัก

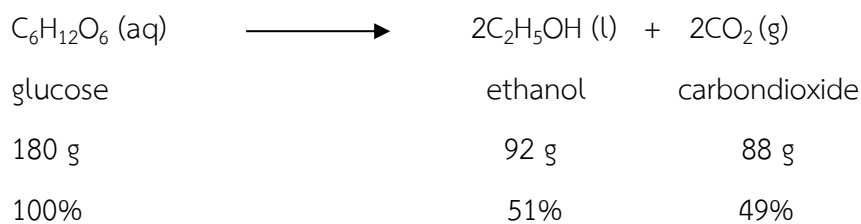
2) ข้อเสีย

- ต้องใช้สารเคมีที่จำเพาะมากเป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์เอทานอล และสารเคมีที่จำเพาะนั้นมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรม

- เอทานอลที่ได้มีสารเคมีตัวอื่นๆ ปนมาในระหว่างกระบวนการสังเคราะห์ ซึ่งสารเหล่านั้นมีอันตราย กฎหมายจึงไม่อนุญาตให้นำเอทานอลจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีไว้รับประทานหรือใช้กับสิ่งมีชีวิตภายในร่างกาย

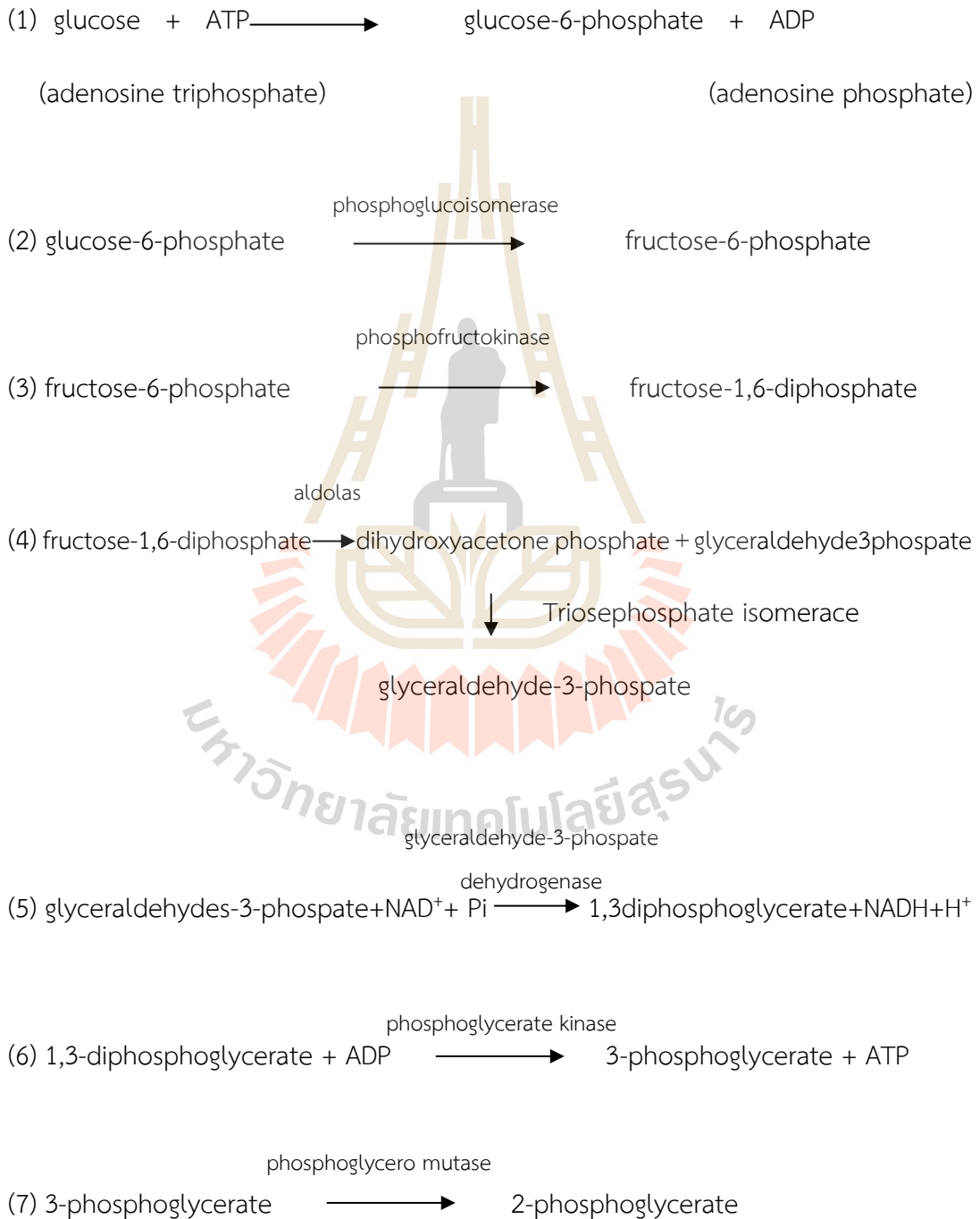
2.3.2.2 การผลิตเอทานอลทางชีวภาพ

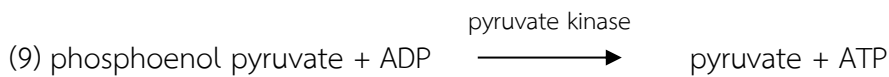
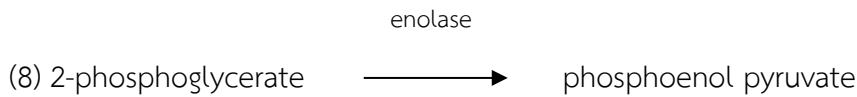
กระบวนการผลิตทางชีวภาพเป็นกระบวนการที่ใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการใช้คาร์โบไฮเดรตในการเจริญ แล้วให้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งจุดประสงค์ประการหนึ่งของการผลิตเอทานอลทางชีวภาพ คือ ต้องการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (ที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบสูง) นำกลับมาใช้ให้ก่อประโยชน์ทางเศรษฐกิจ โดยในทางทฤษฎีจากกระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ เมื่อน้ำตาลถูกใช้โดยยีสต์ น้ำตาลจะถูกนำเข้าสู่เซลล์แล้วถูกย่อยสลายโดยวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pathway) หรือผ่านวิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) โดยไม่มีการใช้ออกซิเจนในถึงปฏิกิริยาแล้วให้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไพรูวิก 2 โมเลกุล ซึ่งกรดไพรูวิกในสิ่งมีชีวิตจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในหลาย ๆ เมทาบอลิซึมภายในเซลล์ จุลินทรีย์ที่สามารถจะให้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ได้นั้นมักต้องการสภาพที่เหมาะสมเฉพาะของจุลินทรีย์นั้น ๆ ในยีสต์และแบคทีเรียบางชนิดสามารถเปลี่ยนกรดไพรูวิกเป็นเอทานอลได้ ซึ่งต้องมีการคัดเลือกสายพันธุ์ และควบคุมสภาพให้เหมาะสม เพื่อที่จะไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ ทางทฤษฎีน้ำตาลกลูโคสสามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้ 51% (กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคสที่ใช้) และได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 49% (กรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อกรัมกลูโคสที่ใช้) ดังสมการ ต่อไปนี้



1) กลไกการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลในเซลล์จุลินทรีย์

วิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pathway) หรือ Embden Meyerhof-Parnas (EMP) pathway ในสภาพที่ไม่ใช้ออกซิเจนและระบบมีความเป็นกลางและกรดเล็กน้อย โดยมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน กลูโคสซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไพรูวิก โดยมีขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงเป็นลำดับ ดังนี้

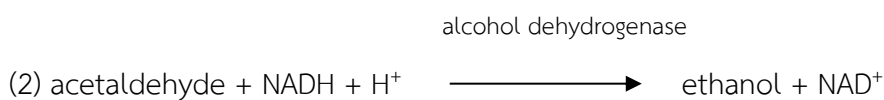




2) วิธีการเปลี่ยนไพรูเวทไปเป็นเอทานอล

หลังจากที่กลูโคสผ่านวิถีไกลโคไลซิสแล้ว ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะได้กรดไพรูวิก 2 โมเลกุล โดยกรดไพรูวิกนี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารต่าง ๆ แตกต่างกันไป โดยจะขึ้นอยู่กับกลไกการใช้กรดนี้ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด และสภาวะในการดำรงชีวิตขณะนั้น เช่น จุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลกติกจะเปลี่ยนกรดไพรูวิกไปเป็นกรดแลกติกในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ถ้ามีอากาศกรดนี้จะเข้าสู่กระบวนการผลิตเซลล์หรือสร้างผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น หรือถ้าเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้อากาศจะเปลี่ยนกรดไพรูวิกไปเป็นอะซิetylโคเอก่อนนำไปเข้าสู่วัฏจักรเครบ แล้วเข้าสู่กระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน แล้วก็มีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ให้พลังงาน 32 ATP ปริมาณของเอทานอลที่ได้ จะไม่น้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่มีการสลายพลังงานหรือขึ้นกับกลไกของสิ่งมีชีวิตนั้นในการสลายให้พลังงาน ส่วนจุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอลได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศจะเปลี่ยนไพรูวิกไปเป็นเอทานอล

กลไกการเปลี่ยนกรดไพรูวิกของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้มีขั้นตอน ดังนี้



กรดไพรูวิกที่ได้จะเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอลได้ จะมีกระบวนการใช้สารต่าง ๆ แตกต่างกันไป ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ ออกมารวมกับเอทานอลด้วย หรือจุลินทรีย์นั้นอาจสามารถใช้เอทานอลนั้นในการเจริญต่อไปได้อีก ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลลดลงเมื่อเทียบกับทฤษฎี

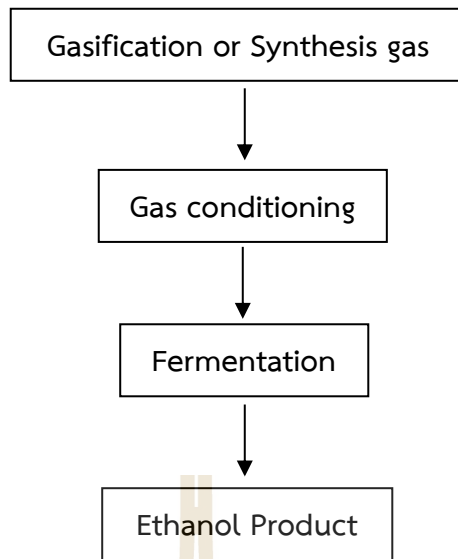
ตัวอย่างผลิตภัณฑ์หลังจากการหมักที่ตรวจพบ เมื่อใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ เอทานอล 48.4% คาร์บอนไดออกไซด์ 46.5% อะซีตัลดีไฮด์ 0.0-0.3% กรดอะซีติก 0.05-0.25% กลีเซอรอล 2.5-3.6% กรดแลคติก 0.0-0.2% กรดซัคซินิก 0.0-0.77% และ Fuel oil 0.25-0.5% เป็นต้น (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2522)

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้โดยทั่วไป ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *S. fragillis*, *S. uvarium*, *Kluyveromyces fragillis*, *Nematospora* sp., *Shizosaccharomyces* sp. และ *Zymomonas mobilis* เป็นต้น

ในยีสต์สกุล *Saccharomyces* เซลล์ของยีสต์พวกนี้จะเป็นรูปไข่ รูปกลมหรือค่อนข้างยาว อาจมีการสร้างไมซีเลียมเทียม การสืบพันธุ์จะเป็นแบบแตกหน่อชนิดที่เกิดได้ที่ขั้วของเซลล์ และโดยโครงสร้างแอสโคสปอร์ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังจากคอนจูเกชันหรืออาจพัฒนาจากเซลล์ดิพลอย (Diploid cell) ที่อยู่ในระยะเวสเจทเตตีฟ แอสโคสปอร์ ซึ่งมักมีรูปกลมหรือรูปไข่ มีจำนวน 4-8 ต่อแอสคัส สปอร์ของยีสต์สกุลนี้ที่สำคัญคือ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมีบทบาทในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น ไวน์ ขนมหปัง กลีเซอรอล และอินเวเตส (Invertes) *Saccharomyces cerevisiae* เป็นยีสต์ที่ให้แอลกอฮอล์สูง จึงนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ ไวน์ และสุรา

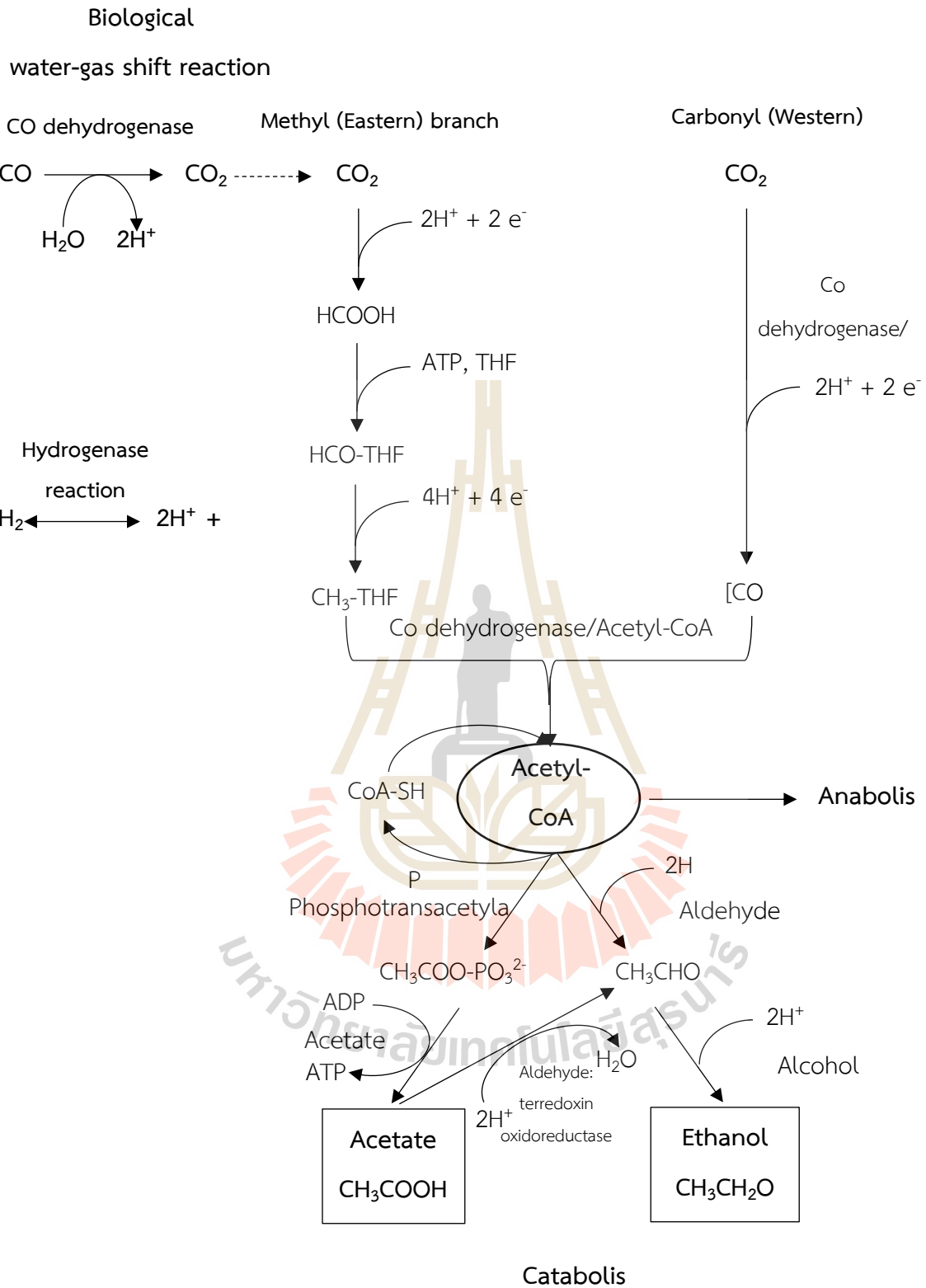
2.3.2.3 การผลิตเอทานอลทางชีวภาพจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ คาร์บอนมอนอกไซด์หรือ Synthesis gas

นอกจากการใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติในการผลิตเอทานอลแล้วยังมีการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และคาร์บอนมอนอกไซด์หรือ Synthesis gas หรือ Syngas มาผ่านกระบวนการปรับสภาพของก๊าซหรือเรียกว่า กระบวนการที่ทำให้เกิดก๊าซ (Gasification) แล้วนำไปผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ก๊าซคาร์บอนได้เรียกว่า Autotrophic bacteria จะทำให้เกิดเอทานอลขึ้น (Reed and Jantzen, 1979; Vega *et al.*, 1990; Natarajan *et al.*, 1998; Datar *et al.*, 2004) หรืออาจใช้ก๊าซที่มีคาร์บอนเพียงพอ (Carbon-rich gaseous) เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอลได้เช่นเดียวกัน (Cotter, 2006) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 2-2



ภาพที่ 2-2 การเกิดเอทานอลจากกระบวนการเกิดก๊าซหรือก๊าซสังเคราะห์และกระบวนการหมัก (Ljungdahl, 1986; Diekert and Wohlfarth, 1994)

การผลิตเอทานอลจากการหมักก๊าซ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Clostridium โดยก๊าซที่นำมาหมักนี้ได้ผ่านกระบวนการ gasification ประกอบด้วยก๊าซ CO , CO_2 , CH_4 , H_2 , N_2 ซึ่งก๊าซเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล โดยวิธีการหมัก การหมักมีความเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาชีวเคมีภายในเซลล์ที่เรียกว่า Acetyl-CoA pathway ดังภาพที่ 2-3



ภาพที่ 2-3 กระบวนการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (Wilkins and Atiyeh., 2011)

จากภาพเมื่อมี CO ซึ่งเกิดจากกระบวนการ gasification เพียงอย่างเดียว จำนวนคาร์บอนที่จะเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลมีเพียง 1 ใน 3 เท่านั้น โดยใช้เอนไซม์ carbonmonoxide dehydrogenase กับ CO₂ ส่วนปฏิกิริยาระหว่าง H₂ กับ CO₂ นั้น พบว่า คาร์บอนทุกตัวสามารถเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้ทั้งหมดและ พบว่า มีคาร์บอนจำนวน 2 ใน 3 ถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลโดยเกิดขึ้นจากการใช้เอนไซม์ hydrogenase ดังนั้นปริมาณเอทานอลที่ได้จะขึ้นอยู่กับสัดส่วนขององค์ประกอบของก๊าซที่นำมาหมัก อีกทั้งปริมาณ H₂ มีค่าน้อยกว่าที่คาดไว้เนื่องจากมีบางส่วนทำปฏิกิริยากับชีวมวลที่เป็นคาร์บอนเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอล (Datar *et al.*, 2004)

จากการศึกษาวิจัยโดยนักวิจัย (Rajagopalan *et al.*, 2002) พบว่า การผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์สังเคราะห์ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ Bacterium P7 ทำให้เกิดเอทานอลมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.61 wt% เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี หรือคิดเป็น 0.15 โมลเอทานอลต่อโมล CO ที่ใช้ และจากการศึกษาวิจัยการผลิตด้วยกระบวนการแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch process) พบว่าผลิตเอทานอลได้น้อยกว่าคือผลิตได้ประมาณ 0.062 โมลเอทานอลต่อโมล CO ที่ใช้ (Phillips *et al.*, 1994) ซึ่งจากการวิจัยเหล่านี้พบว่าควรมีการพัฒนาต่อโดยใช้การผลิตด้วยกระบวนการแบบต่อเนื่อง (Continuous process) เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น และควรควบคุมสภาวะการทดลองให้เหมาะสม ได้แก่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ ปริมาตรของก๊าซที่ใช้ อัตราการไหลของก๊าซ และค่าพีเอช

จุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอล (Ethanol producing microorganisms) ซึ่งมีความสามารถในการหมักก๊าซคาร์บอนดังกล่าวให้เป็นเอทานอลได้นั้น ได้แก่ *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium autoethanogenum*, *Moorella* sp. HUC22-1, และ Bacterium P7 (Barik *et al.*, 1988; Abrini *et al.*, 1993; Rajagopalan *et al.*, 2002; Datar *et al.*, 2004; Sakai *et al.*, 2004, 2005)

2.3.3 กระบวนการหมักเอทานอล

การหมักเอทานอลในปัจจุบันนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กระบวนการใหญ่ๆ คือการหมักแบบกะ (Batch fermentation) การหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) และการหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation)

2.3.3.1 การหมักแบบกะ (Batch fermentation)

การหมักแบบกะนั้น สารอาหารทั้งหมดจะถูกเตรียมไว้ก่อนที่จะมีการเติมเชื้อยีสต์ลงไปและจะไม่มีการเติมสารอาหารอื่นๆ ลงไปในช่วงที่การหมักดำเนินไป เอทานอลที่ถูกผลิตขึ้นจะสะสมอยู่ในน้ำหมัก ได้มีการศึกษาผลของระดับเอทานอลที่เพิ่มขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของจุลศาสตร์การหมัก และได้พบว่าอัตราการผลิตเอทานอลจะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น ซึ่งสาเหตุ

หลักนั้นพบว่าเกิดขึ้นจากการที่เอทานอลได้ทำลายผนังเซลล์ของเชื้อยีสต์ที่ทำให้สูญเสียความสามารถในการคัดเลือกผ่านของสารเข้า-ออกเซลล์ ทำให้เชื้อยีสต์ตายไปในที่สุด โดยทั่วไป พบว่า การหมักแบบกะนี้ ปริมาณของเอทานอลที่สะสมมักจะอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก และจะมีอัตราการผลิตเอทานอลอยู่ที่ประมาณ 1.73 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Neelam and Amarjit, 1991) อย่างไรก็ตามการหมักแบบกะนี้ มักจะได้ผลผลิตของเอทานอลที่ต่ำกว่าระบบการหมักแบบอื่น ๆ ทำให้ไม่เป็นที่นิยมมากนักในการหมักระดับอุตสาหกรรม

2.3.3.2 การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation)

การหมักเอทานอลแบบกะเป็นวิธีการเดียวในการผลิตเอทานอลในอดีต แต่ร้อยละ 30 ได้ถูกเปลี่ยนมาเป็นกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องในเวลาต่อมา (Wheals *et al.*, 1999) กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องจะมีการเติมอาหารลงไปในระบบและจะมีการนำเอา น้ำหมักบางส่วนออกโดยที่อัตราการป้อนอาหารเข้าถังหมักต่อปริมาตรของน้ำหมักในถังหมัก เรียกว่า อัตราการเจือจาง ซึ่งจะมีหน่วยเป็นต่อชั่วโมง มีหลายงานวิจัยที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการหมักแบบต่อเนื่อง เช่น การหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องโดยการตรึงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-2034 ใน calcium alginate (McGhee *et al.*, 1982) ซึ่งมีข้อดีหลายประการ เช่น สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นร้อยละ 10 ในน้ำหมักด้วยอัตราการเจือจางที่ 0.2 ต่อชั่วโมง อีกทั้งสามารถผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ค่าผลผลิตเอทานอลต่อกลูโคสสูงถึง 0.31 กรัมเอทานอลต่อ 1.0 กรัมกลูโคส (Ranulfo *et al.*, 2003)

อย่างไรก็ตามการหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องนี้อาจจะก่อให้เกิดการสูญเสียเชื้อยีสต์ไปในระหว่างที่มีการถ่ายน้ำหมักออกจากระบบด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีอัตราการเจริญเติบโตน้อยและมีอัตราการเจือจางสูง นอกเหนือจากปัญหาดังกล่าวแล้ว การควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดสถานะคงตัว (Steady state) ของทั้ง chemostat และ turbidostat ระหว่างกระบวนการหมักพบว่ามีความยุ่งยากมาก โดยที่ chemostat เป็นการควบคุมระบบให้เกิดสภาวะคงตัวของปริมาตรน้ำหมัก โดยการควบคุมอัตราการป้อนของสารอาหารและอัตราการถ่ายน้ำหมักออกจากระบบให้เท่ากัน ส่วน turbidostat เป็นการควบคุมปริมาตรของน้ำหมักให้คงที่โดยการควบคุมอัตราการป้อนสารอาหารและอัตราการถ่ายน้ำหมักออก ซึ่งจะใช้ความเข้มข้นของเซลล์ในระบบเป็นตัวกำหนดและจะต้องอาศัยการควบคุมที่ซับซ้อนซึ่งไม่เป็นที่นิยมในการหมักเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม (Doran, 1995)

2.3.3.3 การหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation)

ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะนั้น สารอาหารจะถูกป้อนเข้าสู่ระบบเป็นครั้งคราวหรือต่อเนื่องก็ได้ แต่จะไม่มีถ่ายเอา น้ำหมักออกจากระบบในระหว่างการหมัก ซึ่งจะเป็นการผสมผสาน

ระหว่างการผลิตหมักแบบกะและแบบต่อเนื่อง ซึ่งกระบวนการหมักแบบนี้ได้รับความนิยมมากที่สุดในระดับอุตสาหกรรม (Caylak and Sukan, 1998) โดยที่สามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับการหมักโดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์ที่สูงได้ เพื่อเพิ่มความต้านทานความเป็นพิษของเอทานอลและลดต้นทุนที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมเชื้อเริ่มต้นลง นอกจากนี้ส่วนที่สำคัญที่สุดยังเป็นการเพิ่มอัตรา ในการผลิตเอทานอลโดยอาจจะมีค่าสูงถึง 3.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และได้ความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายที่ประมาณ 70 กรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นกับกระบวนการหมักแบบนี้ก็คือการที่ยังมีการสะสมของเอทานอล ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสะสมอยู่ในระบบทำให้ในท้ายที่สุดแล้วการหมักก็จะยุติลงจากการที่เชื้อยีสต์ไม่สามารถทนความเป็นพิษของเอทานอลได้ (Converti *et al.*, 2003)

2.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล

เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการหมักสูงสุดและได้ปริมาณเอทานอลสูง จำเป็นต้องมีปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในการหมักเอทานอล โดยมีองค์ประกอบที่เป็นปัจจัยสำคัญดังต่อไปนี้

1) ระดับอุณหภูมิ อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการทำงานของยีสต์ และมีผลทางอ้อมต่อปริมาณเอทานอล และสารประกอบโอรเมติกต่าง ๆ อุณหภูมิส่วนมากที่ใช้ในการหมักจะอยู่ประมาณ 10-30 องศาเซลเซียสซึ่งถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วงนี้ จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์เพิ่มเป็นสองเท่าถ้าอุณหภูมิสูงมากจะทำให้เอนไซม์ในยีสต์เกิดการ denature ความว่องไวของปฏิกิริยาลดลงในระหว่างที่อุณหภูมิ 55-85 องศาเซลเซียส (ยีสต์อาจตายได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ที่นำมาใช้ในการหมัก) เนื่องจากกระบวนการหมักเป็นกระบวนการคายความร้อน ซึ่งการหมักของน้ำตาลซูโครสจะมีการคายความร้อน 149.5 แคลอรีต่อกรัมซูโครส และการหมักน้ำตาลกลูโคสจะมีความร้อนเกิดขึ้น 140.2 แคลอรีต่อกรัมกลูโคส ดังนั้นในกระบวนการหมักต้องมีระบบถ่ายเทความร้อน เพื่อควบคุมอุณหภูมิของการหมักให้พอเหมาะความทนต่ออุณหภูมิ (temperature tolerance) สำหรับการเจริญและการหมักเอทานอลเป็นลักษณะประจำสายพันธุ์ถ้าอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักต่างกัน ปริมาณของผลพลอยได้ (by product) ก็จะแตกต่างกันออกไป เช่น สภาวะที่อุณหภูมิต่ำจะเกิด volatile ester, acetaldehyde, isoamyl มาก และ activeamylalcohol ในปริมาณที่น้อย รวมทั้งสารอื่น ๆ ซึ่งมีปะปนเป็นปริมาณน้อยมาก สารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการย่อยของเอนไซม์ที่ไม่สมบูรณ์หรือรุนแรงเกินไป

2) ปริมาณคาร์บอน ในการหมักเอทานอล ยีสต์จะใช้คาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคสและฟรักโตสซึ่งมาจากกากน้ำตาล น้ำอ้อย และข้าวฟ่างหวาน ส่วนถ้าเป็นวัตถุดิบประเภทแป้ง เช่น มันสำปะหลัง ข้าวโพด และธัญพืชต่าง ๆ ยีสต์จะใช้คาร์บอนจากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์

และถ้าเป็นวัตถุดิบที่มาจากเซลลูโลส เช่น กระดาษ ไยจากต้นพีช และซีเลื่อย คาร์บอนจะมาจากการย่อยเซลลูโลสด้วยกระบวนการทางจุลชีวเคมีหรือกระบวนการทางเคมี

3) ปริมาณออกซิเจน ในขั้นตอนของการเตรียมเชื้อเริ่มต้น ออกซิเจนมีความสำคัญมาก เนื่องจากยีสต์มีการเจริญเติบโตสูงในสภาวะที่มีออกซิเจนมาก แต่จะมีผลให้การหมักลดลง ออกซิเจนจะเสริมให้การออกซิเดชันสมบูรณ์และมีการสร้างคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ออกซิเจนยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีความสำคัญทำให้ยีสต์ทนต่อเอทานอลได้มากขึ้น ดังนั้นในสภาวะที่ขาดออกซิเจนยีสต์จึงไม่สามารถสังเคราะห์ไขมันไม่อิ่มตัวได้ จึงต้องมีการเติมกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพื่อให้ยีสต์สามารถอยู่รอดได้ ยีสต์ใช้ออกซิเจนในการหายใจเพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นกระบวนการหมักอย่างต่อเนื่องจึงควรมีการเติมอากาศบ้างในระหว่างการหมัก เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ทดแทนเซลล์ที่ตายลง และช่วยให้ยีสต์มีความทนทานต่อเอทานอลได้ดี

4) ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ทั้งภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ที่ความดันบรรยากาศปกติหากมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและการหมักอย่างรุนแรง และคาร์บอนไดออกไซด์ยังมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การขนส่งสารเข้าสู่เซลล์เปลี่ยนไป

5) ความเข้มข้นของเอทานอล ในสภาพที่มีเอทานอลสูง การเจริญเติบโตและการหมักยีสต์จะถูกยับยั้งเพราะเอทานอลมีผลต่อเอนไซม์และสรีระวิทยาของเซลล์ เมื่อเปอร์เซ็นต์เอทานอลมากกว่า 1% โดยน้ำหนัก จะมีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลงและจะหยุดเมื่อมีเอทานอล 4.7-7.8% โดยน้ำหนัก โดยต่อจากนั้นจะเป็นการหมักเอทานอลจนถึงความเข้มข้น 14% โดยน้ำหนัก การที่ยีสต์ไม่เจริญเติบโตทำให้อัตราการหมักลดลงด้วย

6) ความเข้มข้นของน้ำตาล ในสภาพการหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจะช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้ออื่นได้ดี แต่น้ำตาลที่สูงจะยับยั้งการเจริญเติบโตและการหมักเอทานอล คุณสมบัตินี้เป็นลักษณะประจำสายพันธุ์ของยีสต์ เมื่อเทียบกับกับกรณีความเข้มข้นของเอทานอลสูงจะมีผลยับยั้งการหมักรุนแรงกว่า แต่หากมีทั้งภาวะน้ำตาลเข้มข้นและเอทานอลสูงจะยิ่งเสริมกันให้มีลักษณะยับยั้งการหมักรุนแรงยิ่งขึ้น

7) ค่า pH การเป็นกรดจะกีดขวางการเจริญของพวกแบคทีเรียและราบางชนิด แต่ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ดี(ระหว่าง pH 3-5) ซึ่งจะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์และอัตราเร็วของการหมักเพิ่มขึ้นสำหรับการเลือก pH ที่จะใช้ในการหมักซึ่งไม่มีระบบควบคุม pH ระหว่างการหมักนั้นขึ้นอยู่กับ buffering capacity ของอาหารสำหรับหมัก ในอาหารที่มีบัฟเฟอร์ต่ำ pH เริ่มต้นที่เหมาะสมควรใช้ประมาณ 5.5 แต่ถ้าอาหารนั้นมีบัฟเฟอร์สูง pH ที่ใช้ควรอยู่ในช่วง 4.5-4.7 ในการหมักเอทานอลเมื่อใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบใช้ pH 4-5 แต่เมื่อใช้เมล็ดธัญพืช pH ที่ควรเลือกใช้จะอยู่ในช่วง

4.8-5 สำหรับการผลิตเอทานอลโดยใช้อาหารที่มี buffering capacity ต่ำ บางครั้งการควบคุม pH อาจทำได้โดยการเติมแอมโมเนียเหลวลงไปในระหว่างการหมัก pH ที่ *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้คือ pH ในช่วง 2.4-8.6 โดยมีค่าที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 4.5 ซึ่งในสภาพที่เป็นกรดอ่อนนี้สามารถช่วยควบคุมการปนเปื้อนแบคทีเรียได้

8) ธาตุอาหาร ยีสต์ต้องการธาตุอาหารเพื่อการเจริญและการหมักเอทานอล ความต้องการธาตุอาหารที่ใช้เพื่อการเจริญเป็นส่วนประกอบหลัก (major component) ของเซลล์ ธาตุอาหารเหล่านั้นคือ คาร์บอน ออกซิเจน ไนโตรเจน และไฮโดรเจน นอกจากนี้ยีสต์ยังต้องการฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โปแตสเซียม และแมงกานีส เพื่อการสังเคราะห์องค์ประกอบรอง (minor component) และต้องการแมงกานีส โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก และสารอินทรีย์บางชนิด คือ กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิกและวิตามิน ในปริมาณที่น้อยมากสำหรับวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ มักจะมีธาตุอาหารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์นอกเหนือจากคาร์โบไฮเดรต แต่สำหรับวัตถุดิบบางชนิดอาจจะต้องมีการเติมธาตุอาหารบางอย่างเสริมลงไป เช่น

- ไนโตรเจน โดยทั่วไปยีสต์ใช้อิออนแอมโมเนีย (ammonium ion) ได้ แม้ว่าบางชนิดต้องการกรดอะมิโนที่จำเพาะ ในอุตสาหกรรมจะใช้แอมโมเนียมซัลเฟต เช่น ในการหมักกากน้ำตาล
- ฟอสฟอรัส ปกติในรูปของฟอสเฟต ซึ่งเป็น ionic factor ที่มีความสำคัญต่อการหมัก
- ซัลเฟอร์ ในเซลล์ของยีสต์พบมีซัลเฟอร์ปริมาณร้อยละ 0.4 ของน้ำหนักแห้ง โดยเมไธโอนีนเป็นแหล่งซัลเฟอร์ที่ยีสต์ชอบ ส่วนซัลเฟตที่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้เช่นกัน โดยจะถูกรีดิวซ์เป็นเมไธโอนีนภายในเซลล์ แต่เมไธโอนีนมีราคาแพงเกินกว่าที่จะใช้ในอุตสาหกรรม โดยปกติในอุตสาหกรรมจะใช้แอมโมเนียมซัลเฟต

9) โลหะ ในพวกธัญพืชต่างๆ (cereal grains) เช่น ข้าว จะมีพวกธาตุต่าง ๆ เช่น แคลเซียม ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม และแมงกานีส ซึ่งเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ และในกระบวนการหมักเอทานอลจากกลูโคส ถ้าปริมาณของโลหะมากเกินไปจะกลายเป็นตัวยับยั้งทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์ชะงัก พวกสารประกอบซัลเฟอร์จะทำให้เซลล์ของยีสต์แก่เร็ว ส่วนพวก เหล็ก อลูมิเนียม ตะกั่ว สังกะสี ไม่ค่อยมีผลมากนักต่อปฏิกิริยาการหมัก แต่ถ้าเป็น แคดเมียม ทองแดง พรอทพาราเดียม ออสเมียมและเงิน จะเป็นตัวหน่วงการเจริญของยีสต์อย่างแรง (strong retarding)

จะเห็นได้ว่าโดยทั่วไปกระบวนการหมักเอทานอลมักจะใช้ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดเอทานอล อย่างไรก็ตามยังมีนักวิจัยอีกหลายคนที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลดังที่ได้กล่าวในขั้นต้น

2.3.5 ประโยชน์ของเอทานอล

2.3.5.1 ใช้เป็นเชื้อเพลิง

1) ให้ความร้อน ในการเผาไหม้ของเอทานอลนั้น จะไม่มีกลิ่น ไม่มีควัน ให้ค่าพลังงานความร้อนประมาณ 7,100 แคลอรีต่อกรัม

2) ให้แสงสว่าง แอลกอฮอล์ใช้เป็นประโยชน์ในที่ที่ไฟฟ้ายังเข้าไม่ถึง ซึ่งจะให้แสงสว่างเป็นสามเท่าครึ่งของแรงเทียน

3) ให้กำลัง absolute alcohol เป็นแอลกอฮอล์ที่นำไปใช้ผสมน้ำมัน (Fuel alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์ตั้งแต่ 95% โดยปริมาตร ซึ่งสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ใน 3 รูปแบบ คือ

- เอทานอล 95% ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซลใช้ได้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง สำหรับในเครื่องยนต์ดีเซลสามารถใช้เอทานอล บริสุทธิ์ 95% ผสมในน้ำมันดีเซล เรียกว่า ดีโซฮอล (Diesohol) ในอัตราส่วนร้อยละ 15 และเพิ่มสารปรับปรุงคุณสมบัติบางตัวในปริมาณร้อยละ 1-2

- เอทานอล 99.5% โดยปริมาตร ผสมในน้ำมันเบนซิน ซึ่งจะเรียกว่า แก๊สโซฮอล (Gasohol) โดยทั่วไปใช้ผสมกับน้ำมันเบนซินอัตราส่วนร้อยละ 10 ลักษณะของสารเติมแต่งเพื่อปรับปรุงค่าออกเทนของน้ำมันเบนซิน ซึ่งสามารถนำมาใช้งานกับเครื่องยนต์ ทั่วไปโดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์แต่อย่างใด

- เป็นสารเคมีเพิ่มออกเทน (Octane) แก่เครื่องยนต์ โดยการเปลี่ยนรูปเอทานอลมาเป็นสาร ETBE (Ethanol Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่ง MTBE เป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้ เนื่องจากก่อให้เกิดมลพิษในอากาศสูงกว่าสารเติมแต่งอื่นๆ

2.3.5.2 การใช้ประโยชน์โดยทั่วไป

เอทานอลมีการใช้ประโยชน์หลายอย่าง เช่น ในโรงพยาบาลใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ (Antiseptic) ในห้องปฏิบัติการทั่วไปใช้เป็นตัวทำละลาย (Solvent) มีการใช้ประโยชน์จากแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้กับพวก dyes, nitrocellulose, lacquers, oil and wax, crystallization process เป็นต้น

2.3.5.3 ใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมสารอื่นๆ (Raw material in chemical process)

เช่น เป็นสารตั้งต้นในการผลิต ethylene, polyethylene, polystyrene เป็นต้น

2.3.6 ผลกระทบของเอทานอลต่อสุขภาพอนามัย

2.3.6.1 ฤทธิ์เฉียบพลัน

- 1) มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system, CNS) ทำให้มีอาการง่วงซึม คลายความกังวล สูญเสียการทรงตัว ฯลฯ
- 2) มีผลต่อหัวใจ ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจบีบตัวน้อยลง
- 3) มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) คลายตัว

2.3.6.2 ฤทธิ์เรื้อรัง

- 1) มีผลทำลายระบบทางเดินอาหารและเนื้อเยื่อตับ ถึงขั้นเป็นโรคตับแข็งได้
- 2) มีผลต่อระบบประสาท ทำให้เกิดอาการความจำเสื่อม ตกใจง่ายใจสั่น และมีอาการทางจิต เป็นต้น
- 3) ทำให้เกิดโรคโลหิตจาง ผู้ป่วยที่ดื่มติดต่อกันเป็นระยะเวลาเวลานาน จะทำให้เลือดออกทางกระเพาะอาหาร จึงป่วยเป็นโรคโลหิตจางชนิดอ่อน
- 4) มีผลต่อหัวใจและระบบไหลเวียนเลือด คือ ทำให้หัวใจเต้นผิดปกติ (arrhythmia) และเพิ่มความดันเลือด
- 5) มีผลทำให้ระบบต่อมไร้ท่อ เกสโตรเจน น้ำ และอิเล็กโทรไลต์ ในร่างกายเกิดการเสียดุล
- 6) เพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งที่ปาก หลอดอาหาร กล่องเสียงและตับ เป็นต้น

2.3.6.3 ระดับของเอทานอลในเลือดที่เริ่มก่อให้เกิดอาการ

- 1) ระหว่าง 50–100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ผู้ป่วยจะแสดงอาการ พูดมาก หน้าแดง ประสาทมีการตอบโต้ช้า และการมองเห็นไม่ค่อยดี
- 2) สูงกว่า 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จะกดระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้การตัดสินใจและการมองเห็นภาพไม่ดี ประสาทจะเริ่มเสื่อม
- 3) ระดับ 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ผู้ป่วยมักจะหมดสติ
- 4) สูงกว่า 500 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ผู้ป่วยอาจตายได้

พิษของเอทานอลมีความสำคัญมาก เพราะนอกจากจะก่อให้เกิดผลร้ายแก่ผู้ดื่มเองแล้ว ยังเป็นตัวก่อปัญหาในสังคมอีกด้วย โดยเป็นเหตุให้เกิดอุบัติเหตุและคดีความต่างๆ มากขึ้น เป็นต้น ดังนั้น เพื่อช่วยให้ตนเองเป็นผู้ที่มีสุขภาพดีและแข็งแรงทั้งยังช่วยลดปัญหาของสังคมจึงควรดื่มน้ำผลไม้แทนเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์จะดีที่สุด

2.4 ก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen, H₂)

พลังงานไฮโดรเจน (Hydrogen, H₂) ซึ่งถือได้ว่าเป็นพลังงานเชื้อเพลิงสำหรับการเผาไหม้ที่มีประสิทธิภาพสูง สะอาด และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ได้รับการคาดการณ์และยอมรับว่าจะเป็นแหล่งของพลังงานเชื้อเพลิงที่สำคัญอย่างมากในอนาคต ในปัจจุบันนี้กระบวนการเปลี่ยนรูปสารไฮโดรคาร์บอนด้วยไอน้ำ (Steam reforming of hydrocarbons) เป็นกระบวนการที่ใหญ่ที่สุดสำหรับการผลิตพลังงานไฮโดรเจน แต่ปัญหาหลักที่สำคัญมากของกระบวนการนี้คือ การปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณมากซึ่งเป็นสาเหตุของสภาวะโลกร้อนหรือปรากฏการณ์เรือนกระจก นอกจากนี้แล้วยังประสบปัญหาการขาดแคลนแหล่งของไฮโดรคาร์บอนที่นำมาใช้ในกระบวนการอีกด้วย ดังนั้นกระบวนการอื่นซึ่งเป็นทางเลือกใหม่ที่ปลอดภัย และสามารถผลิตพลังงานไฮโดรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงควรได้มีการพัฒนาขึ้นเพื่อรองรับความต้องการพลังงานไฮโดรเจนในอนาคต

ก๊าซไฮโดรเจนถือได้ว่าเป็นเชื้อเพลิงอนาคต ทั้งนี้เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อเกิดการเผาไหม้กับก๊าซออกซิเจน โดยจะมีเพียงไอน้ำเป็นผลพลอยได้ ซึ่งแตกต่างจากเชื้อเพลิงอื่นๆที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลพลอยได้ ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gas) ส่งผลกระทบต่อโดยตรงต่อการทำให้โลกร้อนขึ้น (Global warming) นอกจากนี้ยังสามารถนำก๊าซไฮโดรเจนไปผลิตกระแสไฟฟ้าโดยป้อนเข้าเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) ซึ่งขณะนี้นักวิจัยทั่วโลกให้ความสนใจเป็นอย่างมากในการพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงมาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ เนื่องจากประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงมีค่าสูงกว่าอุปกรณ์ผลิตไฟฟ้าแบบอื่นๆมาก ดังนั้นพลังงานไฮโดรเจนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนพลังงานดั้งเดิมได้ เนื่องจากคุณประโยชน์ในด้านต่าง ๆ โดยสรุปดังนี้

1. แหล่งพลังงานดั้งเดิมก่อให้เกิดก๊าซเรือนกระจก ซึ่งก๊าซชนิดนี้ส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของโลกโดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ ซึ่งเกิดจากการสันดาป (Combustion) ของสารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำมัน แต่พลังงานไฮโดรเจนเป็นพลังงานสะอาด ไม่ก่อให้เกิดก๊าซเรือนกระจก ดังนั้นจึงไม่ส่งผลให้เกิดภาวะเรือนกระจก
2. การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงดั้งเดิม ไม่ว่าจะมาจากยานพาหนะหรือแหล่งอุตสาหกรรมต่างๆ ก่อให้เกิดกลุ่มควันและฝุ่นละออง แต่พลังงานไฮโดรเจนไม่ก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศเหล่านี้
3. พลังงานไฮโดรเจนสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับงานที่ต้องใช้พลังงานดั้งเดิมได้ เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับครัวเรือน เครื่องยนต์สันดาปภายใน เครื่องกังหัน และเครื่องไอพ่น
4. ค่าพลังงานเชื้อเพลิงที่ได้จากไฮโดรเจนจะมากกว่าค่าพลังงานเชื้อเพลิงไฮโดรคาร์บอนและเชื้อเพลิงจากแอลกอฮอล์ เช่น เมทานอลและเอทานอลถึง 2.5 และ 5 เท่า ตามลำดับ
5. ก๊าซไฮโดรเจนสามารถนำไปใช้กับเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) ในการผลิตไฟฟ้า ซึ่งอยู่ระหว่างการพัฒนาและคาดว่าจะนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอนาคต

2.5 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide, CO₂)

2.5.1 ลักษณะของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์เป็นก๊าซไม่มีสี ไม่ติดไฟ หนักกว่าอากาศประมาณ 1.5 เท่า สามารถอยู่ได้ทั้ง 3 สถานะ คือ ก๊าซ ของแข็ง และของเหลว สามารถทำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นของเหลวได้โดยใช้ความดันประมาณ 300 psi ที่อุณหภูมิ -21 องศาเซลเซียส และเมื่อลดอุณหภูมิลงถึง -56.6 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 60.4 psi จะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวนั้นเริ่มแข็งตัว และเมื่อลดอุณหภูมิจึงถึง -78.5 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์เหลวดังกล่าวจะจับตัวกันกลายเป็นน้ำแข็งแห้ง (Parker, 1992) โดยปกติก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นก๊าซที่อยู่ในชั้นบรรยากาศซึ่งกระจายปกคลุมอยู่บนผิวโลกมีเพียงประมาณ 0.033% (Shakhashiri, 2008) แต่จากกระบวนการในภาคอุตสาหกรรมการเผาไหม้ถ่านหินหรือเชื้อเพลิงที่มีคาร์บอนเป็นส่วนประกอบ เช่น น้ำมันปิโตรเลียม เพื่อให้ได้พลังงานจะเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ดังปฏิกิริยาที่ 3 และ 4



เมื่อเกิดการเผาไหม้ถ่านหินและน้ำมันมากขึ้นตามความต้องการพลังงานที่มากขึ้น จึงเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลอยขึ้นสู่ชั้นบรรยากาศมากขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นสาเหตุทำให้อุณหภูมิของโลกเปลี่ยนแปลงไปเกิดเป็นภาวะโลกร้อนอย่างในปัจจุบัน ในขณะที่ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์เป็นก๊าซพิษ (OSHA, 2002) ที่เกิดจากกระบวนการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของพวกก๊าซธรรมชาติและเชื้อเพลิงที่มีคาร์บอนเป็นส่วนประกอบ เช่น น้ำมัน ถ่านหิน เป็นต้น (ดังปฏิกิริยาที่ 4) ความเป็นพิษของก๊าซชนิดนี้คือ เมื่อสูดหายใจเอาก๊าซนี้เข้าไปในร่างกาย ก๊าซนี้จะไปแทนที่ก๊าซออกซิเจนในเลือด และเข้าไปแทนที่ออกซิเจนตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย หัวใจ และสมอง หากมีปริมาณสูงมากจะทำให้ขาดสติ ไม่รู้สึกตัว และเสียชีวิตเนื่องจากขาดออกซิเจนได้

2.5.2 ประโยชน์ของคาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ใช้เป็นสารทำความเย็น เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง ทำให้สามารถเก็บอาหารไว้ได้ยาวนานขึ้น ในอุตสาหกรรมพลาสติก จะใช้ในการลดความร้อนของแม่พิมพ์ขณะขึ้นรูปพลาสติกทำให้สามารถเริ่มขึ้นงานต่อไปได้เร็วขึ้นซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณการผลิต ในอุตสาหกรรมหนักนำไปใช้ช่วยลดอุณหภูมิในกระบวนการหลอมเหล็กและการเชื่อมโลหะในการประกอบอุปกรณ์บางชนิดเข้าด้วยกัน เช่น การสวมตลับลูกปืนเข้าไปในเพลลา โดยคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้เพลลาหดตัวลงทำให้สามารถสวมตลับลูกปืนเข้าไปได้ง่ายยิ่งขึ้น ในทางการแพทย์นั้นสามารถนำไปใช้ในการเก็บรักษาเนื้อเยื่อได้ สำหรับอุตสาหกรรมน้ำอัดลมจะใช้

คาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนประกอบอีกด้วย ในการปรับปรุงคุณภาพของเสียจากโรงงานซึ่งอาจมีสภาพเป็นต่างสามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการปรับสภาพของน้ำเสียนั้นให้เป็นกลางได้ นอกจากนี้ยังใช้คาร์บอนไดออกไซด์มาทำเป็นสารดับเพลิงได้อีกด้วย (Parker, 1992)

2.5.3 ผลกระทบของคาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะทำให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์จะดูดกลืนรังสีคลื่นสั้นเอาไว้ ซึ่งจะทำให้เกิดผลกระทบ ดังนี้ (Jeremy, 1990)

- 1) ผลกระทบต่อภูมิอากาศ จะทำให้เกิดพายุ อุณหภูมิระหว่างขั้วโลกและเส้นศูนย์สูตรจะลดลง เพิ่มภาวะความกดดันอากาศต่ำ จะทำให้มีลมมรสุมแรงและฝนตกหนัก หิมะละลาย
- 2) ผลกระทบต่อแหล่งน้ำ ทำให้เกิดน้ำท่วม เนื่องจากระดับน้ำทะเลสูงขึ้น หรือบางแห่งอาจเกิดความแห้งแล้ง เมื่อมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์มากพืชจะสังเคราะห์แสงได้มากทำให้ต้องการน้ำมากขึ้น
- 3) ผลกระทบต่อเกษตรกรรม คาร์บอนไดออกไซด์จะไปเร่งการเจริญเติบโตของพืช ทำให้พืชปรับตัวไม่ทัน อาจทำให้เกิดการสูญพันธุ์ได้
- 4) ผลกระทบต่อแหล่งพลังงาน เช่น เกิดผลกระทบต่อการขุดเจาะน้ำมันในทะเลและมหาสมุทร เนื่องจากเกิดพายุและมรสุมที่เกิดจากสภาพอากาศเปลี่ยนแปลงไป
- 5) ผลกระทบต่อสุขภาพอนามัย มนุษย์จะได้รับผลกระทบโดยตรงจากภาวะมลพิษ เกิดปัญหากระทบต่อสุขภาพจิต ปัญหาสุขภาพกาย และอาจทำให้เกิดโรคต่างๆ ได้มากขึ้น

2.6 ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (Carbonmonoxide, CO)

ในธรรมชาติ เมื่อก๊าซมีเทนเกิดปฏิกิริยาเติมออกซิเจนขึ้นตามธรรมชาติจะทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ พื้นผิวมหาสมุทรเป็นแหล่งกำเนิดในลำดับรองลงมา นอกจากนั้นไฟป่า ภูเขาไฟ หล่มบึง พายุฝนคะนอง หรือการแยกตัว ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศชั้นสูงยังเป็นแหล่งที่มาของก๊าซนี้อีกด้วย

จากเดิมเชื่อกันว่าก๊าซเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มากกว่าเกิดจากการกระทำของมนุษย์ถึงสิบเท่า แต่ได้เกิดมีข้อโต้แย้งเมื่อไม่นานมานี้ว่าอาจเกิดจากธรรมชาติน้อยกว่าที่ได้ประเมินไว้ และอาจน้อยกว่าส่วนที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์

ยานยนต์ต่างๆ ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ เมื่อมีการสันดาบน้ำมันเชื้อเพลิงที่ใช้ในเครื่องยนต์ ในส่วนกิจการอุตสาหกรรมต่างๆ สามารถทำให้เกิดก๊าซนี้ได้ สองลักษณะคือ กรรมวิธีการผลิต และการเผาไหม้เชื้อเพลิง โรงงานกลั่นปิโตรเลียม โรงงานผลิตเยื่อกระดาษ และโรงงานผลิตผงคาร์บอน เป็นตัวอย่างของอุตสาหกรรมซึ่งก่อให้เกิดมลพิษนี้ จากกระบวนการผลิตและการใช้น้ำมัน

เตา ถ่านหิน หรือเชื้อเพลิงต่าง ๆ เพื่อให้ได้พลังงานใช้ในอุตสาหกรรมก็เป็นแหล่งกำเนิดของก๊าซนี้ได้อีกส่วนหนึ่งเช่นกัน

การดำรงชีวิตในบ้าน ทำให้เกิดก๊าซนี้ได้ เช่น การประกอบอาหารในครัว การใช้เครื่องทำความร้อนในฤดูหนาว การจราจร ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และในบางกรณีในบ้านอาจมีระดับใกล้เคียงกับในบ้านด้วย

ผู้โดยสารรถยนต์อาจได้รับก๊าซเนื่องจากระบบท่อไอเสียชำรุด และมีการรั่วไหลเข้าสู่บริเวณตัวถัง นอกจากนี้การสูบบุหรี่ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และอาจมีผลต่อผู้ที่อยู่ใกล้เคียงได้ ไม่น้อยกว่าผู้ที่สูบบุหรี่เอง ถ้าอยู่ในสถานที่ซึ่งไม่มีการระบายอากาศที่ดีเพียงพอ (วงศ์พันธ์ ลิ้มปเสนีย์ และคณะ, 2538)

ในสถานที่ห่างไกลความเจริญ จะพบระดับของมลสารนี้อยู่ในพิสัย ระหว่าง 0.01-0.23 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร และ 0.025-0.9 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ในอากาศบริเวณเหนือมหาสมุทรแปซิฟิกเหนือ ความเข้มข้นของก๊าซนี้จะลดลงตามระดับความสูง กล่าวคือ ที่ระดับความสูง 4 กิโลเมตรเหนือพื้นดิน จะลดลงจากระดับ 0.09 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร และในชั้นบรรยากาศระดับความสูง 15 กิโลเมตร จะลดลงเหลือ 0.05 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (WHO, 1987)

2.6.1 ลักษณะของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์

คาร์บอนมอนอกไซด์เป็นก๊าซไม่มีสี ไม่มีกลิ่นและรส เกิดจากการสันดาปไม่สมบูรณ์ของสารประกอบคาร์บอน เบากว่าอากาศเพียงเล็กน้อยและละลายน้ำได้บ้าง ก๊าซนี้ดูดซึมรังสีอัลตราไวโอเล็ตในระยะเวลาของรังสีอินฟราเรด โดยมีจุดศูนย์กลางของการดูดซึมที่ความยาวคลื่น 4.67 ไมครอน จึงยกคุณสมบัติข้อนี้มาใช้ในหลักการตรวจวัด

คาร์บอนมอนอกไซด์เป็นก๊าซเฉื่อยในสภาพอุณหภูมิและความกดดันอากาศปกติ (25 องศาเซลเซียส และความดัน 1 บรรยากาศ) แต่ไวต่อปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูงและเป็นตัวลดออกซิเจนได้อย่างดีหากมีตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งเป็นโลหะ เช่น พาลาเดียมกับซิลิกาเจล หรือส่วนผสมของแมงกานีส และออกไซด์ของทองแดง จะเกิดปฏิกิริยาเติมออกซิเจนให้ก๊าซนี้กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยเร็วยิ่งขึ้น (วงศ์พันธ์ ลิ้มปเสนีย์ และคณะ, 2538)

2.6.2 ประโยชน์ของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์

ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์สามารถใช้ในงานอุตสาหกรรม โดยใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการแยกธาตุเกิดจากสินแร่ที่ประกอบด้วย เหล็ก โคบอลต์ และทองแดง นอกจากนี้ยังใช้ในการผลิตโลหะผสมบางชนิด

2.6.3 ผลกระทบของก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์

2.6.3.1 ผลกระทบของก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ต่อสภาวะแวดล้อม

ก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ เป็นก๊าซมลพิษชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดการทำลายโอโซนในบรรยากาศ แต่ผลกระทบของก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ต่อการทำลายโอโซนในบรรยากาศมีน้อยมาก

ผลที่ได้รับจากการที่ชั้นโอโซนในบรรยากาศถูกทำลาย มีอยู่ 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ รังสีอัลตราไวโอเล็ตผ่านลงสู่ผิวโลก และอุณหภูมิของโลกเพิ่มมากขึ้น

(1) ผลกระทบของรังสีอัลตราไวโอเล็ตผ่านลงสู่ผิวโลก

ผลกระทบของรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีต่อพืช คือ ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ทำลายฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโต ยับยั้งการงอกของเมล็ด และพืชมีการเจริญเติบโตผิดปกติ ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะโปรตีน และกรดนิวคลีอิกมีความสามารถในการดูดซึมรังสีที่มีความยาวคลื่นใกล้เคียงกันได้มากที่สุด ดังนั้นจึงเกิดการทำลายดีเอ็นเอ ซึ่งมีผลต่อการกลายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้ยังทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชลดลงอีกด้วย

(2) ผลกระทบจากอุณหภูมิของโลกเพิ่มขึ้น

ระดับน้ำทะเลสูงขึ้น ทั้งนี้เพราะน้ำทะเลขยายตัวขึ้น และน้ำแข็งแถบขั้วโลกละลาย ก่อให้เกิดผลกระทบต่อพื้นที่ชายทะเลและกิจกรรมต่างๆ ในบริเวณนั้น เช่นการเพาะเลี้ยงสัตว์ การท่องเที่ยว ชุมชน การเกษตรกรรม ตลอดจนทรัพยากรธรรมชาติ ป่าชายเลน ชายหาด ได้รับความเสียหาย และระบบนิเวศน์แปรปรวนไป แหล่งน้ำจืดซึ่งเชื่อมกับทะเลทั้งที่เป็นน้ำผิวดิน และน้ำใต้ดิน เช่น แม่น้ำ และบ่อน้ำบาดาล ฯลฯ ย่อมถูกลุกน้ำเค็มขึ้น เป็นผลให้น้ำเค็มขึ้น

ผลกระทบต่อภูมิอากาศ หากบรรยากาศแถบขั้วโลกได้ร้อนขึ้น ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิที่บริเวณเส้นศูนย์สูตร และขั้วโลกย่อมลดน้อยลง ส่งผลต่อภูมิอากาศในระดับโลก เช่น ลมและฝน นอกจากนี้อาจเพิ่มภาวะความกดอากาศต่ำ ซึ่งเสริมให้ลมมรสุมมีกำลังแรง และเกิดน้ำท่วมบางกรณีถ้ามีฝนตกหนัก ประกอบกับหิมะละลาย อาจเกิดปัญหาน้ำเซาะดินทะเลาะลง เพิ่มความชื้นและอัตรา การตกตะกอนตามเส้นทางคมนาคมทางน้ำ หมู่ปะการัง และป่าชายเลน และอาจเกิดความแห้งแล้งในบางบริเวณ สิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ซึ่งไม่ทนต่อสภาวะความเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ อาจสูญพันธุ์ได้ (วงศ์ พันธุ์ ลิ้มปเสนีย์ และคณะ, 2538)

2.6.3.2 ผลกระทบของก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ต่อสุขภาพอนามัย

ร่างกายของมนุษย์ต้องการออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆ บางระบบ เช่น ระบบสมองส่วนกลาง จะไวต่อการขาดออกซิเจนมาก เมื่อใดที่สมองอยู่ในสภาวะขาดออกซิเจนนานเกินควรก็จะเกิดการเสื่อมสภาพโดยไม่อาจฟื้นฟูให้ดีเหมือนเดิมได้

เมื่อมนุษย์หายใจเอาอากาศเข้าสู่ปอด ออกซิเจนในอากาศจะจับตัวอย่างไม่แน่นกับฮีโมโกลบิน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเม็ดเลือดแดง ปฏิกริยาเติมออกซิเจน (Oxygenation) ในโลหิตนี้ทำให้เกิดสารประกอบไม่คงตัว คือ ออกซิฮีโมโกลบิน (Oxyhemoglobin-HbO₂) หัวใจจะสูบฉีดโลหิตนี้ไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย และออกซิฮีโมโกลบินจะแตกตัวออก ปลดปล่อยออกซิเจนให้แก่เซลล์และในขณะเดียวกันก็รับเอาของเสียออกจากเซลล์ด้วย

ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์เข้าสู่ปอดเมื่อหายใจเข้า และฟุ้งผ่านเยื่อในปอด (Alveolar capillary membrane) ด้วยวิธีการเดียวกับออกซิเจน ถ้าคนอยู่ในบรรยากาศที่มีระดับความเข้มข้นของก๊าซนี้ อย่างคงที่เป็นเวลานานนับชั่วโมง อัตราที่ร่างกายรับก๊าซนี้จะลดลงอย่างเฉียบพลันจนกว่าจะถึงระดับสมดุล นั่นคือ เมื่อความกดดันก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ในโลหิต ในเส้นโลหิตฝอยในปอด (Pulmonary capillary blood) เท่ากันกับความกดดันในปอด

ก๊าซนี้มีผลต่อระบบประสาทรวมอย่างรวดเร็ว ดังนั้นแม้แต่เมื่อร่างกายได้รับก๊าซที่ระดับต่ำ ก็อาจมีผลต่อสมรรถนะในการระมัดระวัง การจำแนก การทำงานประณีต และงานใช้กำลัง

คนเริ่มมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงได้เมื่อมีคาร์บอนมอนอกไซด์ที่จับกับฮีโมโกลบิน ตั้งแต่ (HbCO) 2-3 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่อาจจำแนกความแตกต่างเล็กๆน้อยๆ ภายในระยะเวลาสั้น ๆ ได้ และสมรรถนะในการระมัดระวังจะเริ่มผิดปกติเมื่อมี HbCO เพิ่มขึ้นถึง 3 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับ HbCO ประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการเรียนรู้เริ่มลดลง

ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ในระดับสูงมีผลต่อการทำงานของหัวใจอย่างฉับพลัน ทำให้หัวใจผิดปกติ เช่น เต้นเร็วขึ้น เพิ่มจังหวะเต้น เริ่มอาการโรคหัวใจ (angina pectoris) ถี่ขึ้น นอกจากนั้นอาจมีอาการหัวใจโตชั่วคราว (Temporary heart dilation) การหอบหืดของหัวใจเนื่องจากขาดอากาศ (Cardiac asthma) และหลอดเลือดที่ปลายประสาทผิดปกติ (วงศ์พันธ์ ลิมปเสนีย์ และคณะ, 2538)

เมื่อร่างกายได้รับก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์มากๆ ทำให้ร่างกายเกิดอาการขาดออกซิเจน ทำให้อ่อนเพลีย วิงเวียนศีรษะ คลื่นไส้ ตาพร่ามัว ง่วงนอนและหมดสติ ชัก เนื่องจากสมองขาดออกซิเจนและถึงตายได้ในที่สุด (สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2533) จึงทำให้เกิดแนวคิดใหม่ในการนำก๊าซที่ปล่อยจากกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมหรือในการเผาไหม้ซึ่งเป็นปัญหาทำให้เกิดมลพิษทางอากาศ ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ มาใช้ในการผลิตเอทานอล (Demirbas *et al.*, 2002) เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเกิดพลังงานทดแทนในรูปของเอทานอลและให้ลดมลพิษทางอากาศที่เกิดจากอุตสาหกรรมต่างๆ ได้อีกด้วย ซึ่งกระบวนการที่ทำให้ก๊าซคาร์บอนนี้เปลี่ยนไปเป็นพลังงานเชื้อเพลิงนั้นมีหลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นวิธีทางเคมี (Chemical catalysts) โดยใช้ตัวกระตุ้น (Activators) หรือวิธีทางชีวภาพ (Biological conversion) อย่างไรก็ตามวิธีทางเคมีนั้นยังไม่มีประสิทธิภาพมากพอในการผลิตเอทานอล (Stiles *et al.*, 1991) ส่วนวิธีทาง

ชีวภาพทำให้ทั่วโลกสามารถผลิตเอทานอลได้ประมาณ 48.7×10^6 m³ ต่อปี โดยเฉพาะประเทศบราซิลและสหรัฐอเมริกามีความสามารถในการผลิตได้ถึง 72.6% ของทั่วโลก ขณะที่ประเทศไทยผลิตได้เพียง 0.72% เท่านั้น (RFA, 2007) โดยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลจากก๊าซสังเคราะห์ดังตารางที่ 2-1

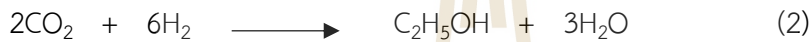
ตารางที่ 2-1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาการผลิตเอทานอล

ชนิดของจุลินทรีย์	ชนิดของสารตั้งต้น	ชนิดของผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
<i>Alkalibaculum bacchi</i>	CO, CO ₂ and H ₂	Ethanol and acetate	Liu <i>et al.</i> , 2012
<i>Clostridium autoethanogenum</i>	Xylose, fructose CO, CO ₂ +H ₂	Ethanol, acetate and CO ₂	Abrini <i>et al.</i> , 1993
<i>Clostridium carboxidivoran</i>	Glucose, fructose, CO, CO ₂ +H ₂	Ethanol, acetate, butyrate and butanol	Munasinghe and Khanal, 2010
<i>Clostridium ljungdahlii</i>	CO, CO ₂ and H ₂	Ethanol and acetate	Najafpour G, Younesi H, 2006
<i>Clostridium ragsdlei</i> P11	CO, CO ₂ and H ₂	Ethanol and acetic acid	Kundiyanan <i>et al.</i> , 2011
Mesophilic bacterium P7	CO, CO ₂ + H ₂	Ethanol, acetate, butanol and butyrate	Rajagopalan <i>et al.</i> , 2002; Datar <i>et al.</i> , 2004
<i>Moorella sp.</i> HUC22-1	Fructose, CO ₂ +H ₂	Acetate and ethanol	Sakai <i>et al.</i> , 2004

ดังนั้นการนำก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาผลิตเป็นเอทานอลด้วยวิธีทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการทำให้เกิดเชื้อเพลิงชีวภาพมากขึ้น และช่วยลดมลพิษทางอากาศที่เกิดจากอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่ต้องได้รับการพัฒนา (Mckendry, 2002; Rajagopalan *et al.*, 2002; Sakai *et al.*, 2005; Antoni *et al.*, 2007)

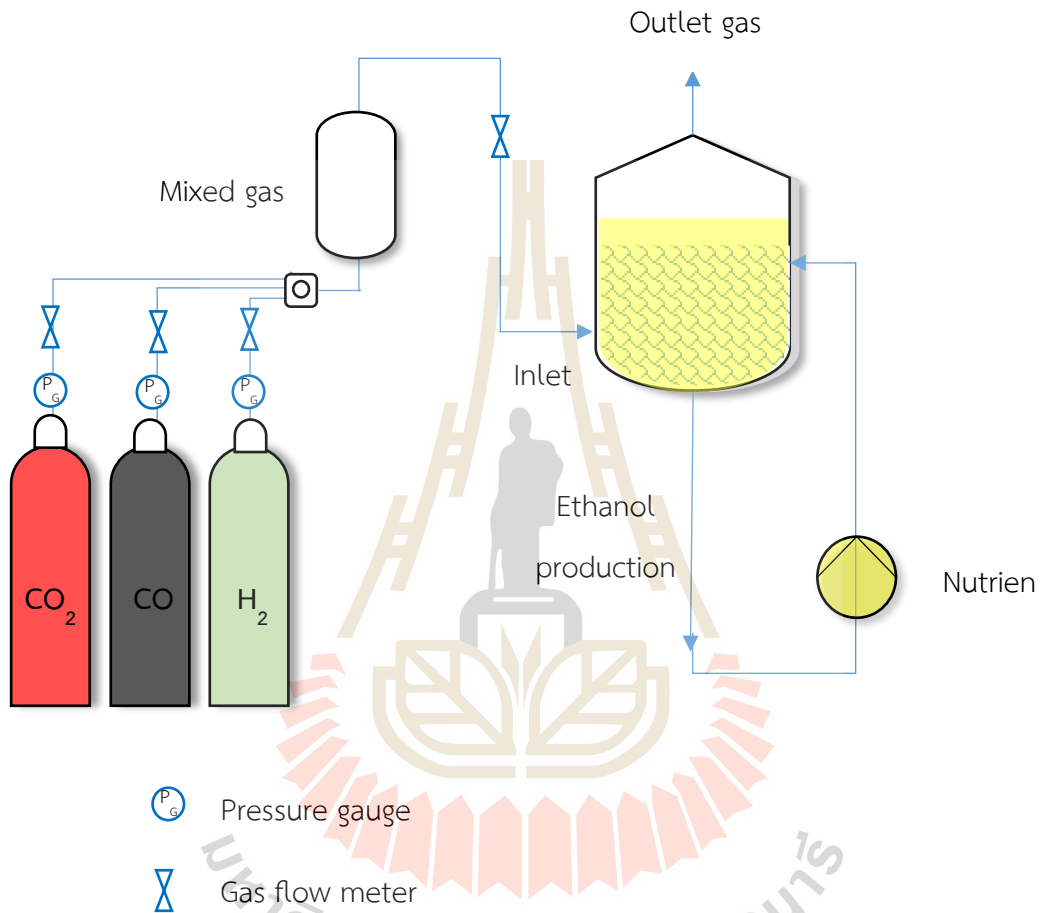
2.7 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

การนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ และไฮโดรเจนหรือ Synthesis gas ที่เกิดจากการเผาไหม้ชีวมวลหรือเรียกว่า กระบวนการที่ทำให้เกิดก๊าซ (Gasification) แล้วนำไปผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ก๊าซคาร์บอนได้เรียกว่า Autotrophic bacteria จะทำให้เกิดเอทานอลขึ้น (Reed and Jantzen, 1979; Vega et al., 1990; Klasson et al., 1992; Natarajan et al., 1998; Datar, 2004) หรืออาจใช้ก๊าซที่มีคาร์บอนเพียงพอ (Carbon-rich gaseous) เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอลได้เช่นเดียวกัน (Cotter, 2006) ตามปฏิกิริยาที่ 1 และ 2 (Vega et al., 1990; Phillips et al., 1994)



จากปฏิกิริยาดังกล่าวมีก๊าซไฮโดรเจนเป็นก๊าซอีกชนิดหนึ่งซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่มีส่วนในการผลิตเอทานอลได้สมบูรณ์มากขึ้นเช่นเดียวกับก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และคาร์บอนไดออกไซด์ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการหมักก๊าซคาร์บอนดังกล่าวให้เป็นเอทานอลได้นั้น ได้แก่ *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium autoethanogenum*, *Moorella* sp. HUC22-1, and *Bacterium* P7 (Barik et al., 1988; Abrini et al., 1993; Rajagopalan et al., 2002; Datar et al., 2004; Sakai et al., 2004) ขณะเดียวกันโครงการศึกษาวิจัยการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และคาร์บอนมอนอกไซด์ที่ผ่านมามีจุลินทรีย์ 2 ชนิดที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้ นั่นคือ SUTSP1 และ SUTSP5 ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ 0.02% ภายในระยะเวลา 3 ชั่วโมง แต่จากปฏิกิริยาที่ 1 และ 2 จะเห็นว่าหากมีการนำก๊าซไฮโดรเจนมาเป็นก๊าซตั้งต้นอีกชนิดหนึ่งอาจทำให้ได้ปริมาณเอทานอลมากขึ้น ข้อดีของการผลิตเอทานอลจากวิธีนี้คือ การใช้ก๊าซคาร์บอนซึ่งเป็นก๊าซที่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางอากาศและส่งผลกระทบต่อสภาวะโลกร้อนตามที่ทั่วโลกหันมาสนใจและหาหนทางลดกระบวนการต่างๆ ที่ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนขึ้นหรือให้เกิดก๊าซคาร์บอนน้อยที่สุดนั้นมาใช้ประโยชน์ให้เกิดพลังงานเชื้อเพลิงซึ่งมีแนวโน้มความต้องการมากขึ้นในปัจจุบัน และยังเป็นการนำพลังงานจากก๊าซไฮโดรเจนมาเป็นส่วนช่วยเพิ่มให้เกิดการผลิตเอทานอลได้อีกทางหนึ่งด้วย ซึ่งโครงการศึกษาวิจัยนี้จะทำการพัฒนาการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนด้วยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนดังกล่าวให้เป็นเอทานอลได้จากปฏิกิริยา 1 และ 2 โดยการสร้างแบบจำลองการผลิตเอทานอลขึ้นดังรูปที่ 1 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนจะเป็นสารตั้งต้นในการผลิต

เมื่อในถังปฏิกิริยาไร้อากาศ (Anaerobic reactor) มีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอล จะทำการเปลี่ยนก๊าซผสมดังกล่าวที่เข้าสู่ถังปฏิกิริยาให้เป็นเอทานอล จากกระบวนการดังกล่าวทำให้ได้แบบจำลองการผลิตเอทานอลดังภาพที่ 2-4



ภาพที่ 2-4 กรอบแนวคิดแบบจำลองการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมโดยจุลินทรีย์

บทที่ 3

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการผลิตเอทานอลจากจุลินทรีย์ SUTSP1 และ SUTSP5 ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสม และศึกษาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยระบบ EthaRex โดยแบ่งช่วงการพัฒนาสถานะและตัวแปรในการทดลองออกเป็น 2 การศึกษาวิจัยหลักด้วยกัน คือ การศึกษาการผลิตเอทานอลเบื้องต้น (Preliminary study) และพัฒนาระบบการผลิตเอทานอล (Ethanol production reactor) ดังนี้

3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลองเพื่อพัฒนาการผลิตเอทานอลของระบบ EthaRex system

3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.2.1 จุลินทรีย์ในการทดลอง (Ethanol producing microorganisms)

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองทำการแยกจากตะกอนในระบบบำบัดน้ำเสียแบบสภาวะไร้อากาศ (Anaerobic lagoon) จากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีระบบนี้ ซึ่งได้ทำการศึกษาวิจัยแล้วว่าสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะไร้ออกซิเจนและมีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้ ได้แก่ SUTSP1 และ SUTSP5 โดยเมื่อนำจุลินทรีย์แต่ละชนิดมาศึกษาในการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และคาร์บอนมอนอกไซด์ โดยมีไนโตรเจนเป็นก๊าซที่เจือจางพบว่า SUTSP1 มีความสามารถรวมในการผลิตเอทานอลได้ 0.2% อย่างไรก็ตามจะดำเนินการศึกษาการผลิตเอทานอลของ SUTSP5 เพื่อดูความสามารถในการพัฒนาต่อยอดการใช้ประโยชน์จากก๊าซประเภทอื่นผสมกับก๊าซคาร์บอนที่ได้อีกว่ามา จุลินทรีย์ SUTSP1 และ SUTSP5 ปริมาตร 10%v/v จะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Enrichment nutrient) 10 มิลลิลิตร ที่พีเอช 5-6 ในขวดทดลอง (Serum bottle) และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์เพื่อให้เกิดสภาวะไร้อากาศในปริมาตร 20:80 v/v แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศก่อนที่จะดำเนินการทดลองต่อไป

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth

อาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรมีส่วนประกอบดังนี้ 3.0 กรัม บีฟอกซ์แทรกซ์ และ 5 กรัม เพปโตน

3.2.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Enrichment nutrient

อาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรมีส่วนประกอบดังนี้ 1.0 กรัม แอมโมเนียมคลอไรด์, 0.8 กรัม โซเดียมคลอไรด์, 0.1 กรัม โปแตสเซียมคลอไรด์, 0.1 กรัม โปแตสเซียมโมโนฟอสเฟต, 0.2 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต, 20 มิลลิกรัม แคลเซียมคลอไรด์, 1.0 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 1.0 กรัม ยีสต์เอกซเทรค, 0.2 กรัม ซีสเทอีนไฮโดรคลอไรด์, 0.2 กรัม โซเดียมซัลไฟด์, 20 มิลลิโมล โบโรไมอีเทนซัลโฟนิค เอซิก และเพิ่ม 10 มิลลิลิตรของแร่ธาตุที่สำคัญและธาตุโลหะที่สำคัญ

แร่ธาตุที่สำคัญ 1 ลิตร ประกอบด้วย 40 กรัม โซเดียมคลอไรด์, 50 กรัม แอมโมเนียมคลอไรด์, 5 กรัม โปแตสเซียมคลอไรด์, 5 กรัม โปแตสเซียมโมโนฟอสเฟต, 10 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต และ 2 กรัม แคลเซียมคลอไรด์

สารละลายธาตุโลหะที่สำคัญ 1 ลิตร ประกอบด้วย 2 กรัม ไนโตรโลไตรอะซีติก เอซิก, 1 กรัม แมงกานีสซัลเฟต, 0.8 กรัม เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต, 0.2 กรัม โคบอลคลอไรด์, 0.2 กรัม ซิงค์ซัลเฟต และ 20 มิลลิกรัมของควิพริกคลอไรด์ นิกเกิลคลอไรด์ โซเดียมโมลิบเดต โซเดียมซีลีเนตและโซเดียมทั้งสเตท

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

1. เตาอบแห้ง (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น UE 500
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น BE 500
3. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ยี่ห้อ TKA รุ่น Steroclave 24 และ ยี่ห้อ Hiclave รุ่น HV-50
4. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น AG 285
5. เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precisa รุ่น XT 1200 C
6. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Jenway รุ่น 3510
7. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow) ยี่ห้อ HOLTEN รุ่น SAFE 2010
8. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น 7890A

3.4 การศึกษาการผลิตเอทานอล

พัฒนาสภาวะและตัวแปรในการทดลอง แบ่งเป็น 2 การศึกษาวิจัยหลักด้วยกัน ประกอบด้วย การศึกษาการผลิตเอทานอลเบื้องต้น (Preliminary study) และพัฒนาระบบการผลิตเอทานอล (Ethanol production reactor)

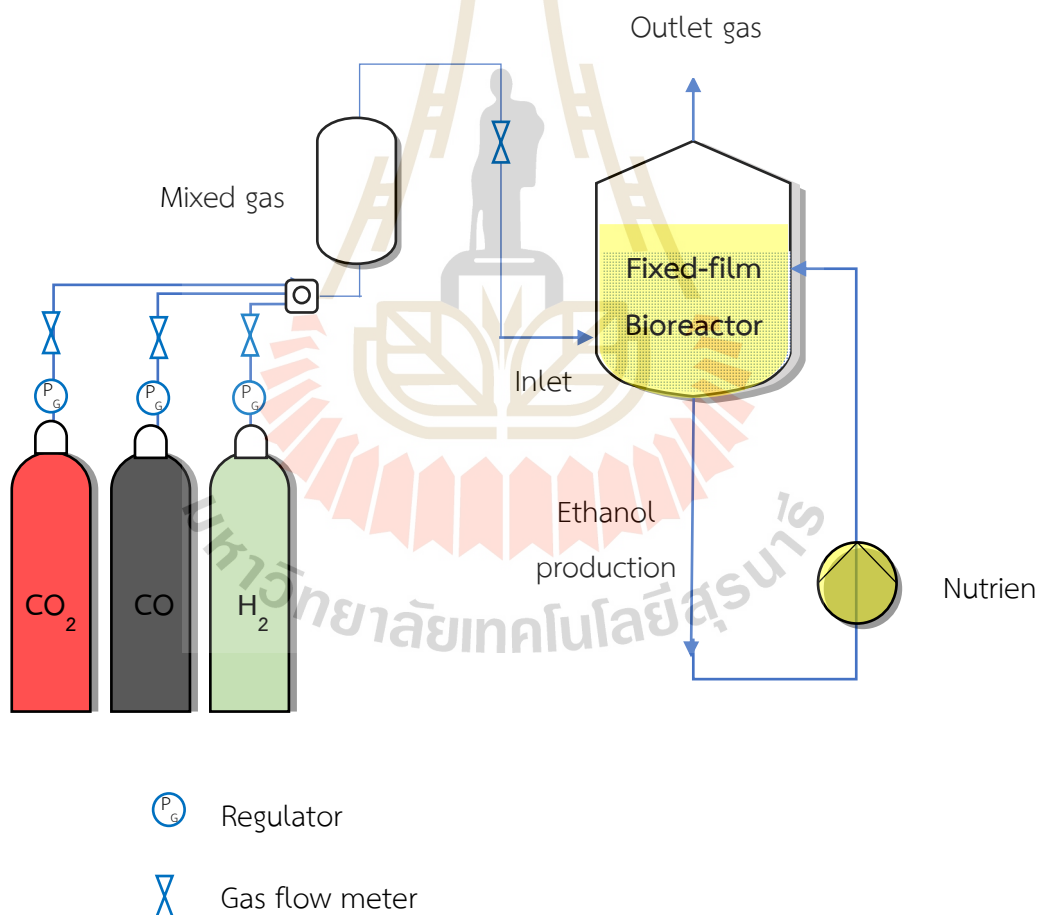
3.4.1 การผลิตเอทานอลเบื้องต้น (Preliminary study)

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อศึกษาประเภทของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอล โดยทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ ในการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนทั้งสองชนิด (carbon-rich gases) ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ ร่วมกับก๊าซไฮโดรเจน

โดยการนำก๊าซผสมดังกล่าว ($\text{CO}_2:\text{CO}:\text{H}_2$) ที่มีความเข้มข้น 30:50:60 % โดยปริมาตร ใส่ลงขวดทดลอง (Serum bottle) ศึกษาการเจริญเติบโตและความสามารถในการผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ Nutrient broth และอาหาร Enrichment medium ที่มีจุลินทรีย์แต่ละชนิดได้แก่ SUTSP1 และ SUTSP5 10% โดยปริมาตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อศึกษาสารอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์

3.4.2 การพัฒนาระบบการผลิตเอทานอล (Ethanol Production Bioreactor)

ถึงปฏิบัติการของระบบทำจากแก้วซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.15 เมตร และความสูงเท่ากับ 0.30 เมตร ปริมาตรของสารอาหารรวมในถังปฏิบัติการเท่ากับ 2 ลิตร นอกนั้นเป็นส่วนของก๊าซที่เติมเข้าไปในระบบซึ่งเติมก๊าซที่มีส่วนผสมระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนอย่างต่อเนื่องด้วยอัตราการไหลคงที่ (ภาพที่ 3-1 และ 3-2) ตลอดเวลาขณะเดินระบบ



ภาพที่ 3-1 : แบบจำลองระบบการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมทั้ง 3 ชนิดโดยจุลินทรีย์ SUTSP1และSUTSP5 (1. Regulator; 2. Flow meter; 3. 3-way connector tank; 4. Ethanol bioreactor; 5. Peristaltic pump; 6. Recirculation tank)



ภาพที่ 3-2 ระบบการผลิตเอทานอล (EthaRex system)

พัฒนาสถานะและตัวแปรในการทดลอง โดยผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนด้วยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงจากการศึกษาเบื้องต้น โดยในส่วนของระบบได้แบ่งย่อยเป็น 2 สถานะที่แตกต่างกันตามปริมาณของก๊าซที่เข้าระบบ เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอลได้ เติบระบบต่อเนื่องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 3-1) ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวภายในถังปฏิกิริยา เพื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของเอทานอลในถังปฏิกิริยาที่จุลินทรีย์ผลิตได้

ตารางที่ 3-1 สภาวะและตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย

ตัวแปรที่ศึกษา	ค่าที่ใช้ในการทดลอง	
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2
ปริมาตรก๊าซ CO ₂ : CO: H ₂ (vol%:vol%:vol%)	15:25:40	30:50:20
อัตราการไหลของก๊าซ (ml/min)	100	100
สารอาหารรวมในถังปฏิกิริยา (L)	2	2
ค่าพีเอชในถังปฏิกิริยา	5-6	5-6
ปริมาณจุลินทรีย์ (%)	10	10
ระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง (ชั่วโมง)	12, 24, 48, 72	12, 24, 48, 72

3.4.3 การวิเคราะห์ผลการศึกษา

- 1) การวัดอัตราการไหลของก๊าซแต่ละชนิดด้วย Gas Flowmeter
- 2) การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบ วิเคราะห์ด้วยวิธีเทคนิคการนับโคโลนี (Colony count technique)

การคำนวณ

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนี} \times \text{สัดส่วนเจือจาง}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

3) การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล โดยเก็บตัวอย่างของเหลวที่เข้าและออกจากถังปฏิกิริยา และวิเคราะห์เอทานอลในของเหลวที่ไหลเวียนในถังปฏิกิริยาด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ชนิด Flame Ionization Detector เทียบกับกราฟมาตรฐาน ด้วยการนำตัวอย่างของเหลวที่กลั่นได้ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และเติม 0.3% n-propanol เป็น internal standard ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวด Screw cap vial นำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยการใช้เครื่อง GC-FID ด้วยวิธี Head space technique โดยสภาวะของ Gas chromatograph จะควบคุมโดยใช้สภาวะดังนี้

Column	;	HP-INNOWAX, 30 m, DI 0.25 mm, Film ticks 0.25 μm .
Inlet temperature	;	100 °C
Front inlet (Carrier gas)	;	Helium
Flow gas	;	4.1 ml/min

Average velocity ;	64.733 cm/sec
Run time ;	6 min
Mode ;	Splitless mode
Oven initial temperature :	40 °C 6 minute
Back detector FID ;	250 °C
H ₂ flow ;	40 ml/min
Air flow ;	300 ml/min
Makeup flow ;	25 ml/min
Const Col + Makeup ;	29.1 ml/min

3.1) การสร้างกราฟมาตรฐานจากการหาอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานเอทานอลจากสมการ

$$\text{พื้นที่ใต้กราฟ} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานเอทานอล}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานภายใน}}$$

นำอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลไปเขียนกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

3.2) การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลจากการหาอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่างจากสมการ

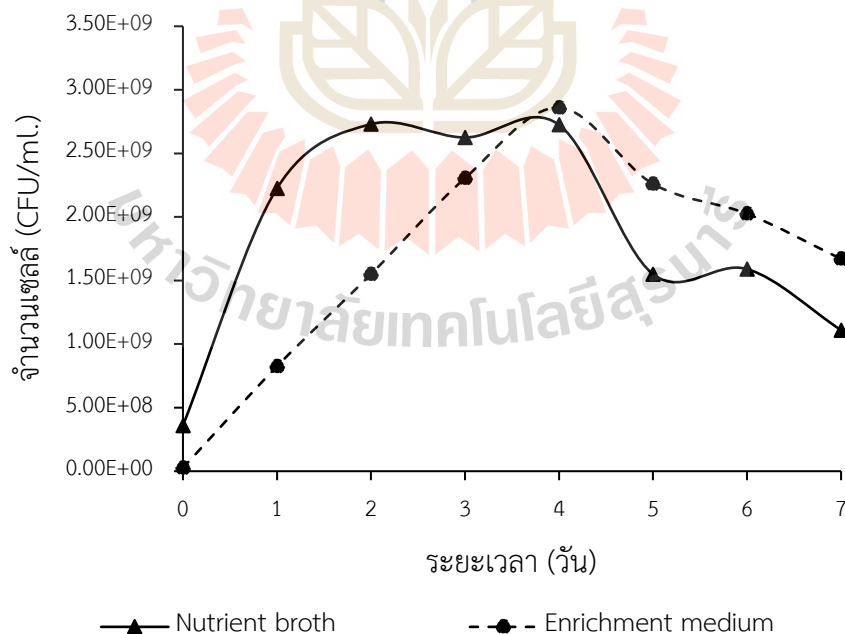
$$\text{พื้นที่ใต้กราฟ} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายเอทานอลในตัวอย่าง}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานภายใน}}$$

นำอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่างที่คำนวณได้เทียบกับค่าความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลในกราฟมาตรฐาน

plate count) โดยอาศัยหลักการว่า จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้รับสารอาหารจะสามารถเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน

ตารางที่ 4-1 จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ SUTSP1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

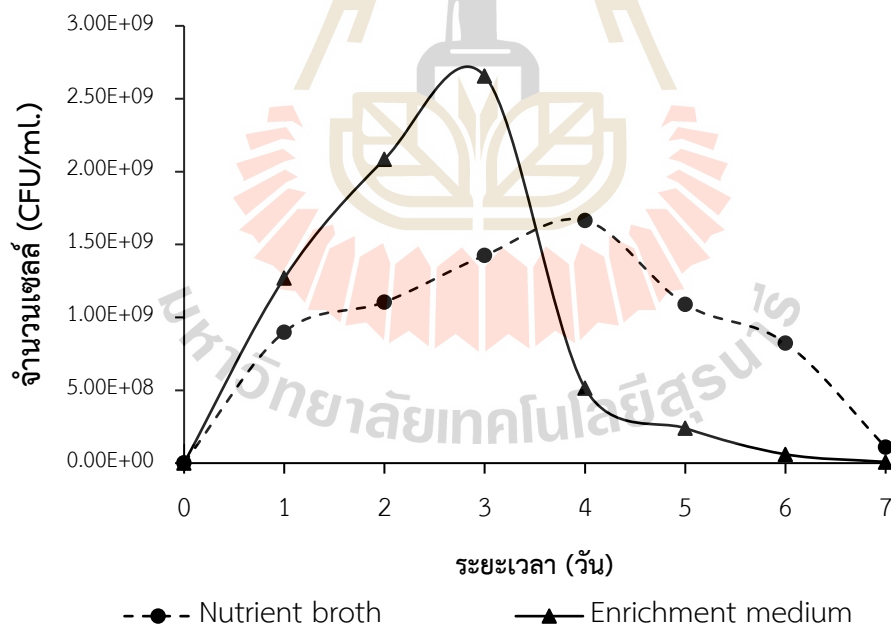
ระยะเวลา (วัน)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL.)	
	Nutrient broth (NB)	Enrichment medium
0	3.60E+08	2.60E+07
1	2.23E+09	8.25E+08
2	2.73E+09	1.55E+09
3	2.63E+09	2.31E+09
4	2.73E+09	2.86E+09
5	1.55E+09	2.26E+09
6	1.59E+09	2.03E+09
7	1.11E+09	1.67E+09



ภาพที่ 4-1 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ SUTSP1 ในช่วงระยะเวลา 7 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)

ตารางที่ 4-2 จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ SUTSP5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	
	Nutrient broth (NB)	Enrichment medium
0	2.20E+06	1.45E+06
1	9.00E+08	1.27E+09
2	1.11E+09	2.09E+09
3	1.43E+09	2.66E+09
4	1.67E+09	5.15E+08
5	1.09E+09	2.40E+08
6	8.25E+08	6.05E+07
7	1.10E+08	8.10E+06



ภาพที่ 4-2 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ SUTSP5 ในช่วงระยะเวลา 7 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)

ผลการศึกษาพบว่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด มีระยะเวลาในการทวีคูณหรือ Generation time ที่แตกต่างกัน โดยพบว่าการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ SUTSP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตจากจำนวนเซลล์เริ่มต้น 3.6×10^8 CFU/ml. โดยสามารถเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้สูงสุดในวันที่ 4 เท่ากับ 2.73×10^9 CFU/ml. จากนั้นจำนวนโคโลนีมีแนวโน้มลดลงและมีจำนวนเซลล์เจริญเติบโตเท่ากับ 1.11×10^9 CFU/ml. ในวันที่ 7 ของการศึกษา ขณะที่การเจริญเติบโตของ SUTSP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Enrichment medium (EN) พบว่าจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้สูงสุดเท่ากับ 2.86×10^9 CFU/ml. ในวันที่ 4 ของการศึกษาเช่นเดียวกัน จากนั้นจำนวนเซลล์มีแนวโน้มลดลงในวันที่ 5 ขณะที่จุลินทรีย์ SUTSP5 สามารถเจริญเติบโตในอาหาร NB และ EN มีจำนวนเซลล์ 1.67×10^9 CFU/ml. และ 2.66×10^9 CFU/ml ได้ดีที่สุดในวันที่ 4 และ 3 ของการศึกษา ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1 และ 4-2 และ ภาพที่ 4-1 และ 4-2) จะเห็นได้ว่าชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังนั้นการศึกษานี้จึงนำจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตในระยะเวลาที่มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์สูงสุดไปใช้ในการเตรียมเชื้อเริ่มต้นเพื่อการผลิตเอทานอล ตลอดจนการวิจัยนี้ เนื่องจากเป็นระยะที่จุลินทรีย์มีการแบ่งตัวในอัตราคงที่ ซึ่งการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งจะใช้เวลาเท่า ๆ กัน

4.2 การศึกษาการผลิตเอทานอลของ SUTSP1 และ SUTSP 5

การพัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยจุลินทรีย์แต่ละชนิด แบ่งเป็น 2 การศึกษาวิจัย ประกอบด้วย การศึกษาการผลิตเอทานอลเบื้องต้น (Preliminary study) ในขวดทดลอง (Serum bottle) และการศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยการจำลองระบบการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจน (EthaRex system) ผลการศึกษามีดังนี้

4.2.1 การศึกษาการผลิตเอทานอลเบื้องต้น (Preliminary study)

การศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยก๊าซผสม ในเบื้องต้นเพื่อเป็นการทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์แต่ละชนิดในการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนทั้งสองชนิด (carbon-rich gases) ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจน ซึ่งเป็นก๊าซที่สังเคราะห์ขึ้น และจะเป็นสารตั้งต้นให้จุลินทรีย์นำไปใช้ในการผลิตเอทานอลได้ (Rajagopalan *et al.*, 2002; Datar *et al.*, 2004) และเพื่อศึกษาสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ในการผลิตเอทานอล ผลการศึกษามีดังนี้

4.2.1.1 การผลิตเอทานอลของ SUTSP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB)

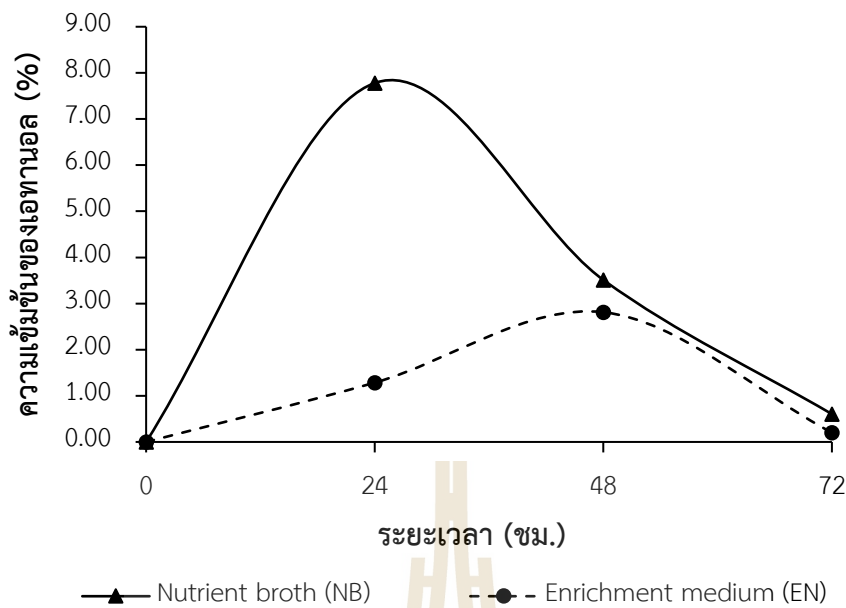
การศึกษาพบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมได้ โดยจุลินทรีย์มีการผลิตเอทานอลได้สูงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก มีความเข้มข้น 7.7795 %โดยปริมาตร คิดเป็นเอทานอล 2.6647 mol/L หรือ 61.3806 g/L จากนั้นพบว่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ SUTSP1 ผลิตได้มีแนวโน้มลดลงเป็น 5.4669 %โดยปริมาตร คิดเป็นเอทานอล 1.8725 mol/L หรือ 43.1338 g/L ในชั่วโมงที่ 48 และลดลงเหลือเพียง 0.6034 %โดยปริมาตร ในชั่วโมงที่ 72 (ตารางที่ 4-2)

4.2.1.2 การผลิตเอทานอลของ SUTSP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Enrichment medium

เมื่อทดสอบด้วยการเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EN พบว่า จุลินทรีย์สามารถผลิตเอทานอลได้น้อยกว่า พบเอทานอลเข้มข้น 1.2849 %โดยปริมาตร คิดเป็นเอทานอล 0.4401 mol/L หรือ 10.1381 g/L จากนั้นพบความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือ 2.8125%โดยปริมาตร คิดเป็นเอทานอล 0.9633 mol/L หรือ 22.1903 g/L ในชั่วโมงที่ 48 และลดลงเหลือเพียง 0.2025%โดยปริมาตร ดังตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-3 ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากในสภาวะที่มีเอทานอลสูง การเจริญเติบโตและการหมักของจุลินทรีย์จะถูกยับยั้ง เนื่องจากเอทานอลมีผลต่อเอนไซม์และสรีรวิทยาของเซลล์จึงส่งผลทำให้อัตราการหมักลดลง

ตารางที่ 4-3 ผลการทดสอบเบื้องต้นในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมของ SUTSP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน (ผลของกราฟการวิเคราะห์หาเอทานอลดังภาคผนวก ข)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอทานอล (%)		ความเข้มข้นของเอทานอล (mol/L)		ความเข้มข้นของเอทานอล (g/L)	
	NB	EN	NB	EN	NB	EN
	24	7.7795	1.2849	2.6647	0.4401	61.3806
48	5.4669	2.8125	1.8725	0.9633	43.1338	22.1903
72	0.6034	0.2025	0.2067	0.0694	4.7611	1.5981



ภาพที่ 4-3 ความเข้มข้นของเอทานอลโดยใช้ก้าผสม เมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ SUTSP1 ในอาหาร Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)

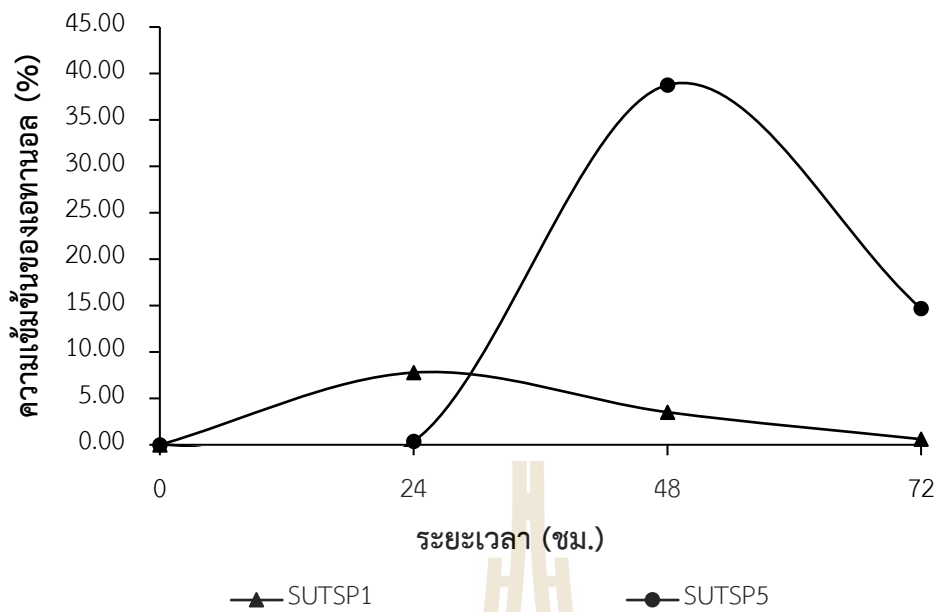
4.2.1.3 การผลิตเอทานอลของ SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB)

เมื่อพิจารณาถึงการผลิตเอทานอลของ SUTSP5 พบว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้มีความสามารถสูงในการผลิตเอทานอลนั้นคือสามารถผลิตได้ถึง 38.7602% โดยปริมาตร คิดเป็นเอทานอล 13.2762 mol/L หรือ 305.8180 g/L ภายในเวลา 48 ชั่วโมง และยังสามารถผลิตเอทานอลได้อยู่ที่ 14.6679% หรือ 115.7301 g/L ในชั่วโมงที่ 72 ของการศึกษา (ตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-4)

4.2.1.4 การผลิตเอทานอลของ SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Enrichment medium

สำหรับผลิตเอทานอลของ SUTSP5 ในอาหาร EN นั้น จุลินทรีย์ยังคงมีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้ดีเช่นเดียวกันโดยพบความเข้มข้นของเอทานอล 38.6875% โดยปริมาตร ในชั่วโมงที่ 24 แต่มีแนวโน้มลดลงเหลือ 11.0950% โดยปริมาตรในชั่วโมงที่ 72 ของการศึกษา อย่างไรก็ตามเอทานอลที่ผลิตได้มีความเข้มข้นน้อยกว่าเมื่อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ตลอดระยะเวลาการศึกษา (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-4)

ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน วิตามินที่ละลายน้ำ และเพปโตน (Peptone) ซึ่งได้จากการย่อยสลายโปรตีนที่ให้ประโยชน์ต่อแบคทีเรีย (SciMath., 2560) สารอาหารดังกล่าวจึงเอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนทำให้สามารถผลิตเอทานอลได้ดีขึ้น จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ต้องการสารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตโดยเป็นส่วนสำคัญขององค์ประกอบหลัก (major component) ของเซลล์ สารอาหารเหล่านั้นคือ คาร์บอน ออกซิเจน ไนโตรเจน และไฮโดรเจน รวมทั้งวิตามินสำหรับเซลล์ อย่างไรก็ตามในระดับอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ มักจะมีการเติมธาตุอาหารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์นอกเหนือจากคาร์โบไฮเดรต แต่สำหรับสารตั้งต้นบางชนิด อาจจะต้องมีการเติมธาตุอาหารบางอย่างเสริมลงไป เช่น ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โปแตสเซียม และแมงกานีส เพื่อการสังเคราะห์องค์ประกอบรอง (minor component) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารทั้ง 2 ชนิดจากการศึกษาข้างต้น จึงเลือกใช้ Nutrient broth เป็นสารอาหารในถังปฏิกรณ์สำหรับระบบผลิตเอทานอลจากก๊าซผสม ขณะที่จากการศึกษาดังกล่าวจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ SUTSP1 สามารถผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนทั้งสองชนิดร่วมกับก๊าซไฮโดรเจนได้น้อยกว่า SUTSP5 (ภาพที่ 4-5) ตลอดระยะเวลาการศึกษา ซึ่งผลการทดสอบแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ (สิราภรณ์และคณะ, 2553) รวมทั้งยังพบว่าเมื่อเปลี่ยนสารตั้งต้นจากก๊าซไนโตรเจนเป็นก๊าซไฮโดรเจนเพื่อให้จุลินทรีย์แต่ละชนิดได้องค์ประกอบของสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตนั้นสนับสนุนให้มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น ดังนั้นในการศึกษาในระบบการผลิตเอทานอลจึงดำเนินการโดยเลือกจุลินทรีย์ SUTSP5 ที่มีความสามารถสูงสุดในการผลิตเอทานอลเพื่อพัฒนาระบบให้เกิดการผลิตที่มีประสิทธิภาพต่อไป



ภาพที่ 4-5 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตจากจุลินทรีย์ SUTSP1 และ SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB)

4.2.2 ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยระบบผลิตเอทานอลจากก๊าซผสม (EthaRex system)

การพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลโดยการนำจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงและสารอาหารที่เหมาะสมในการศึกษาเบื้องต้นมาทดสอบการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมในอัตราส่วน 15:25:40% โดยปริมาตร จากการเดินระบบต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการศึกษา ที่อัตราการไหลของก๊าซเข้าระบบผลิตเอทานอลเท่ากับ 100 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวในระบบเพื่อทำการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลในชั่วโมงที่ 6, 12, 24 และ 48 พบว่าระบบไม่สามารถผลิตเอทานอลได้จากก๊าซผสมในอัตราส่วนดังกล่าว จึงได้ทำการทดสอบระบบ EthaRex เบื้องต้นอีกครั้งโดยเพิ่มความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และลดก๊าซไฮโดรเจนลง ในอัตราส่วน 30:50:20 % โดยปริมาตร ทั้งนี้อัตราการไหลของก๊าซผสมเข้าระบบยังคงเดิม ทำการเดินระบบต่อเนื่องตลอดระยะเวลา โดยทำการเก็บตัวอย่างของเหลวเพื่อทำการวิเคราะห์หาเอทานอล พร้อมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณของจุลินทรีย์ รวมถึงค่าความเป็นกรดต่างของของเหลวจากระบบในแต่ละชั่วโมงที่ทำการเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกัน

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของก๊าซผสมเป็น 30:50:20 % โดยปริมาตร ระบบเริ่มมีความสามารถในการผลิตเอทานอล (ตารางที่ 4-5) โดยในชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ผลิตเอทานอลได้ที่ระดับความเข้มข้น 0.6041 % คิดเป็นเอทานอล 0.2069 mol/L หรือ 4.7664 g/L ขณะที่ในชั่วโมงที่

48 ของการศึกษา ไม่พบว่ามีการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์เกิดขึ้น เช่นเดียวกับจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงจากชั่วโมงก่อนหน้า คือลดลงจาก 7.45×10^7 CFU/ml. เป็น 1.51×10^7 CFU/ml. และค่าความเป็นกรดต่างที่ลดลงเหลือเพียง 4.12 ซึ่งมีสถานะเป็นกรด ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทำปฏิกิริยาของคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเกิดเป็นกรดคาร์บอนิก (Carbonic acid) จึงทำให้สารอาหารภายในระบบมีความเป็นกรดเกิดขึ้น สถานะดังกล่าวอาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตซึ่งส่งผลต่อการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ ค่า pH ของสารอาหารที่เลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของระบบ (Munasinghe and Khanal, 2010) ทั้งนี้ค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนหรือ Carbon-rich gases หรือเรียกกันทั่วไปว่า Syngas นั้นควรอยู่ในช่วง 5.5 - 7.5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอลด้วยเช่นกัน เมื่อจุลินทรีย์มีจำนวนเซลล์ลดลง จึงปรับสภาวะการทดลองด้วยการเติมจุลินทรีย์ SUTSP5 เพิ่มลงไปในระบบเป็น 20% พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นคือ 1.0517% หรือเมื่อคิดเป็นความเข้มข้นโดยน้ำหนักต่อปริมาตรเท่ากับ 8.2981 g/L หากคิดวิเคราะห์ความเข้มข้นเป็นโมลาร์หรือ Molarity (M, mol/L) ของสารละลายจะพบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะเท่ากับ 0.3602 M ในชั่วโมงที่ 72 ของการศึกษา (ดังแสดงผลของกราฟวิเคราะห์หาเอทานอลในภาคผนวก ง) เมื่อทำการตรวจหาจุลินทรีย์ SUTSP5 ในช่วงเวลาดังกล่าวพบว่า จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์อยู่ที่ 5.15×10^7 CFU/ml. และค่าความเป็นกรดต่างของระบบเพิ่มขึ้นเป็น 5.99 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Sakai และคณะ (2005) พบว่าการผลิตเอทานอลจากการใช้ก๊าซผสมของคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนด้วยแบคทีเรีย *Moorella* sp. HUC22-1 ในสภาวะที่ควบคุมค่าความเป็นกรดต่างของสารอาหารอยู่ที่ 5.8 จุลินทรีย์สามารถผลิตเอทานอลได้มากถึง 15.4 mmol/L ในชั่วโมงที่ 430 ของการศึกษา อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากระบบไปทำการกลั่นเพื่อวิเคราะห์หาเอทานอลในชั่วโมงที่ 96 และ 120 ผลการวิเคราะห์ไม่พบว่ามีเอทานอลเกิดขึ้นในช่วงเวลาดังกล่าว ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเอทานอลที่เซลล์จุลินทรีย์ผลิตขึ้นเองอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (Datar et al., 2004) รวมถึงสารอาหารภายในระบบอาจมีปริมาณลดลงจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ในระบบด้วย เห็นได้จากการเจริญเติบโตลดลงเหลือเพียง 2.88×10^7 CFU/ml. ทั้งนี้สารอาหารภายในระบบต้องประกอบไปด้วยสารอาหารที่มีแร่ธาตุ (Mineral nutrient) ธาตุโลหะที่สำคัญ (Trace element) วิตามิน (Vitamins) และอื่น ๆ ที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ใช้ในการศึกษา

ตารางที่ 4-5 ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้จากการทดสอบระบบ EthaRex เบื้องต้นที่มีจุลินทรีย์ 10 และ 20% ก๊าซผสม 30:50:20 %โดยปริมาตร

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	จุลินทรีย์ (%)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (%)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (mol/L)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/L)	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)	pH
24	10	0.6041±0.000	0.2069±0.000	4.7664±0.000	7.45E+07	5.83
48		ND	ND	ND	1.51E+07	4.12
72	20	1.0517±0.0431	0.3602±0.0148	8.2981±0.3401	5.15E+07	5.99
96		ND	ND	ND	6.70E+07	5.86
120		ND	ND	ND	2.88E+07	6.13

การทดสอบดังกล่าวพบว่าเมื่อปรับเพิ่มความเข้มข้นของก๊าซผสมเท่ากับ 30:50:20 % โดยปริมาตร ส่งผลให้การผลิตเอทานอลของระบบมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ *Clostridium ljungdahlii* และ *Bacterium P7* สามารถผลิตได้สูงสุด 0.062 g/L และ 0.15 g/L ตามลำดับ (Phillips *et al.*, 1994; Rajagopalan *et al.*, 2002) สายพันธุ์ *C. ljungdahlii* ได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องในเรื่องการผลิตเอทานอล ขณะที่การศึกษาของ Liu และคณะ (2012) พบว่า *Alkalibaculum bacchi* สามารถผลิตเอทานอลได้ 1.7 g/L เมื่อใช้สัดส่วนของก๊าซผสมของคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนเท่ากับ 40:30:30 โดยปริมาตร นอกจากความเหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบแล้ว การเพิ่มไฮโดรเจนสำหรับระบบยังเป็นอีกปัจจัยที่อาจทำให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้นได้ (Klasson *et al.*, 1992; Sakai *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2012; Latif *et al.*, 2014)

จากผลการศึกษาข้างต้นจึงดำเนินการทดสอบการผลิตเอทานอลของระบบ EthaRex ต่อเนื่องเป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยกำหนดสภาวะที่เหมาะสมที่สุดตามการศึกษาเบื้องต้นได้แก่ ความเข้มข้นของก๊าซผสม 30:50:20 %โดยปริมาตร และจุลินทรีย์ 20% โดยปริมาตร เพื่อศึกษาความสามารถของระบบในการผลิตเอทานอลอย่างต่อเนื่อง (ตารางที่ 4-6) พบว่าระบบผลิตเอทานอลได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ที่ระดับความเข้มข้น 0.6516% หรือ 5.1411 g/L (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-6) จากนั้นสามารถผลิตเอทานอลมีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 22.4839% คิดเป็นความเข้มข้นในหน่วยโมลาร์ลิตรได้เท่ากับ 7.7012 M (mol/L) หรือคิดเป็นเอทานอลเข้มข้นถึง 177.3980 g/L ในชั่วโมงที่ 48 ของการศึกษา สัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 3.29×10^8 CFU/ml. จากชั่วโมงเริ่มต้นที่ 2.11×10^7 CFU/ml. โดยมีค่าความเป็น

กรดต่างของสารอาหารเท่ากับ 6.41 สอดคล้องกับการศึกษาของ Sun และคณะ (2018) พบว่าแบคทีเรีย *Clostridium ragsdalei* โดยใช้ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สัดส่วนผสม 40:30:30 %โดยปริมาตร สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้น 16.3% ซึ่งโดยทั่วไปการผลิตเอทานอลจากการหมักก๊าซของจุลินทรีย์นั้น ก๊าซที่นำมาหมักนี้ได้ผ่านกระบวนการ gasification ประกอบด้วยก๊าซ CO, CO₂, CH₄, H₂, N₂ ซึ่งก๊าซเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล โดยวิธีการหมักที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาชีวเคมีภายในเซลล์เรียกว่า Acetyl-CoA pathway ดังสมการต่อไปนี้



โดยมี CO ซึ่งเกิดจากกระบวนการ gasification เพียงอย่างเดียว จำนวนคาร์บอนที่จะเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล โดยใช้เอนไซม์ carbonmonoxide dehydrogenase กับ CO₂ ส่วนปฏิกิริยาระหว่าง H₂ กับ CO₂ นั้น พบว่า คาร์บอนทุกตัวสามารถเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้ทั้งหมดและเมื่อนำสมการที่ (1) และ (2) มารวมกันจะได้เป็นสมการที่ (3) ดังนี้

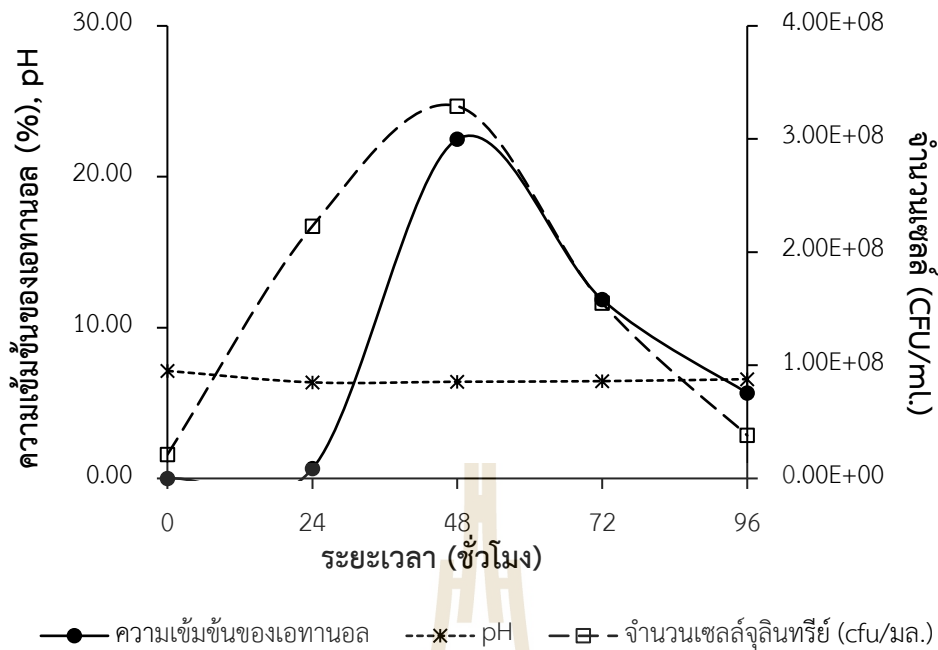


จากสมการที่ (3) พบว่า มีคาร์บอนจำนวน 2 ใน 3 ถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลโดยสมการหลังนี้ จะเกิดขึ้นจากการใช้เอนไซม์ hydrogenase ดังนั้นปริมาณเอทานอลที่ได้จะขึ้นอยู่กับสัดส่วนขององค์ประกอบของก๊าซที่นำมาหมัก อีกทั้งปริมาณ H₂ มีค่าน้อยกว่าที่คาดไว้เนื่องจากมีบางส่วนทำปฏิกิริยากับชีวมวลที่เป็นคาร์บอนเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอล (Datar *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บตัวอย่างของเหลวภายในระบบนำมากลั่นแยกเพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง GC-FID พบว่าเอทานอลที่จุลินทรีย์ผลิตได้นั้นมีความเข้มข้นลดลง โดยลดลงเหลือ 11.8479% คิดเป็นเอทานอล 4.0582 mol/L หรือ 93.4798 g/L ขณะที่ในชั่วโมงที่ 72 และลดลงเหลือเพียง 5.6627% ในชั่วโมงที่ 96 ของการศึกษา (ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID แสดงดังภาคผนวก จ) อาจเป็นผลมาจากในสภาพที่มีเอทานอลจากการผลิตของจุลินทรีย์ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการหมักจะถูกยับยั้งเพราะเอทานอลที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นเอง ดังที่ได้กล่าวมา ขณะที่การศึกษาการผลิตเอทานอลของยีสต์ที่พบว่าเมื่อเปอร์เซ็นต์เอทานอลมากกว่า 1% โดยน้ำหนัก จะมีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลงและจะหยุดเมื่อมีเอทานอล 4.7-7.8% โดยน้ำหนัก จากนั้นจะเป็นการหมักเอทานอลจนถึงความเข้มข้น 14% โดยน้ำหนัก (Mamlouk and Gullo., 2013) การที่ยีสต์ไม่เจริญเติบโตทำให้อัตราการหมักลดลงด้วย นอกจากนี้ อาจเกิดจากเอทานอลถูกนำกลับไปใช้เพื่อเป็น

แหล่งสารอาหารและพลังงานให้กับเซลล์อีกครั้งเมื่ออยู่ในสภาวะที่สารอาหารไม่เพียงพอ โดยเอทานอลจะถูกออกซิไดซ์เป็นอะซีตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) และเป็นอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl-CoA) เพื่อนำไปใช้ในการสร้างพลังงานและเพิ่มจำนวนเซลล์ผ่าน TCA cycle (Tricarboxylic acid cycle : TCA cycle) อีกครั้งหนึ่ง จึงทำให้เอทานอลมีปริมาณลดลง โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอล (Ethanol producing microorganisms) และมีความสามารถในการหมักก๊าซคาร์บอนดั่งกล่าวให้เป็นเอทานอลได้นั้น ได้แก่ *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium autoethanogenum*, *Moorella* sp. HUC22-1, และ Bacterium P7 (Barik *et al.*, 1988; Abrini *et al.*, 1993; Rajagopalan *et al.*, 2002; Datar *et al.*, 2004; Sakai *et al.*, 2004, 2005) และจากการศึกษาวิจัยโดย Rajagopalan และคณะ (2002) พบว่า การผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ Bacterium P7 มีความเข้มข้นเอทานอลเท่ากับ 0.61 %โดยน้ำหนัก เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี หรือคิดเป็น 0.15 โมลเอทานอลต่อโมล CO ที่ใช้ และจากการศึกษาวิจัยการผลิตด้วยกระบวนการแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch process) พบว่าผลิตเอทานอลได้น้อยกว่าคือผลิตได้ประมาณ 0.062 โมลเอทานอลต่อโมล CO ที่ใช้ (Phillips *et al.*, 1994) ซึ่งจากการวิจัยเหล่านี้พบว่า ควรมีการพัฒนาต่อโดยใช้การผลิตด้วยกระบวนการแบบต่อเนื่อง (Continuous process) เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น และควรควบคุมสภาวะการทดลองให้เหมาะสม ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ ปริมาตรของก๊าซที่ใช้ อัตราการไหลของก๊าซ และค่าความเป็นกรดต่าง (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-6)

ตารางที่ 4-6 ความเข้มข้นของเอทานอลในระบบ EthaRex ที่สภาวะจุลินทรีย์ 20% ก๊าซผสม 30:50:20 %โดยปริมาตร

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (%)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (mol/L)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/L)	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)	ค่า pH
0	ND	ND	ND	2.11E+07	7.13
24	0.6516±0.0300	0.2232±0.0103	5.1411±0.2368	2.23E+08	6.37
48	22.4839±1.3326	7.7012±0.4564	177.3980±10.5142	3.29E+08	6.41
72	11.8479±0.1864	4.0582±0.0639	93.4798±1.4709	1.55E+08	6.45
96	5.6627±0.0105	1.9396±0.0036	44.6789±0.0825	3.80E+07	6.58



ภาพที่ 4-6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้จากระบบ EthaRex ปริมาณของ จุลินทรีย์ และค่าความเป็นกรดต่าง

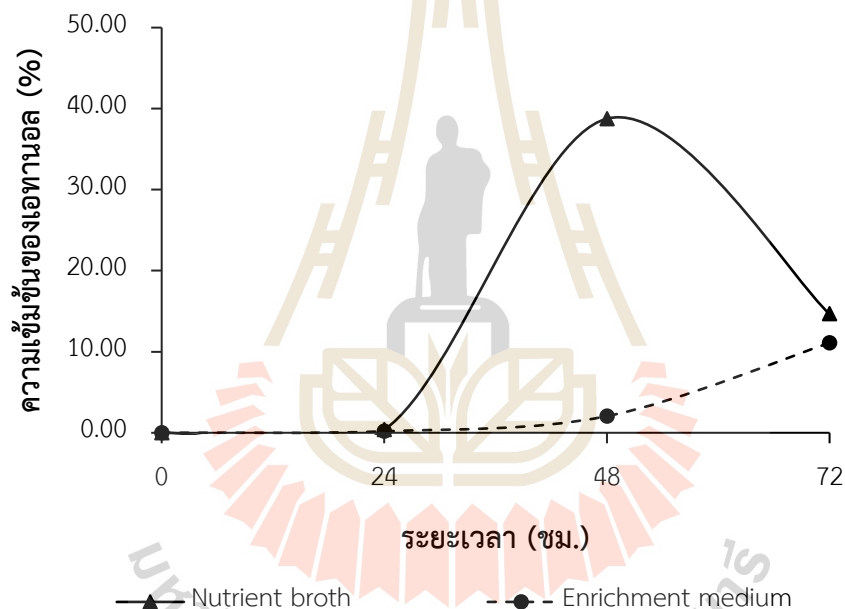
ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ *Petrobacter sp.* SUTSP5 จากก๊าซคาร์บอน (Carbon-rich gas) ด้วยการผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนกับงานวิจัยที่มีการศึกษาที่ผ่านมา ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 4-7 จากการศึกษาครั้งนี้ จุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องในเรื่องการผลิตเอทานอล ซึ่งนอกเหนือจากความเหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบแล้ว ยังถูกพัฒนาให้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมที่หลากหลายขึ้นด้วยการเพิ่มไฮโดรเจนสำหรับระบบ ซึ่งอาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้นได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยครั้งนี้ยังคงต้องมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องต่อไปเพื่อให้ได้เอทานอลให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ด้วยการผสมผสานระหว่างการหมักแบบกะและแบบต่อเนื่อง ซึ่งกระบวนการหมักแบบนี้ได้ได้รับความนิยมมากที่สุดในระดับอุตสาหกรรม (Caylak and Sukan, 1998) โดยที่สามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับการหมักโดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์ที่สูงได้ เพื่อเพิ่มความต้านทานความเป็นพิษของเอทานอลและลดต้นทุนที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมเชื้อเริ่มต้นลง รวมถึงเป็นการเพิ่มอัตราการผลิตเอทานอลอีกทางเลือกหนึ่ง

ตารางที่ 4-7 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาการผลิตเอทานอลและผลผลิตที่เกิดขึ้นจากการศึกษา

ชนิดของจุลินทรีย์	ชนิดของสารตั้งต้น	ชนิดของผลผลิต	ความเข้มข้น	เอกสารอ้างอิง
<i>Alkalibaculum bacchi</i>	CO, CO ₂ and H ₂	Ethanol and acetate	1.7 g/L	Liu <i>et al.</i> , 2012
<i>Clostridium autoethanogenum</i>	CO	Ethanol, acetate, butyrate and butanol	867 mg/L	Abubackar <i>et al.</i> , 2015
<i>Clostridium ragsdlei</i> P11	CO, CO ₂ , H ₂ and N ₂	Ethanol	9.6 g/L	Maddipati <i>et al.</i> , 2011
Mesophilic bacterium P7	CO, CO ₂ + H ₂	Ethanol, acetate, butanol and butyrate	0.062 g/mol	Rajagopalan <i>et al.</i> , 2002; Datar <i>et al.</i> , 2004
<i>Moorella</i> sp. HUC22-1	Fructose, CO ₂ +H ₂	Acetate and ethanol	1.5 mM	Sakai <i>et al.</i> , 2004
SUTSP1 and SUTSP5	CO, CO ₂ , N ₂	Ethanol	0.1861 g/L	สิริภรณ์ และคณะ 2554
SUTSP5	CO, CO ₂ , H ₂	Ethanol	177.3980 g/L	การศึกษาวิจัยนี้
			(EthaRex)	

ตารางที่ 4-4 ผลการทดสอบเบื้องต้นในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยจุลินทรีย์ SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน (ผลของกราฟการวิเคราะห์หาเอทานอลดังแสดงในภาคผนวก ค)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอทานอล (%)		ความเข้มข้นของ เอทานอล (mol/L)		ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/L)	
	ทานอล (%)		ทานอล (mol/L)		ทานอล (g/L)	
	NB	EN	NB	EN	NB	EN
24	0.3654	0.1805	0.1252	0.0618	2.8832	1.4243
48	38.7602	2.0512	13.2762	0.7026	305.8180	16.1841
72	14.6679	11.0950	5.0241	3.8003	115.7301	87.5399



ภาพที่ 4-4 ความเข้มข้นของเอทานอลโดยใช้ก๊าซผสมเมื่อเพาะเลี้ยง SUTSP5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) และ Enrichment medium (EN)

จากผลการศึกษาข้างต้นพบว่าชนิดของอาหารที่ใช้ในทดสอบมีผลต่อการผลิตเอทานอลทั้งของจุลินทรีย์ SUTSP1 และ SUTSP5 โดยพบว่าการใช้สารอาหาร NB จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดสามารถผลิตเอทานอลตั้งแต่วันที่ 24 ของการศึกษา โดยผลิตเอทานอลเข้มข้น 7.7795 % และ 38.7602% โดยปริมาตรตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตดีกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสารอาหาร EN เนื่องจาก NB เป็นอาหารซึ่งมีส่วนประกอบของบีฟเอกซ์แทรกซ์ (Beef extract) ที่สกัดจากเนื้อที่ไม่มีไขมัน

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การนำก๊าซคาร์บอนในรูปแบบก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ หรือเรียกก๊าซที่มีคาร์บอนเพียงพอ (Carbon-rich gaseous) มาเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตเอทานอลด้วยวิธีทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ (Demirbas *et al.*, 2002) อาจช่วยให้มีแหล่งของพลังงานทดแทนเพิ่มขึ้นและสามารถลดมลพิษทางอากาศได้ อย่างไรก็ตามการศึกษายังคงต้องมีการพัฒนากระบวนการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ SUTSP1 และ SUTSP5 จากก๊าซผสมด้วยระบบ EthaRex โดยแบ่งช่วงการพัฒนาสถานะและตัวแปรในการทดลองออกเป็น 2 การศึกษาวิจัยหลักด้วยกัน คือ การศึกษาการผลิตเอทานอลเบื้องต้น (Preliminary study) และพัฒนาระบบการผลิตเอทานอล (Ethanol production reactor) โดยมีผลการศึกษาดังรายละเอียดต่อไปนี้

4.1 การศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์

4.2 การศึกษาการผลิตเอทานอลของ SUTSP1 และ SUTSP5

4.1 การศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์

การพัฒนาต่อยอดครั้งนี้นำจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) ของ SUTSP1 และ SUTSP5 ที่คัดแยกจากตะกอนในระบบบำบัดน้ำเสียแบบสระไร้อากาศของโรงงานอุตสาหกรรมแห่งหนึ่งในเขตอำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา (สิราภรณ์ และคณะ, 2553) ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่ม *Geobacillus stearothermophilus* SUTSP1 และ *Petrobacter* sp. SUTSP5 นี้สามารถผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และมีก๊าซไนโตรเจนเป็นก๊าซที่ใช้ในการเจือจางได้ประมาณ 0.0236% คิดเป็น 0.1861 g/l ในชั่วโมงที่ 10 ของการศึกษา จากนั้นนำจุลินทรีย์ชนิดเดี่ยวแต่ละชนิดมาทดสอบการผลิตเอทานอลโดยการนำก๊าซไฮโดรเจนทดแทนไนโตรเจนในกระบวนการผลิตเพื่อให้มีเอทานอลในปริมาณที่สูงขึ้น ทั้งนี้การนำจุลินทรีย์ไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอลนั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ รวมทั้งประเภทของอาหารใช้เพาะเลี้ยงที่เหมาะสมและอาจส่งผลกระทบต่อการศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น มีผลต่อจำนวนขนาด ลักษณะ สีของโคโลนี เป็นต้น จึงทำการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ประเภท คือ Nutrient broth (NB) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ และ Enrichment medium (EN) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เฉพาะเจาะจงสำหรับจุลินทรีย์ ดำเนินการศึกษาเป็นระยะเวลา 7 วัน และพิจารณาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการนับโคโลนี (Colony count technique) โดยการทำเทคนิค Spread plate (Spreading plate technique) ซึ่งเป็นการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (Viable

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 การพัฒนาการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอล

การพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) ของ *Geobacillus stearothermophilus* SUTSP1 และ *Petrobacter* sp. SUTSP5 ในการผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซไนโตรเจนได้ มาทดสอบโดยเปลี่ยนส่วนของก๊าซไนโตรเจนเป็นไฮโดรเจนเพื่อเพิ่มความสามารถในการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์แต่ละชนิด นำก๊าซผสมดังกล่าว ($\text{CO}_2:\text{CO}:\text{H}_2$) 30:50:60 % โดยปริมาตร ทดสอบในขวดทดลอง (Serum bottle) ที่มีจุลินทรีย์แต่ละชนิดเจริญเติบโตประมาณ 10^9 เซลล์จากการศึกษาการเจริญเติบโตโดยใช้อัตราส่วนของจุลินทรีย์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 10:100 โดยปริมาตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ผลการศึกษาเบื้องต้น (Preliminary study) พบว่าจุลินทรีย์ SUTSP1 สามารถผลิตเอทานอลได้เพียง 7.7795% โดยปริมาตรในสภาวะที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความสามารถของจุลินทรีย์ SUTSP5 พบว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้ผลิตเอทานอลได้มากถึง 38.7602% โดยปริมาตรหรือคิดเป็นเอทานอล 305.8180 g/L ในสภาวะเดียวกัน ดังนั้นจึงเลือกจุลินทรีย์ SUTSP5 และอาหาร Nutrient broth ที่เหมาะสมนี้สำหรับการพัฒนาระบบการผลิตเอทานอลในขั้นตอนต่อไป

5.2 พารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยระบบ EthaRex

การผลิตเอทานอลจากก๊าซผสม $\text{CO}_2:\text{CO}:\text{H}_2$ ด้วยระบบ EthaRex นั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาถึงพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในส่วนของการเดินระบบได้แก่ อัตราส่วนของก๊าซผสม ปริมาณของจุลินทรีย์เพื่อให้ระบบสามารถผลิตเอทานอลได้ การทดสอบระบบเบื้องต้น สภาวะที่มีก๊าซผสมในอัตราส่วน 15:25:40% โดยปริมาตร และมีจุลินทรีย์ SUTSP5 10% จากการเดินระบบต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการศึกษา ที่อัตราการไหลของก๊าซ 100 มิลลิลิตรต่อนาทีนั้น พบว่าระบบไม่สามารถผลิตเอทานอลได้จากก๊าซผสมในอัตราส่วนดังกล่าว จึงเพิ่มความเข้มข้นของก๊าซผสมเป็น 30:50:20 % โดยปริมาตร ส่งผลให้ระบบสามารถผลิตเอทานอลได้ประมาณ 0.6041% อย่างไรก็ตามเมื่อค่าความเป็นกรดต่างลดลงทำให้ระบบไม่สามารถผลิตเอทานอลได้อีก จึงทำการทดสอบโดยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่ 20% พบว่าระบบสามารถผลิตเอทานอลได้ดีขึ้น

จากนั้นจึงได้นำสภาวะดังกล่าวที่มีก๊าซผสม 30:50:20 % โดยปริมาตร และมีจุลินทรีย์ SUTSP5 20% ไปขยายผลต่อในการพัฒนาระบบ EthaRex ต่อเนื่องเป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าระบบสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 22.4839% ในชั่วโมงที่ 48 ของการศึกษา คิดเป็นเอทานอลเข้มข้น 177.3980 g/L ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการผลิตเอทานอลด้วยระบบ EthaRex จากก๊าซผสมของคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และไฮโดรเจนนั้นช่วยทำให้เกิดแนวทางในการพัฒนางานวิจัยด้านนี้ต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะจากการศึกษาวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยมีจุดมุ่งหมายเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในด้านการผลิตเอทานอลและพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ในการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมด้วยระบบ EthaRex เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของจุลินทรีย์ต่อไป อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้มีข้อเสนอแนะที่อาจเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาต่อยอดงานวิจัยดังนี้

1. ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.1. ควรมีการพัฒนาด้านระบบการผลิต เช่น การควบคุมค่าความเป็นกรดต่างของของเหลวภายในระบบระหว่างดำเนินการหมัก และการใส่อาหารเลี้ยงเชื้อใหม่เป็นระยะเมื่อพบว่าจุลินทรีย์มีปริมาณลดลง เป็นต้น เพื่อเพิ่มความสามารถของจุลินทรีย์ในระบบต่อไป

1.2. ควรส่งเสริมให้มีการนำแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรมาใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอล เพื่อลดการปลดปล่อยมลพิษและเป็นการสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีมูลค่ากลับคืนสู่ภาคอุตสาหกรรมอีกทางหนึ่ง

2. ข้อเสนอแนะในการวิจัยต่อไป

2.1. ควรมีการศึกษาระบบการหมักรูปแบบอื่นเพื่อเพิ่มอัตราในการผลิตเอทานอล เช่น การหมักแบบกะ หรือแบบกึ่งกะ ซึ่งจะช่วยรักษาอัตราการเจริญเติบโตและเพิ่มความต้านทานความเป็นพิษต่อเอทานอลของจุลินทรีย์

2.2. การออกแบบระบบอื่น เช่น ระบบที่มีจุลินทรีย์แบบ Fixed-bed หรือ Packed-bed ระบบแบบ Membrane-based หรือใช้ไฟเบอร์เมมเบรน เพื่อให้จุลินทรีย์รวมกลุ่มนี้มีความสามารถในการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น

บรรณานุกรม

- Abrini J., Naveau H., Nyns EJ (1993) *Clostridium autoethanogenum* sp. Nov., an anaerobic bacterium that produces ethanol from carbon monoxide. Arch Microbiol 161: 345-351.
- Abubackar H.N., Veiga M.C., Kennes C. (2015) Carbon monoxide fermentation to ethanol by *Clostridium autoethanogenum* in a bioreactor with no accumulation of acetic acid. Bioresource Technol 186: 122-127.
- Alterthum F., Ingram LO. (1989) Efficient ethanol production from glucose, lactose, and xylose by recombinant *Escherichia coli*. Appl Environ Microbiol 55: 1943-1948.
- Antoni D., Zverlov VV., Schwarz WH. (2007) Biofuels from microbes. Appl Microbiol Biotechnol 77: 23-35.
- Baker A., Zahniser S. (2006) Ethanol reshapes the corn market. Amber Waves: U.S. Department of Agriculture Economic Research Service. April: 1-6.
- Barik S., Prieto S., Harrison SB., Clausen EC. (1988) Biological production of alcohols from coal through indirect liquification. Appl Biochem Biotech 28: 363-378.
- Choorit W. and Wisarnwan P. (2007) Effect of temperature on the anaerobic digestion of palm oil mill effluent. Electronic Journal of Biotechnology 10: 376-385.
- Cotter JL. (2006) Ethanol and acetate production from synthesis gas using microbial catalysts. Thesis. Faculty of Graduate, North Carolina State University, North Carolina, USA, 191 pp.
- Datta R. and Zeikus JG. (1985) Modulation of acetone-butanol-ethanol fermentation by carbon monoxide and organic acids. Appl and Environ Microbiol 49: 522-529.
- Datar RP., Shenkman RM., Cateni BG., Huhnke RL., Lewis RS. (2004) Fermentation of biomass-generated producer gas to ethanol. Biotechnol Bioeng 86: 587-594.
- Demain AL., Newcomb M., Wu JHD (2005) Cellulase, clostridia, and ethanol. Microbiol Mol Biol Rev 69:124-154.
- Demirbas A. (2002) Hydrogen production from biomass by the gasification process. Energy Sources 24: 59-68.

- Department of Science Service (2010) Biomass energy. Science and Technology Information Center. Department of Science Service. Ministry of Science and Technology. Online: <http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR5.pdf>
- Diekert G., Wohlfarth G. (1994) Metabolism of homoacetogens. *Ant van Leeu* 66: 209-221.
- Dien BS., Cotta MA., Jeffries TW. (2003) Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status. *Appl Microbiol Biotechnol* 63: 258-266.
- Esquivel-Elizondo S., Delgado A.G., Rittmann B.E., Krajmalnik-Brown R. (2017) The effect of CO₂ and H₂ on CO metabolism by pure and mixed microbial cultures. *Biotechnol Biofuels* 10: 220.
- Georgieva TI., Ahring BK. (2007) Evaluation of continuous ethanol fermentation of dilute-acid corn stover hydrolysate using thermophilic anaerobic bacterium *Thermoanaerobacter* BG1L1. *Appl Microbiol Biotechnol* 77: 61-68.
- Hossain ABMS., Salleh A., Boyce AN., Chowdhury P., Naqiuddin M. (2008) Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *Am J Biochem Biotechnol* 4: 250-254.
- Inokuma K., Nakashimada Y., Akahoshi T., Nishio N. (2007) Characterization of enzymes involved in the ethanol production of *Moorella* sp. HUC22-1. *Arch Microbiol* 188: 37-45.
- Klasson KT., Ackerson MD., Clausen EC., Gaddy JL. (1992) Bioconversion of synthesis gas into liquid or gaseous fuels. *Enz Microbiol Technol* 14: 602-608.
- Kopke M., Mihalcea C., Bromley J.C., Simpson S.D. (2011) Fermentative production of ethanol from carbon monoxide. *Curr Opin Biotech* 22: 320-325.
- Laohalidanond K. (2007) The production of synthetic diesel from biomass. *CMU. J Nat Sci* 6:127-139.
- Liu K., Atiyeh H.K., Tanner R.S., Wilkins M.R., Huhnke R.L. (2012) Fermentative production of ethanol from syngas using novel moderate alkaliphilic strains of *Alkalibaculum bacchi*. *Bioresour Technol* 104: 336-341.
- Ljungdahl LG. (1986) The autotrophic pathway of acetate synthesis in acetogenic bacteria. *Ann Rev Microbiol* 40: 415-450.

- Lynd LR., Weimer PJ., van Zyl WH., Pretorius IS (2002) Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 66: 506-577.
- Mamlouk D and Gullo M. (2013) Acetic acid bacteria : physiology and carbon source oxidation. *Indian J Microbiol* 53(4): 377-384.
- Maddipati P., Atiyeh H.K., Bellmer D.D., Huhnke R.L. (2011) Ethanol production from syngas by *Clostridium* strain P11 using corn steep liquor as nutrient replacement to yeast extract. *Bioresource Technol* 102: 6494-6501.
- Mckendryn P. (2002) Energy production from biomass (part 3): gasification technologies. *Biores Technol* 83: 55-63.
- Miller TL. and Wolin MJ. (1974) A serum bottle modification of the Hungate technique for cultivating obligate anaerobes. *Appl Microbiol* 27: 985-987.
- Natarajan E., Nordin A., Rao AN. (1998) Overview of combustion and gasification of rice husk in fluidized bed reactors. *Biom Bioener* 14: 533-546.
- OSHA (2002) OSHA factsheet: Carbon monoxide poisoning. Online: <http://www.osha.gov/>
- Phillips JR., Clausen EC., Gaddy JL. (1994) Synthesis gas as substrate for the biological production of fuels and chemicals. *Appl Biochem Biotechnol* 45/46: 145-154.
- Rajagopalan S., Datar RP., Lewis RS. (2002) Formation of ethanol from carbon monoxide via a new microbial catalyst. *Biom Bioener* 23: 487-493.
- Reed TB. and Jantzen D. (1979) Biomass gasification: principles and technology. *Ener Technol Rev* 67: 27-90.
- Reed G., Nagodawithana TW. (1991) *Yeast technology*. 2nded. New York: AVI.
- RFA (2007) Renewable fuels association: statistics. Washington DC. Online 15.05.2007: <http://www.ethnolrfa.org/industry/statistics/>
- Roble ND., Ogbonna JC., Tanaka H. (2003) A novel circulating loop bioreactor with cells immobilized in loofa (*Luffa cylindrical*) sponge for the bioconversion of raw cassava starch to ethanol. *Appl Microbiol Biotechnol* 60: 671-678.
- Sakai S., Nakashimada Y., Yoshimoto H., Watanabe S., Okada H., Nishio N. (2004) Ethanol production from H₂ and CO₂ by a newly isolated thermophilic bacterium. *Biotechnol Lett* 26: 1607-1612.

- Sakai S., Nakashimada Y., Inokuma K., Kita M., Okada H., Nishio N. (2005) Acetate and ethanol production from H₂ and CO₂ by *Moorella* sp. using a repeated batch culture. J Biosci Bioeng 99: 252-258.
- Shakhashiri BZ. (2008) Chemical of the week: Carbon dioxide, CO₂. Online 6.02.2008: <http://www.scifun.org/>
- Stiles AB., Chen F., Harrison JB., Hu X., Storm DA., Yang HX. (1991) Catalytic conversion of synthesis gas to methanol and other oxygenated products. Ind Eng Chem Res 30: 811-821.
- Sun X., Atiyeh H.K., Kumar A., Zhang H. (2018) Enhanced ethanol production by *Clostridium ragsdalei* from syngas by incorporating biochar in the fermentation medium. Bioresource Technol 247: 291-301.
- Thammanoon S. (2006) พลังงานไฮโดรเจน: พลังงานไฮโดรเจนจากน้ำด้วยแสงอาทิตย์และตัวเร่งปฏิกิริยา. Online: 15.10.2006: <http://www.vcharkarn.com/varticle/420>.
- Vega JL., Clausen EC., Gaddy JL. (1990) Design of bioreactors for coal synthesis gas fermentation. Resources, Conservation and Recycling 3: 149-160.
- VMaster (2006) เชื้อเพลิงชีวภาพ (Biofuel): พลังงานจากธรรมชาติ เพื่อธรรมชาติ. Online: 15.08.2006: <http://www.vcharkarn.com/varticle/374/1>.
- Weuster-Botz D (1993) Continuous ethanol production by *Zymomonas mobilis* in a fluidized bed reactor. I: Kinetic studies of immobilization in macroporous glass beads. Appl Microbiol Biotechnol 39: 679-684.
- Zeikus JG. (1980) Chemical and fuel production by anaerobic bacteria. Annu Rev Microbiol 34: 423-464.



ภาคผนวก

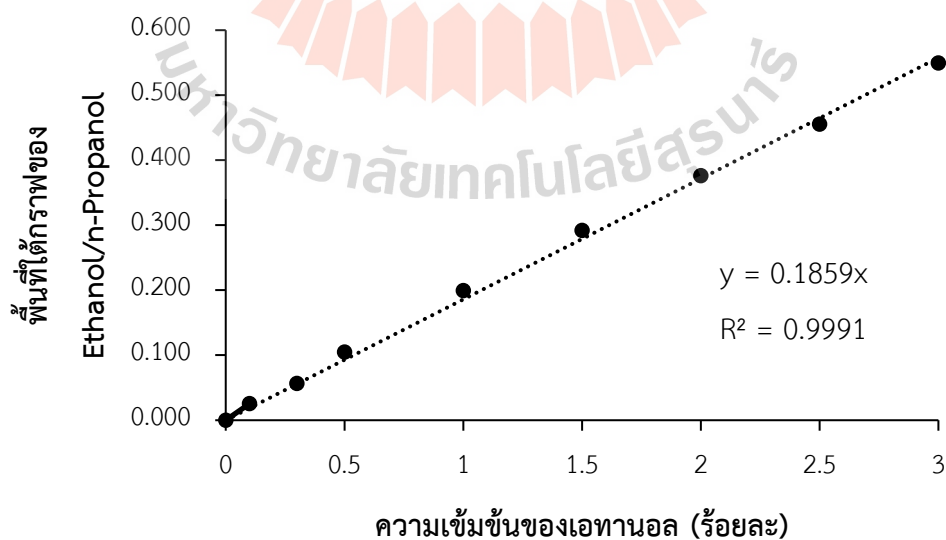
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์กราฟมาตรฐานเอทานอล

การวิเคราะห์เอทานอลด้วยเครื่อง Gas chromatography ด้วยดีเทคเตอร์ FID นั้น มีสภาวะของเครื่องดังนี้คือ การวิเคราะห์ครั้งนี้ใช้คอลัมน์ HP-INNOWax โดยมีอุณหภูมิของ Oven เท่ากับ 30 องศาเซลเซียส และใช้ n-propanol เป็น internal standard สำหรับเทคนิคการฉีดใช้เทคนิค Headspace technique ดังมีผลของสารมาตรฐานเอทานอลดังตารางและกราฟต่อไปนี้

Standard ethanol (%)	พื้นที่ใต้กราฟของ Ethanol/n-propanol
0.0	0.0000
0.1	0.0254
0.3	0.0566
0.5	0.1044
1.0	0.1990
1.5	0.2920
2.0	0.3759
2.5	0.4553
3.0	0.5493

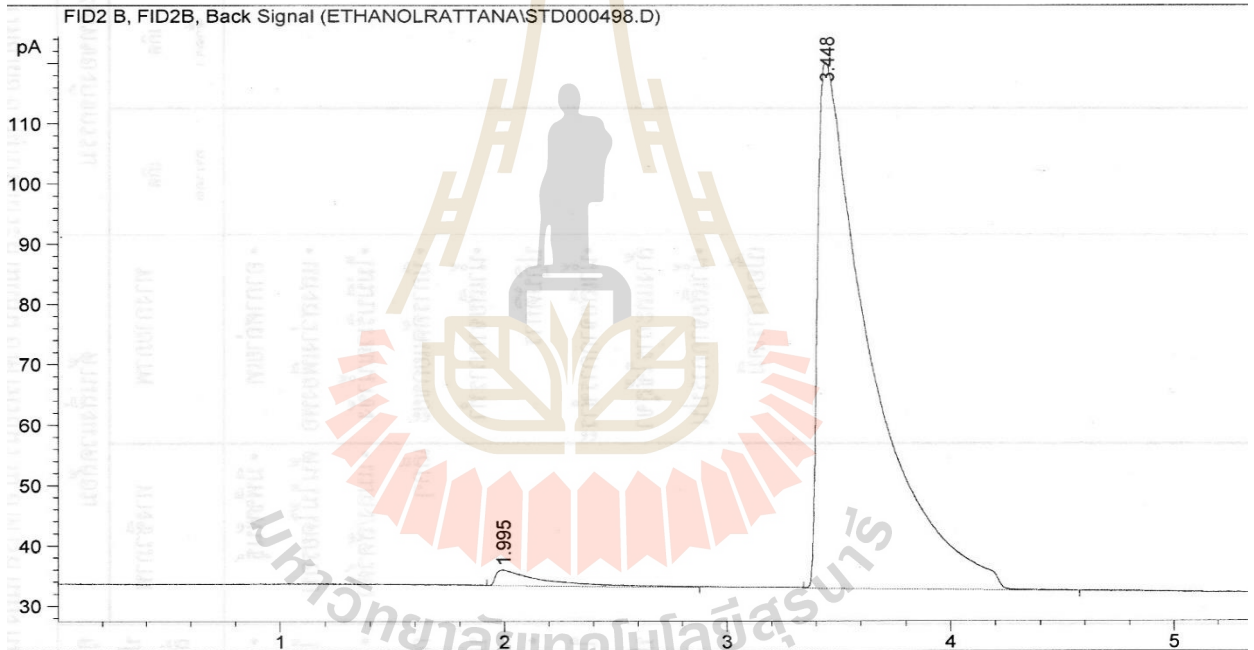


กราฟมาตรฐานเอทานอล

e C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000498.D
 ame: Std.

```

=====
Operator   : RATTANA 23.08.18
Instrument : Instrument 1                      Location  : -
Acquisition Date : 1/1/2002 6:22:34 AM      Inj Volume : Manually
Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
changed   : 1/1/2002 6:20:51 AM by RATTANA 23.08.18
           (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
changed   : 1/1/2002 6:28:34 AM by RATTANA 23.08.18
           (modified after loading)
Load Info  : Test IQ Aug 31, 2009
Sample Info : Std 0.1% EtOH + 3% n-propanol Check Liner/Column
=====
  
```



Area Percent Report

```

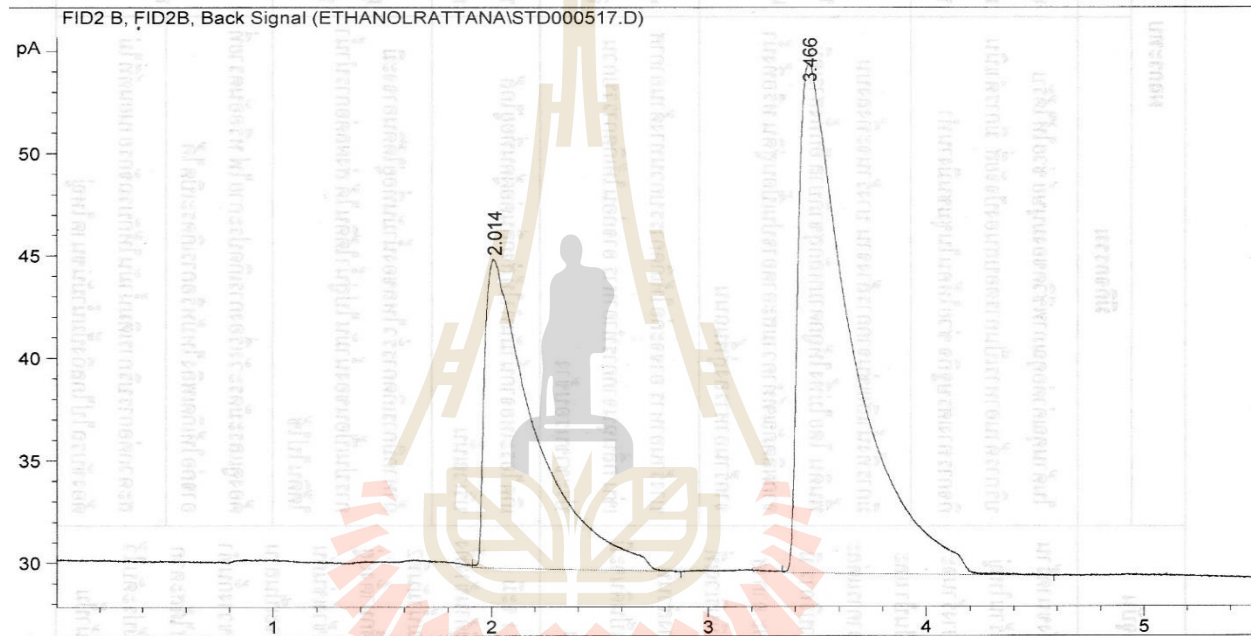
=====
Integrator : Retention Time
Multiplier: : 1.0000
Dilution: : 1.0000
Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====
  
```

Sample 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1.995	1	VV	38.60515	2.56971	2.64362
3.448	1	VV	1421.70715	87.09814	97.35638
Total			1460.31231	89.66785	

```

=====
Operator      : RATTANA 24.08.18
Instrument    : Instrument 1                      Location   : -
Acquisition Date : 1/1/2002 9:10:19 AM
                                           Inj Volume : Manually
Method       : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
changed     : 1/1/2002 9:08:51 AM by RATTANA 24.08.18
              (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
changed     : 1/1/2002 9:16:19 AM by RATTANA 24.08.18
              (modified after loading)
Sample Info  : Test IQ Aug 31, 2009
Sample Name  : Std 3.0% EtOH + 3% n-propanol 24.8.18
    
```



Area Percent Report

```

=====
Integrator      : Retention Time
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Sample Name: Std 3.0% EtOH + 3% n-propanol 24.8.18

RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
2.014	1	VV	245.64206	15.05397	36.92654
3.466	1	VV	419.57605	24.92370	63.07346
Total			665.21811	39.97767	

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์หาเอทานอล

ส่วนของการผลิตเอทานอลเบื้องต้นของ SUTSP1 ในขวดทดลอง
(Serum bottle) ด้วยก๊าซผสมอัตราส่วนร้อยละ 30:50:60 โดย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

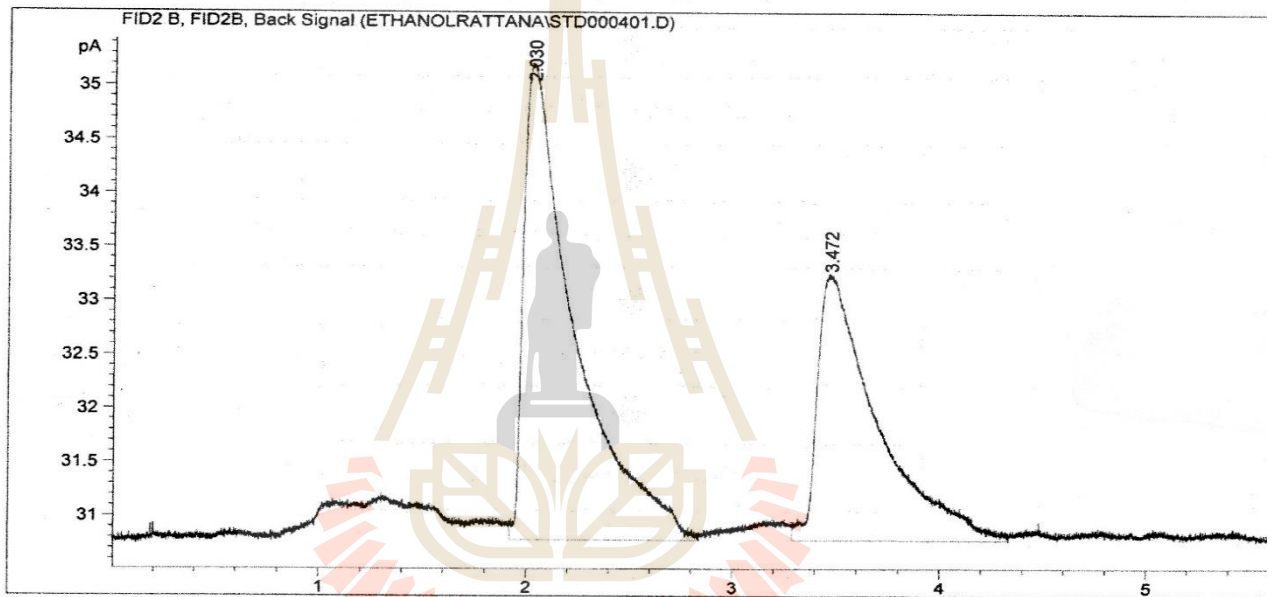
File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000401.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 15.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 7:05:39 AM
                                           Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 7:00:57 AM by RATTANA 10.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 7:11:37 AM by RATTANA 15.08.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2. NB day1 distillate 100 microL
                  + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50 micr
                  oL) 15.08.18
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.030	1	VV	76.40758	4.41081	60.52335
2	3.472	1	VV	49.83721	2.46454	39.47665

Instrument 1 1/1/2002 7:11:38 AM RATTANA 15.08.18

Page 1 of

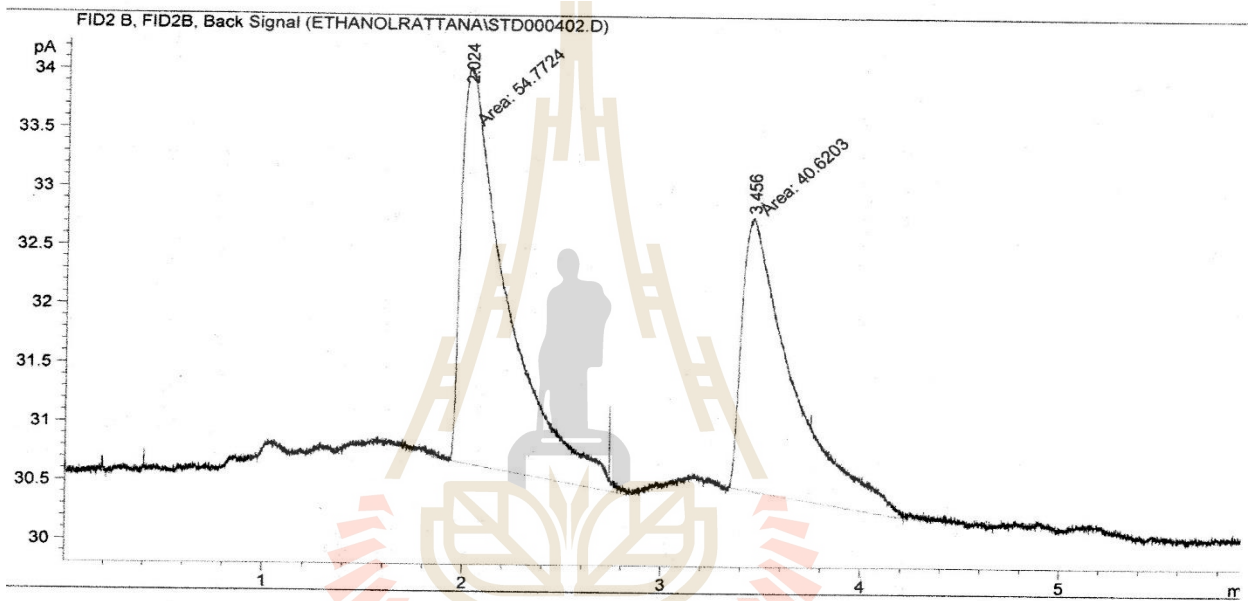
File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000402.D
 Name: Std.

```

=====
q. Operator   : RATTANA 15.08.18
q. Instrument : Instrument 1
Injection Date : 1/1/2002 7:14:23 AM
Location      : -
Inj Volume    : Manually

q. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Method changed : 1/1/2002 7:11:38 AM by RATTANA 15.08.18
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000402.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
Method changed  : 1/1/2002 12:47:19 AM by RATTANA 17.08.18
Method Info    : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info   : Geobacillus CO, CO2, H2. NB day1 distillate 100 microl
                + 0.3% n-propanol 100 microl (Temp. 38 C Syring 50 microl)
                oL) 15.08.18
    
```



Area Percent Report

```

=====
RetTime      : Retention Time
Multiplier   : 1.0000
Integration   : 1.0000
Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

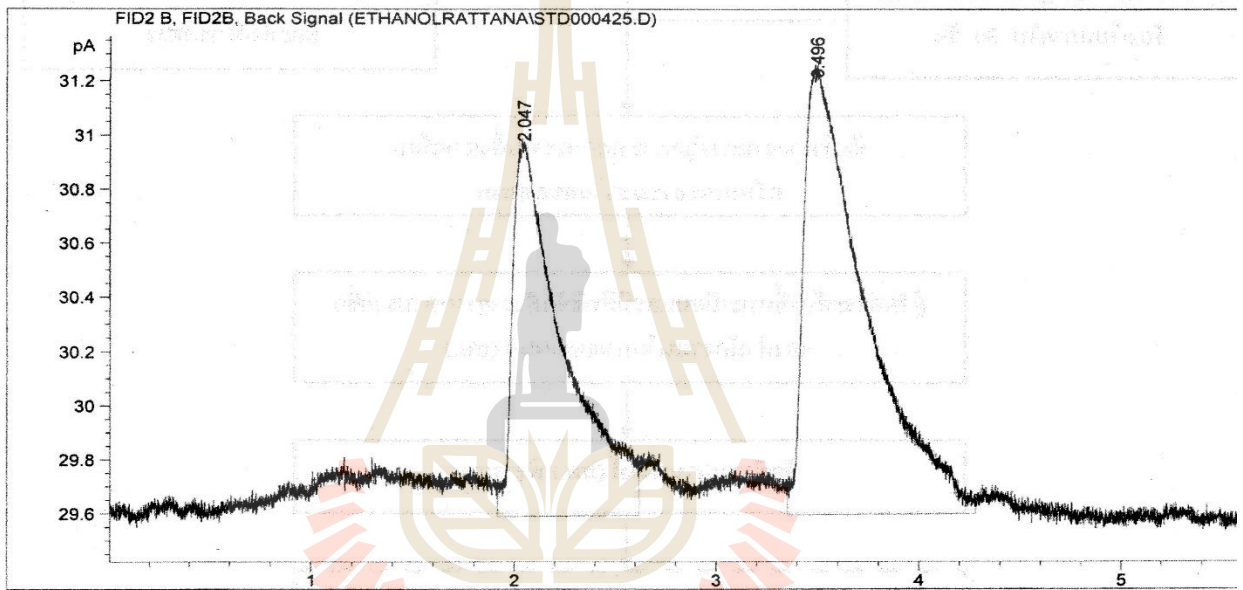
RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
2.024	1	MM T	54.77240	3.36685	57.41783
3.456	1	MM T	40.62027	2.32938	42.58217

Print 1 1/1/2002 12:47:39 AM RATTANA 17.08.18

File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000425.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 16.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 4:42:37 AM
                                           Inj Volume : Manually
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO\FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 4:37:33 AM by RATTANA 15.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO\FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 4:48:37 AM by RATTANA 16.08.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009
Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2. NB day 2 distillate 100 microL
                  + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp 38 C Syringe 50 micr
                  oL) 16.08.18
=====
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Retention Time
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.047	1	VV	24.59419	1.37192	41.39755
2	3.496	1	VV	34.81558	1.63355	58.60245

Instrument 1 1/1/2002 4:48:37 AM RATTANA 16.08.18

Page 1 of 1

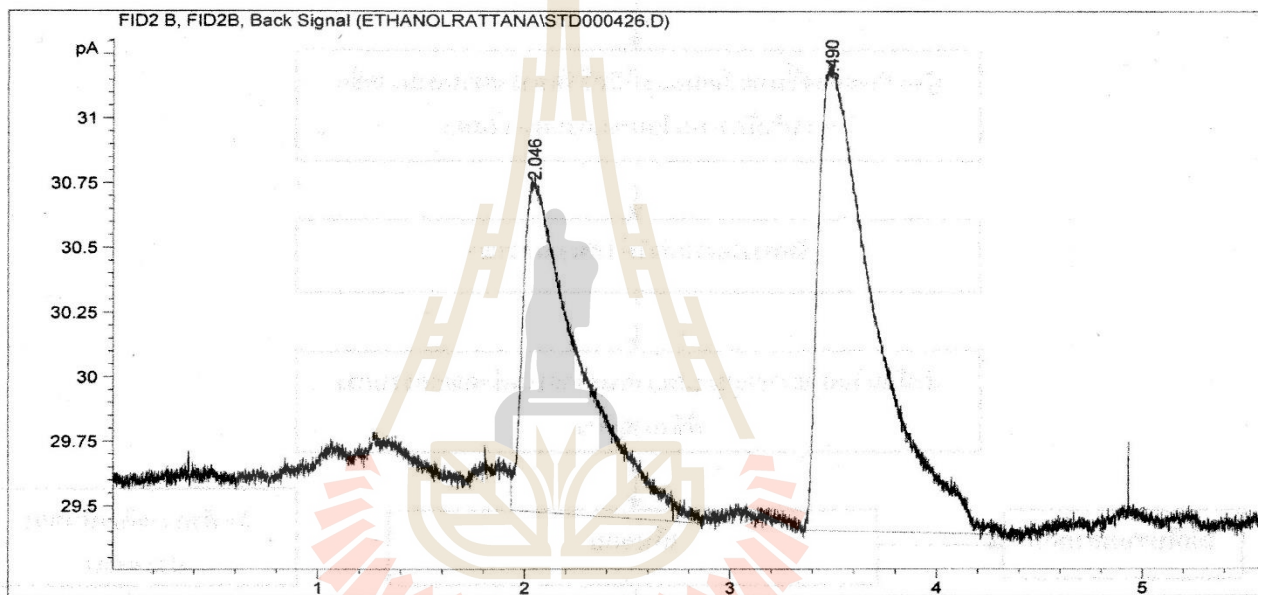
a File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000426.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 16.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1
Injection Date  : 1/1/2002 4:50:24 AM
Location       :
Inj Volume     : Manually

Acq. Method    : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed   : 1/1/2002 4:48:38 AM by RATTANA 16.08.18
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed   : 1/1/2002 4:56:24 AM by RATTANA 16.08.18
                (modified after loading)
Method Info    : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info    : Geobacillus CO, CO2, H2. NB day 2 distillate 100 microL
                + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp 38 C Syring 50 micr
                oL) 16.08.18
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.046	1	VV	24.96518	1.26891	42.02365
2	3.490	1	VV	34.44227	1.78592	57.97635

Instrument 1 1/1/2002 4:56:24 AM RATTANA 16.08.18

Page 1 of

File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000445.D
 Sample Name: Std.

```

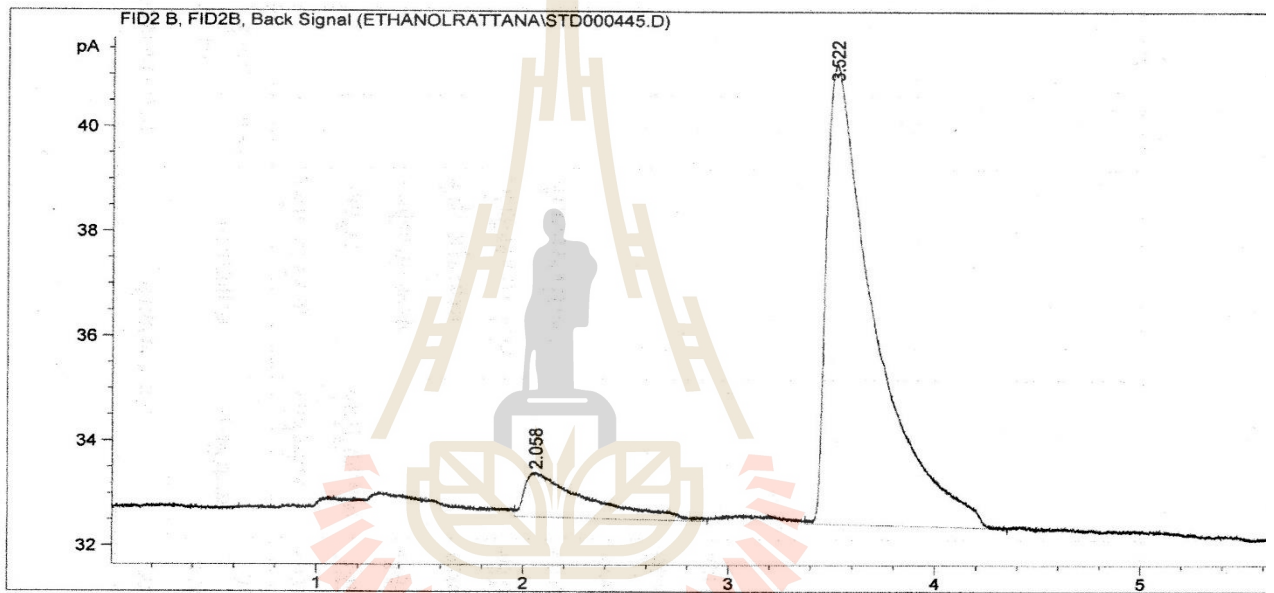
=====
Acq. Operator   : RATTANA 17.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 5:02:44 AM
                                           Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 4:56:10 AM by RATTANA 17.08.18
                 (modified after loading)

Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:08:42 AM by RATTANA 17.08.18
                 (modified after loading)

Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2 NB day 3 distillate 100 microL
                 + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp 38 C Syringe 50 micro
                 L) 17.08.18
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By           : Retention Time
Multiplier:         : 1.0000
Dilution:           : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.058	1	VV	18.09575	8.23904e-1	11.29391
2	3.522	1	VV	142.13004	8.77152	88.70609

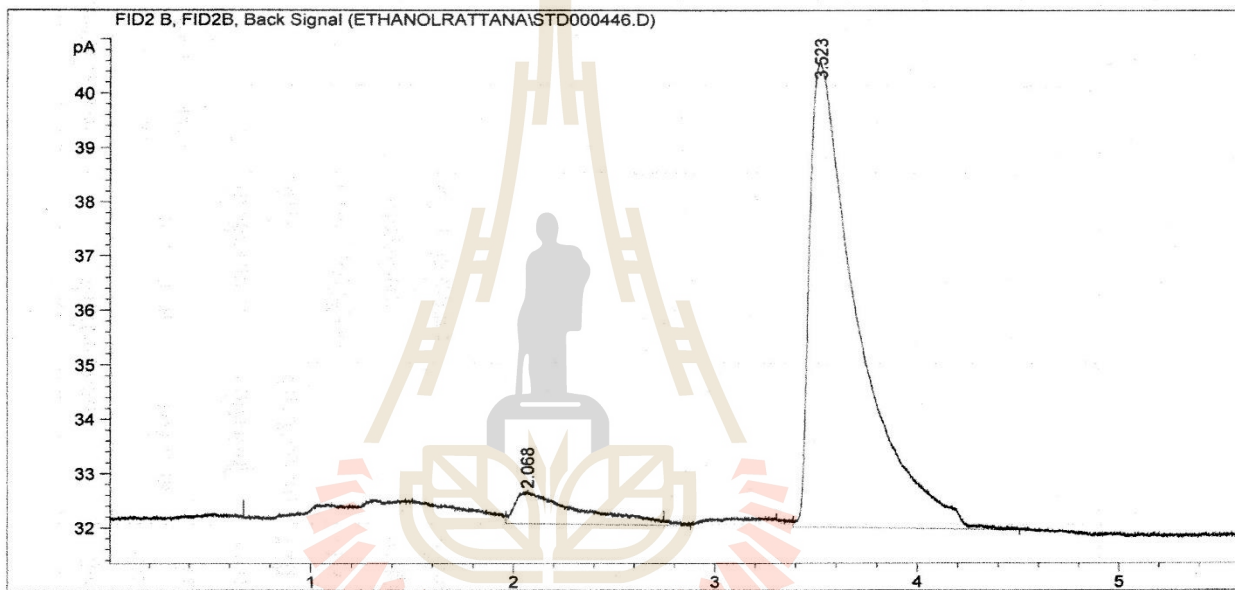
Instrument 1 1/1/2002 5:08:42 AM RATTANA 17.08.18

Page 1 of 1

File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000446.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 17.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 5:11:00 AM
                                           Inj Volume : Manually
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:08:43 AM by RATTANA 17.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:17:00 AM by RATTANA 17.08.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009
Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2 NB day 3 distillate 100 microL
                  + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp 38 C Syring 50 micro
                  L) 17.08.18
=====
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By           : Retention Time
Multiplier          : 1.0000
Dilution            : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.068	1	VV	13.52542	5.73504e-1	8.77535
2	3.523	1	VB	140.60431	8.53491	91.22465

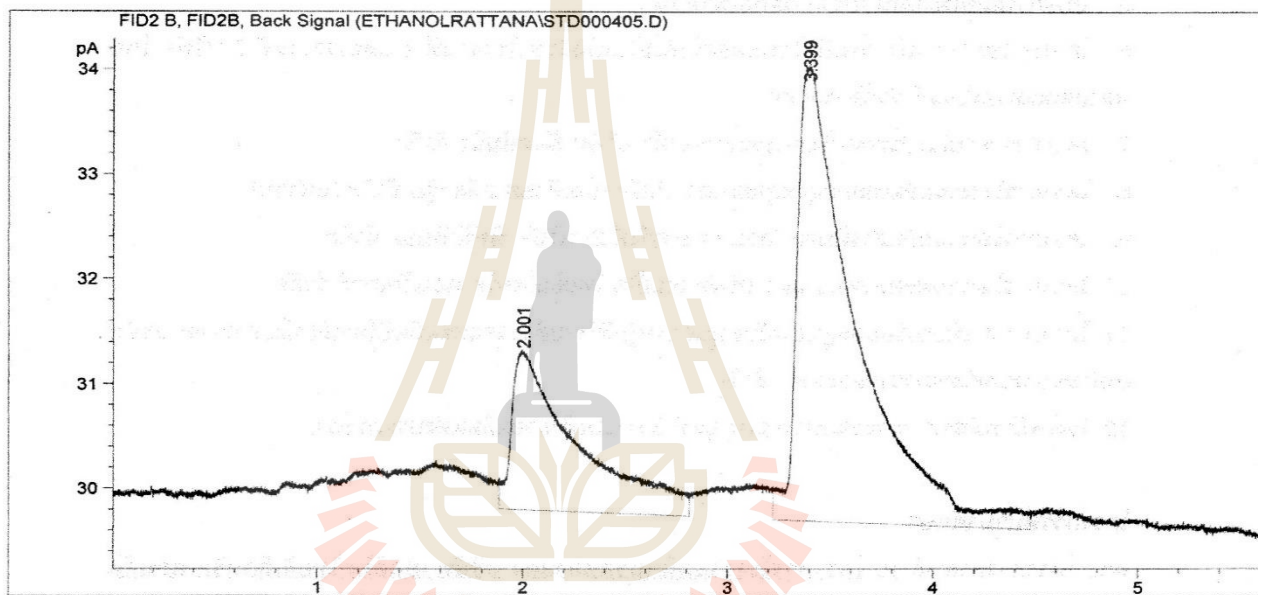
a File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000405.D
 ple Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 15.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 7:41:28 AM
                                           Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 7:39:40 AM by RATTANA 15.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 7:47:28 AM by RATTANA 15.08.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2. EN day1 distillate 100 microL
                  + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50 micr
                  oL) 15.08.18
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.001	1	VV	33.78481	1.50527	28.07865
2	3.399	1	VB	86.53726	4.31705	71.92135

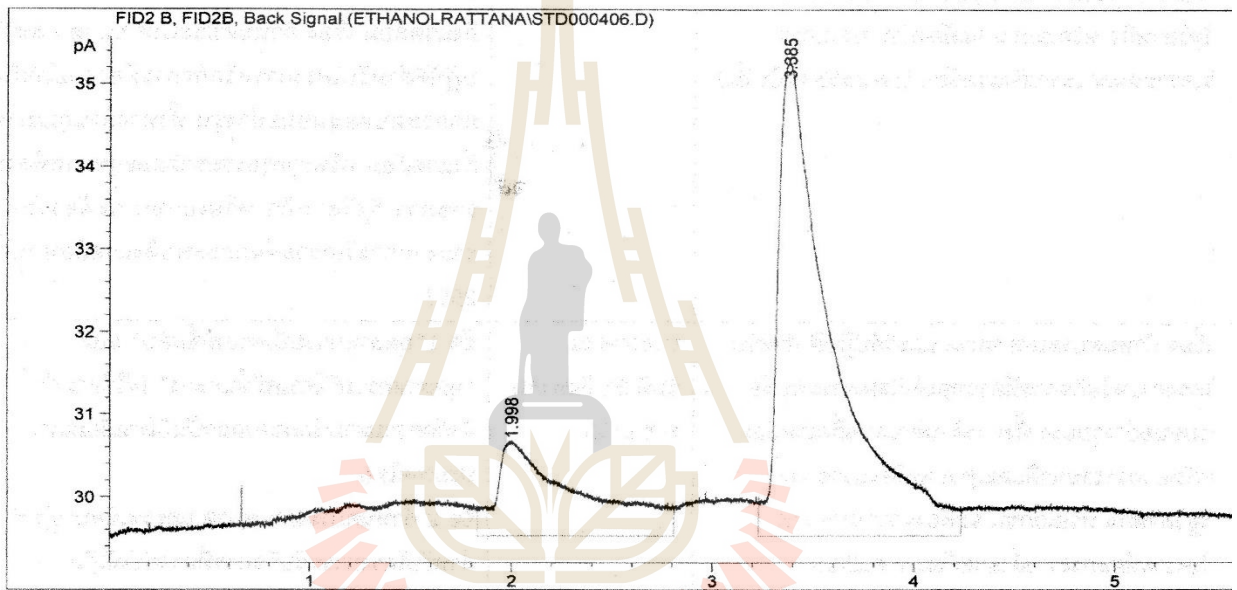
File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000406.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 15.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1
Injection Date  : 1/1/2002 7:49:17 AM
Location       : -
Inj Volume     : Manually

Acq. Method    : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed   : 1/1/2002 7:47:29 AM by RATTANA 15.08.18
                (modified after loading)
Analysis Method: C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed   : 1/1/2002 7:55:17 AM by RATTANA 15.08.18
                (modified after loading)
Method Info    : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info    : Geobacillus CO, CO2, H2. EN day1 distillate 100 microL
                + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syringe 50 micr
                oL) 15.08.18
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Retention Time
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	1.998	1	VB	32.93140	1.12914	23.45570
2	3.385	1	VV	107.46686	5.73087	76.54430

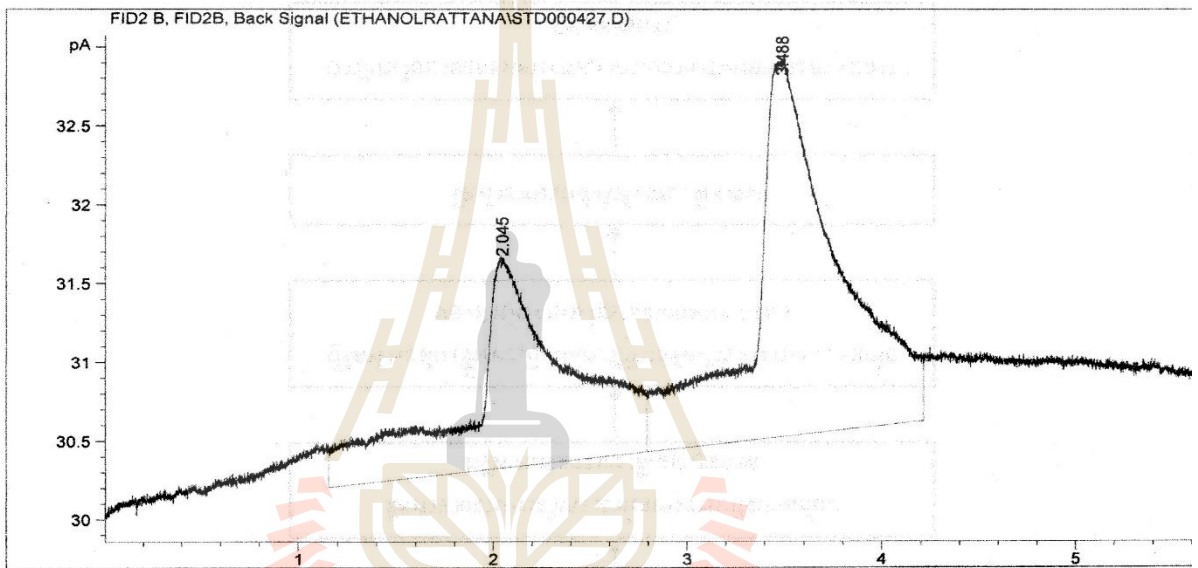
Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000427.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 16.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 4:59:07 AM      Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 4:56:25 AM by RATTANA 16.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method  : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:05:07 AM by RATTANA 16.08.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2. EN day 2 distillate 100 microL
                  + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp 38 C Syring 50 micr
                  oL) 16.08.18
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By      :      Retention Time
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.045	1	VV	48.23512	1.31953	39.56240
2	3.488	1	VV	73.68650	2.37422	60.43760

Instrument 1 1/1/2002 5:05:08 AM RATTANA 16.08.18

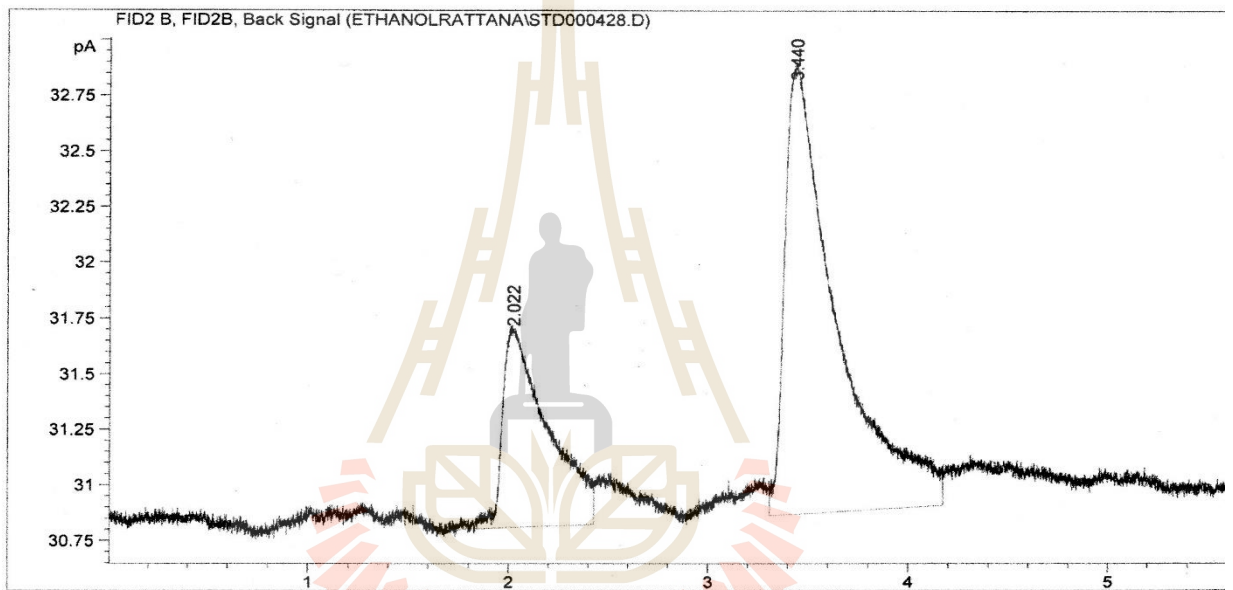
Page 1 of

File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000428.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 16.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 5:07:14 AM
                                           Inj Volume : Manually
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:05:08 AM by RATTANA 16.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:13:14 AM by RATTANA 16.08.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2. EN day 2 distillate 100 micr
                  + 0.3% n-propanol 100 micrL (Temp 38 C Syring 50 micr
                  oL) 16.08.18
=====
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By          : Retention Time
Multiplier:        : 1.0000
Dilution:          : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.022	1	VV	14.27806	8.87866e-1	28.29856
2	3.440	1	VV	36.17701	2.00314	71.70144

Instrument 1 1/1/2002 5:13:15 AM RATTANA 16.08.18

Page 1 of 1

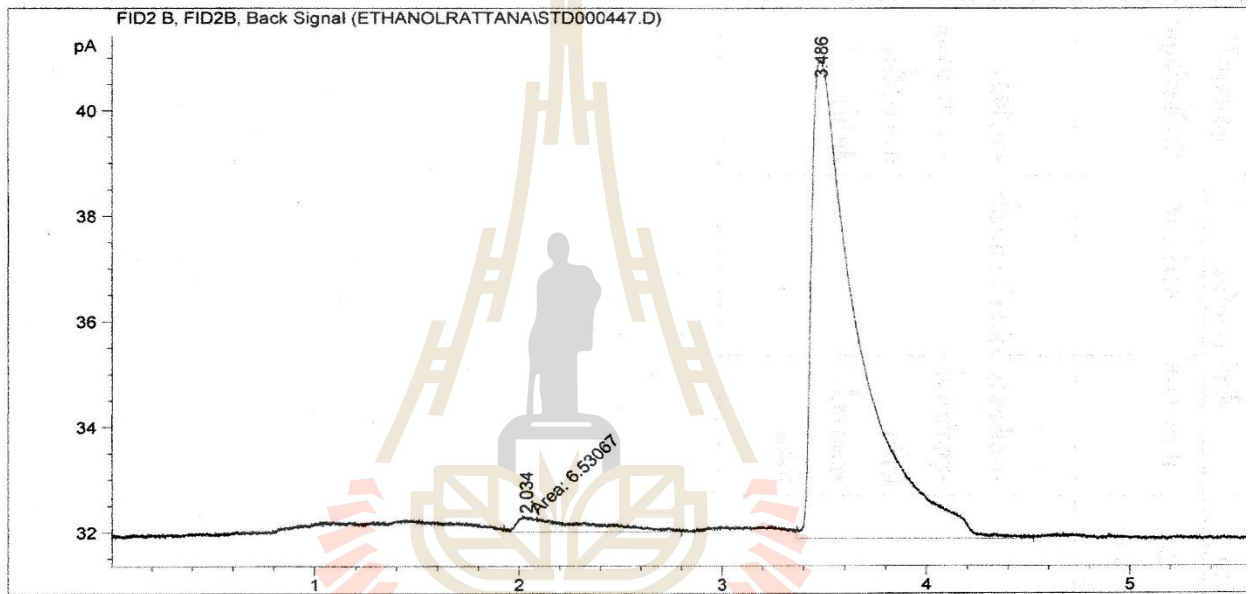
a File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000447.D
 ple Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 17.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 5:19:06 AM
                                           Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:17:01 AM by RATTANA 17.08.18
                 (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000447.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
Last changed    : 1/1/2002 5:48:11 AM by RATTANA 17.08.18
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2 EN day 3 distillate 100 microL
                 + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp 38 C Syring 50 micro
                 L) 17.08.18
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By          : Retention Time
Multiplier:        : 1.0000
Dilution:          : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.034	1	MM T	6.53067	2.77444e-1	4.37452
2	3.486	1	VV	142.75836	9.06621	95.62548

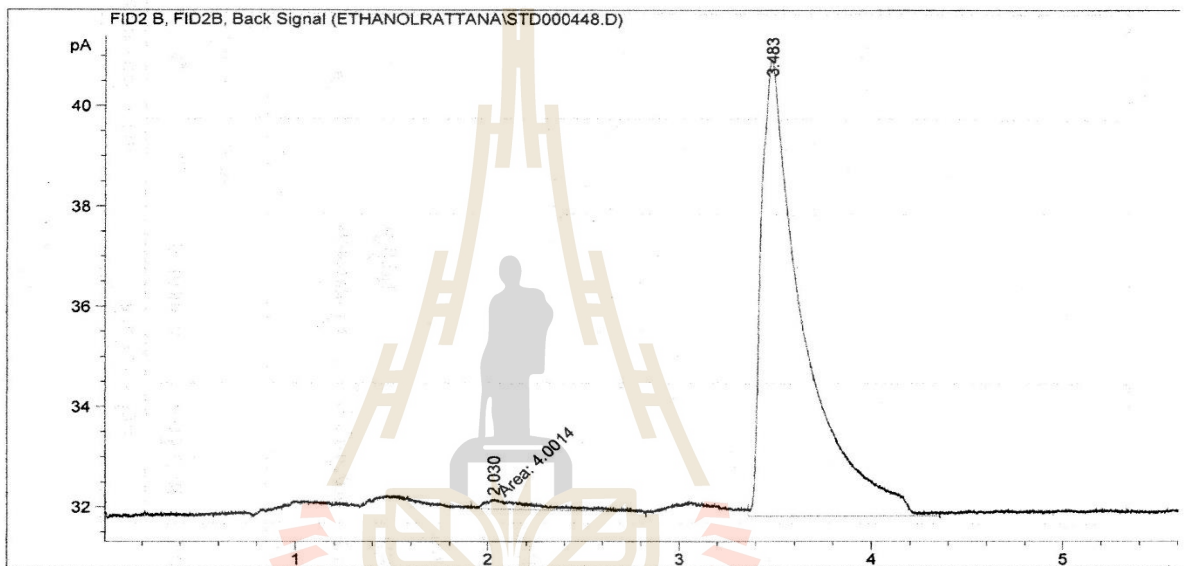
Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000448.D
 Sample Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 17.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 5:27:04 AM   Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:25:05 AM by RATTANA 17.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000448.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
Last changed    : 1/1/2002 5:49:21 AM by RATTANA 17.08.18
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Geobacillus CO, CO2, H2 EN day 3 distillate 100 microL
                  + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp 38 C Syringe 50 micro
                  L) 17.08.18
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Retention Time
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

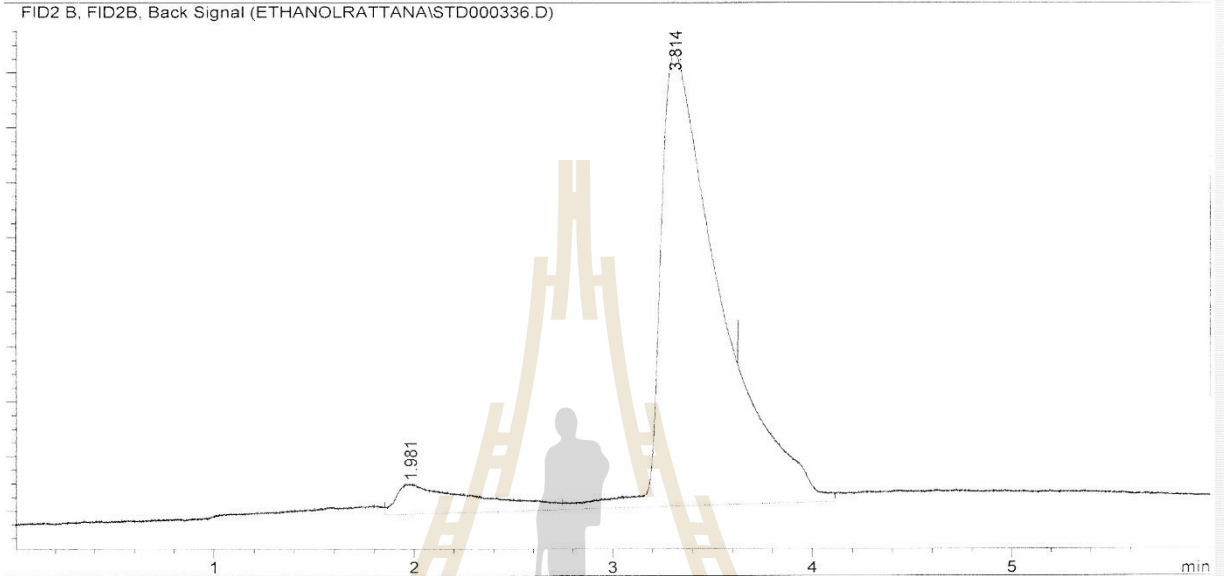
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.030	1	MM T	4.00140	1.90945e-1	2.84452
2	3.483	1	VB	136.66899	9.09589	97.15548



ภาคผนวก ค
ผลการวิเคราะห์หาเอทานอล
ส่วนของการผลิตเอทานอลเบื้องต้นของ SUTSP5 ในขวดทดลอง
(Serum bottle) ด้วยก๊าซผสมสัดส่วนร้อยละ 30:50:60 โดยปริมาตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
 Ranged : 1/1/2002 7:53:54 AM by RATTANA 08.08.18
 (modified after loading)
 Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
 Ranged : 1/1/2002 8:12:12 AM by RATTANA 08.08.18
 (modified after loading)
 Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Info : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. NB day 1 distillate 100 mi
 croL + 3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50 m
 icroL) 08.08.18



Area Percent Report

By : Retention Time
 Tier: : 1.0000
 on: : 1.0000
 Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

1: FID2 B, FID2B, Back Signal

RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1.981	1	VV	30.97214	11.07757	8.23593
3.314	1	VV	345.08929	16.51513	91.76407

Injection Date : 1/1/2002 7:47:53 AM

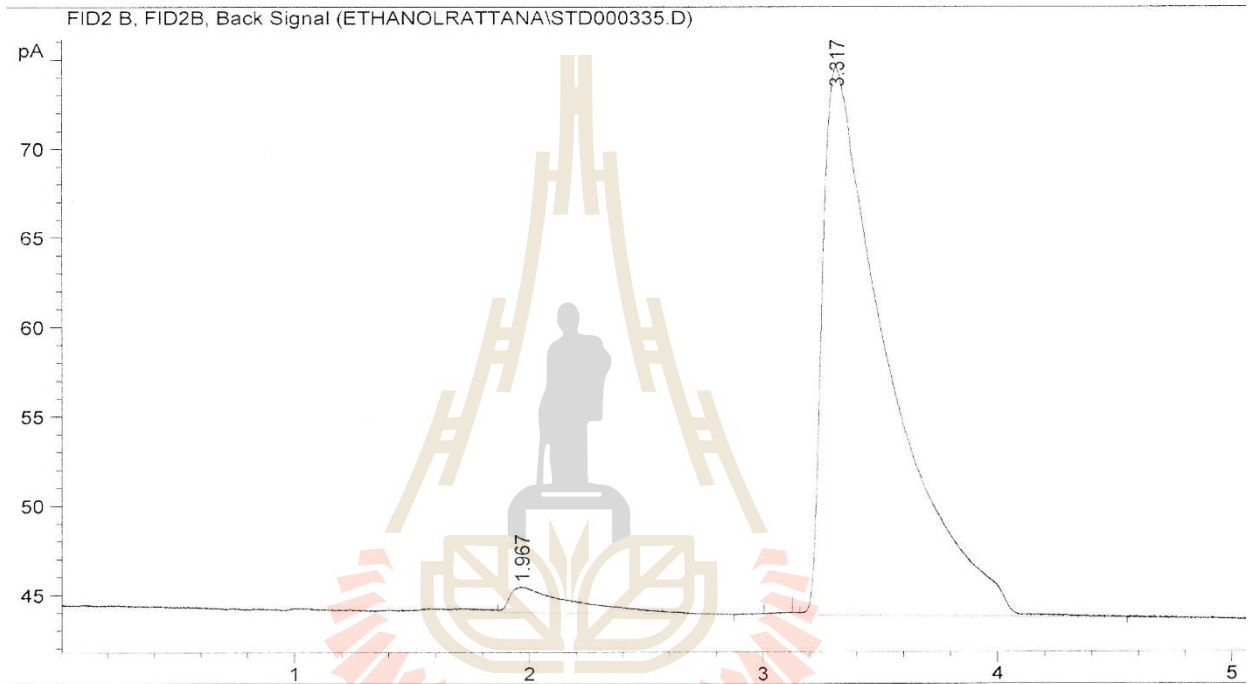
Inj Volume : Manually

Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHOH_FID1.M
 changed : 1/1/2002 7:41:36 AM by RATTANA 08.08.18
 (modified after loading)

Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHOH_FID1.M
 changed : 1/1/2002 7:53:53 AM by RATTANA 08.08.18
 (modified after loading)

Sample Info : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info : Petrobacter sp. CO, CO₂, H₂. NB day 1 distillate 100 microL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syringe 50 microL) 08.08.18



=====
 Area Percent Report
 =====

Method By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

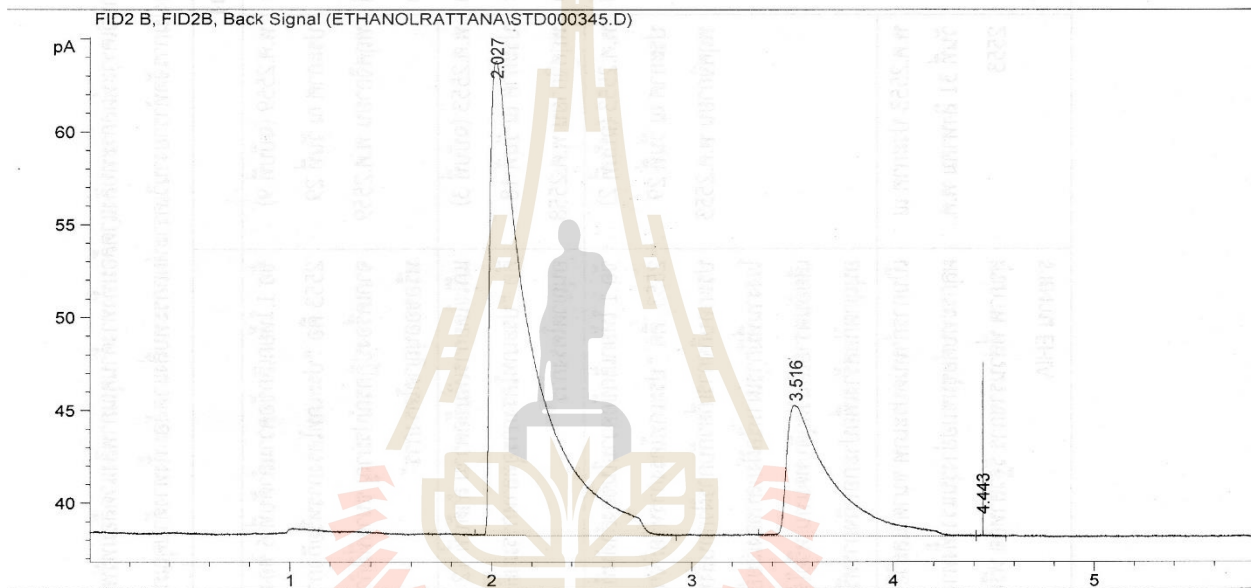
Sample 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
---------------	-----	------	-------------	-------------	--------

File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000345.D
 Name: Std.

```

=====
Op. Operator      : RATTANA 09.08.18
Op. Instrument    : Instrument 1          Location : -
Injection Date    : 1/1/2002 4:08:39 AM      Inj Volume : Manually
Op. Method        : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
Last changed      : 1/1/2002 4:04:40 AM by RATTANA 09.08.18
                  : (modified after loading)
Analysis Method   : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
Last changed      : 1/1/2002 4:14:37 AM by RATTANA 09.08.18
                  : (modified after loading)
Method Info       : Test IQ Aug 31, 2009
Sample Info       : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. NB day 2 distillate 100 mi
                  : croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50
                  : microL) 09.08.18
=====
  
```



Area Percent Report

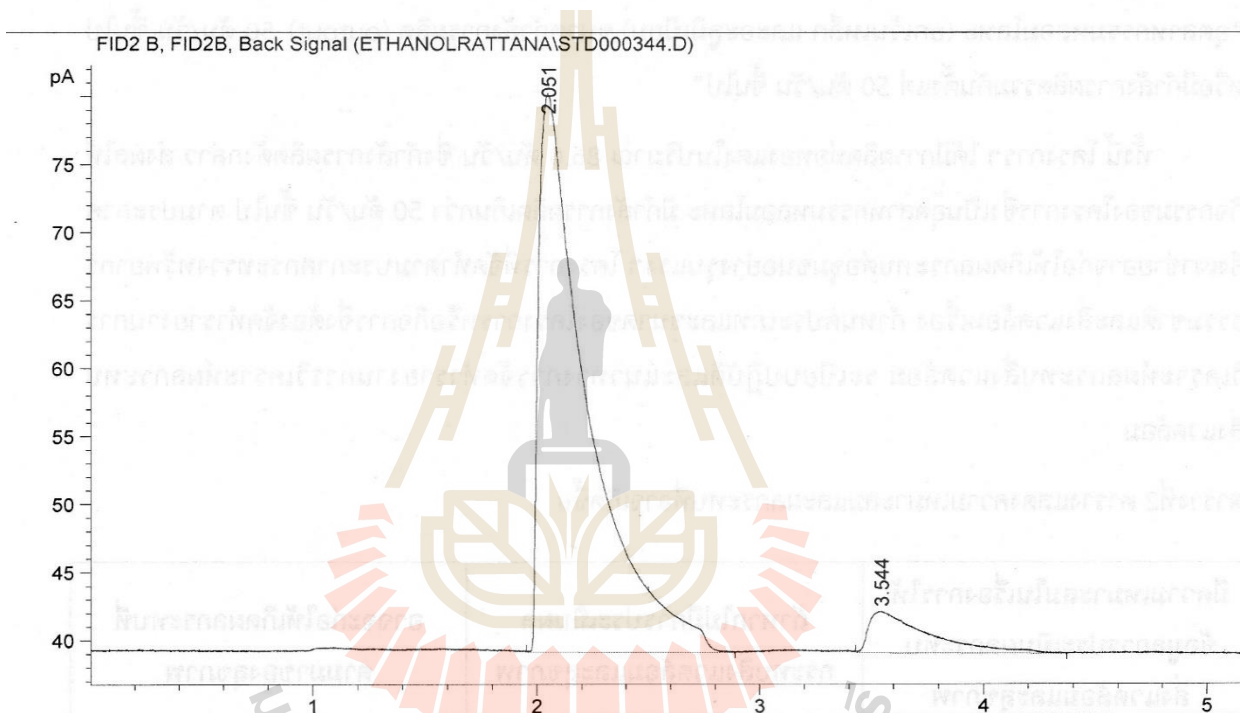
```

=====
Reported By      : Retention Time
Multiplier:      : 1.0000
Dilution:        : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.027	1	VV	353.01578	25.41149	76.18029
2	3.516	1	VV	109.35873	7.04496	23.59946

Operator : RATTANA 09.08.18
 Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 3:58:39 AM Inj Volume : Manually
 Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Last changed : 1/1/2002 3:47:35 AM by RATTANA 08.08.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Last changed : 1/1/2002 4:04:39 AM by RATTANA 09.08.18
 (modified after loading)
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. NB day 2 distillate 100 mi
 croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50
 microL) 09.08.18



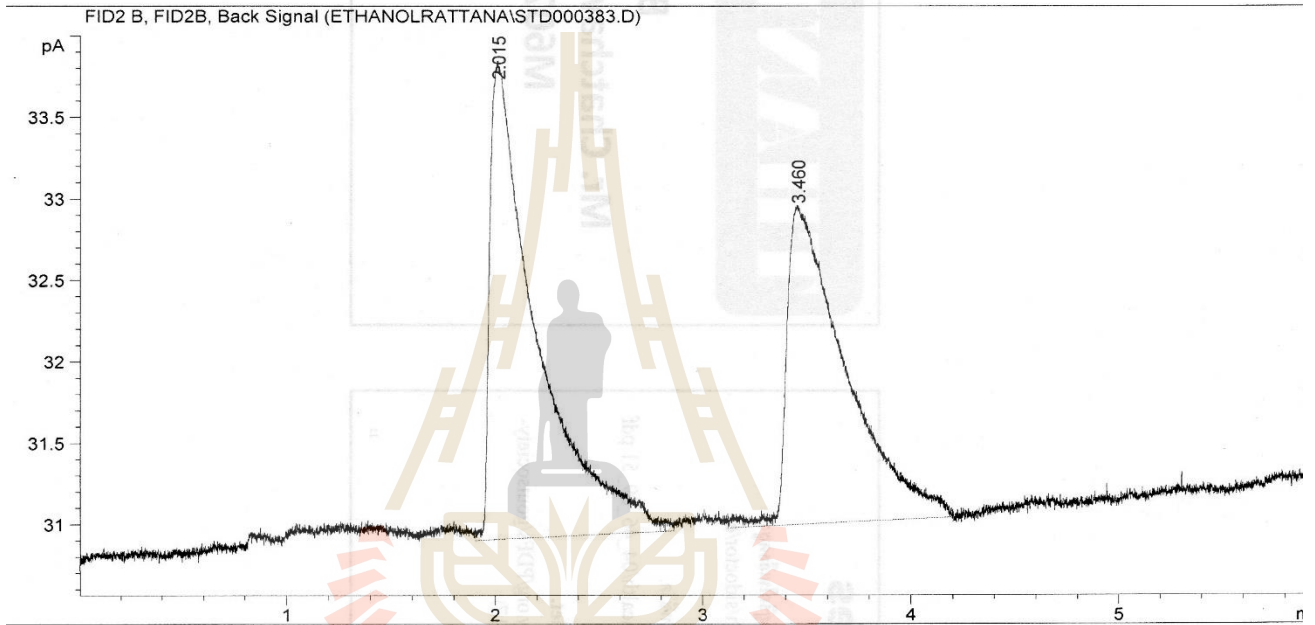
=====
 Area Percent Report
 =====

Reported By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.051	1	VV	628.26904	40.96487	91.75511
2	3.544	1	VV	56.45470	3.04908	8.24489

q. Operator : RATTANA 10.08.18
 q. Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 7:09:35 AM Inj Volume : Manually
 q. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 7:06:37 AM by RATTANA 10.08.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 7:15:35 AM by RATTANA 10.08.18
 (modified after loading)
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. NB day 3 distillate 100 microl + 0.3% n-propanol 100 microl (Temp. 38 C Syringe 50 microl) 10.08.18



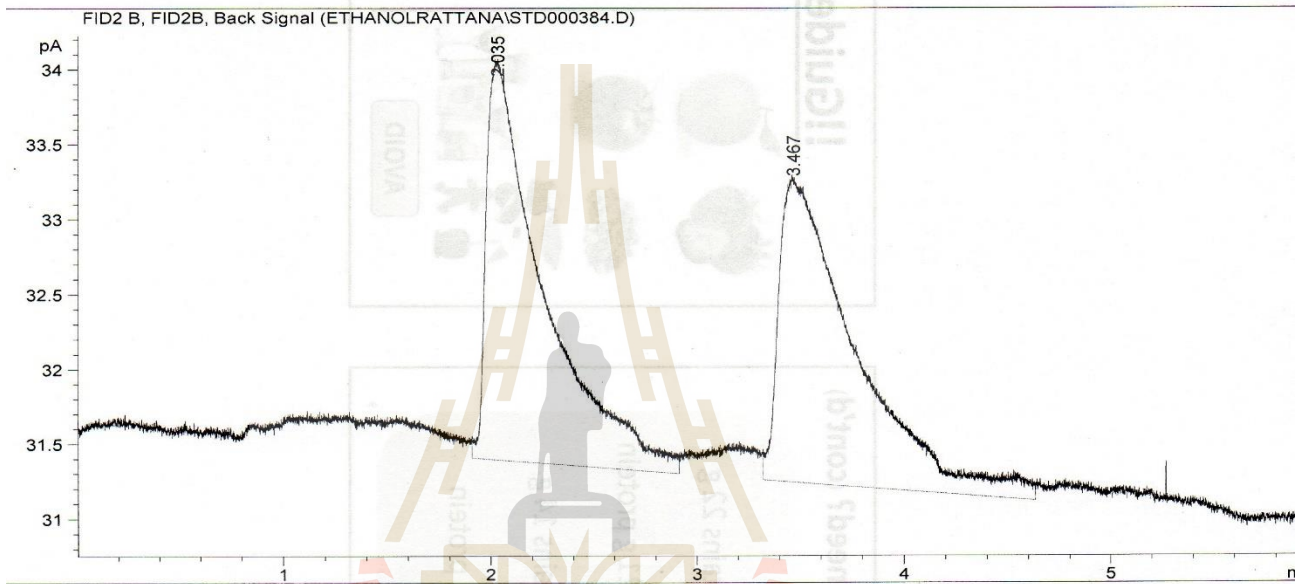
=====
 Area Percent Report
 =====

Reported By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Integration: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.015	1	VV	46.02591	2.91852	54.58046
2	3.460	1	VV	38.30081	1.94531	45.41954

Operator : RATTANA 10.08.18
 Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 7:23:20 AM Inj Volume : Manually
 Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 7:15:36 AM by RATTANA 10.08.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 7:29:21 AM by RATTANA 10.08.18
 (modified after loading)
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. NB day 3 distillate 100 mi
 croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syringe 50
 microL) 10.08.18



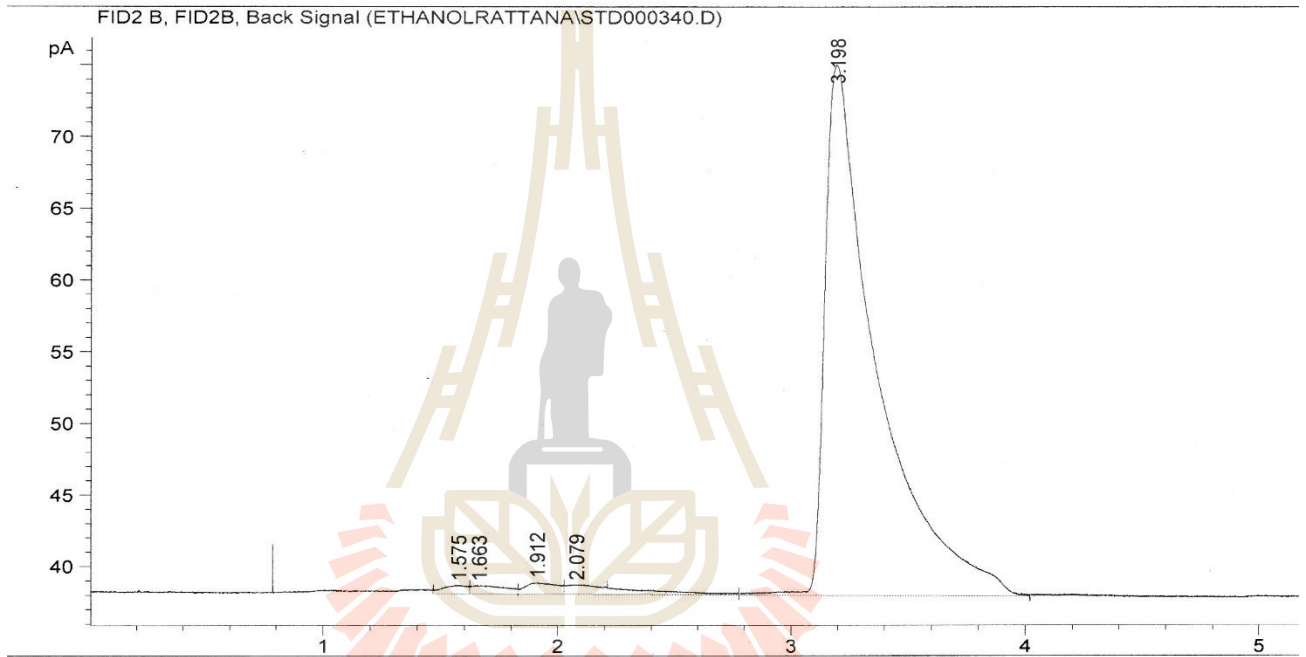
=====
 Area Percent Report
 =====

Retention Time :
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.035	1	VV	51.24167	2.64299	49.58179
2	3.467	1	VB	52.10609	2.01544	50.41821

q. Operator : RATTANA 08.08.18
 q. Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 9:06:01 AM Inj Volume : Manually
 q. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 8:50:14 AM by RATTANA 08.08.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 9:12:00 AM by RATTANA 08.08.18
 (modified after loading)
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. EN day 1 distillate 100 mi
 croL + 3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50
 microL) 08.08.18



=====
 Area Percent Report
 =====

Reported By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Report Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

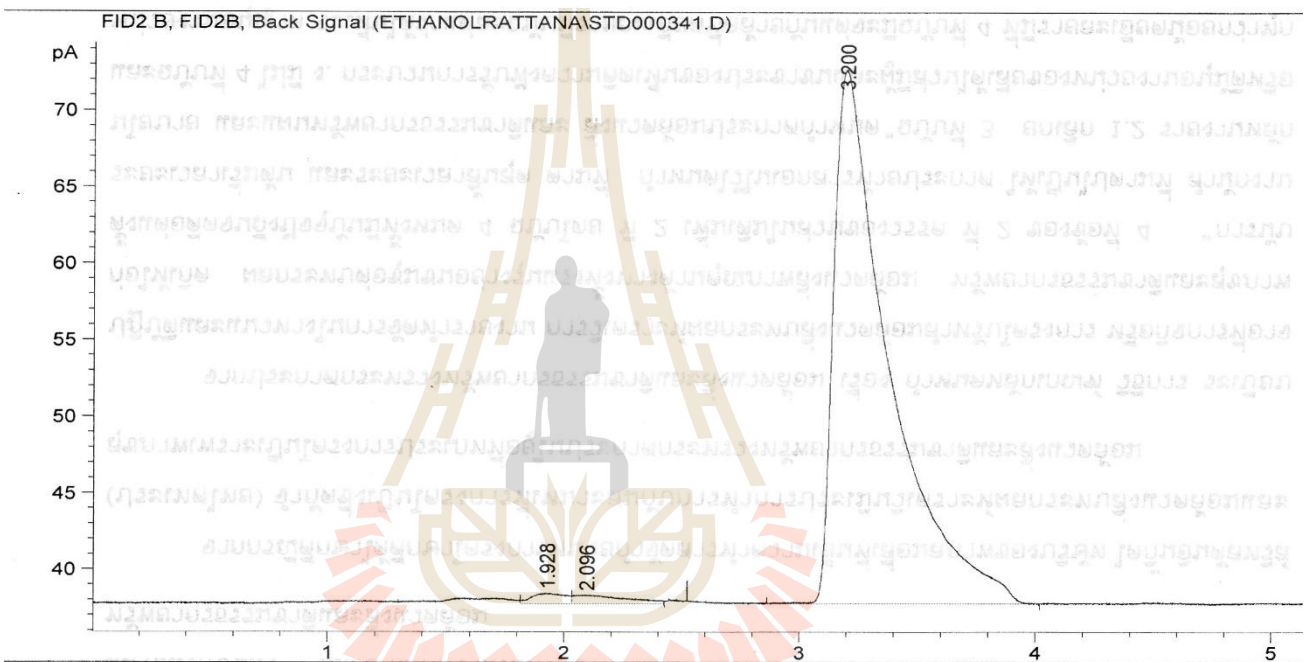
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	1.575	1	VV	4.29081	5.80702e-1	0.71450
2	1.663	1	VV	6.03892	5.67575e-1	1.00559

```

=====
sq. Operator      : RATTANA 08.08.18
sq. Instrument    : Instrument 1                      Location : -
Injection Date   : 1/1/2002 9:17:24 AM
                                                    Inj Volume : Manually
sq. Method       : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 9:12:00 AM by RATTANA 08.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 9:23:24 AM by RATTANA 08.08.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. EN day 1 distillate 100 mi
                  croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50
                  microL) 08.08.18
    
```

สรุป



Area Percent Report

```

Reported By      :
Multiplier       : 1.0000
Dilution         : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

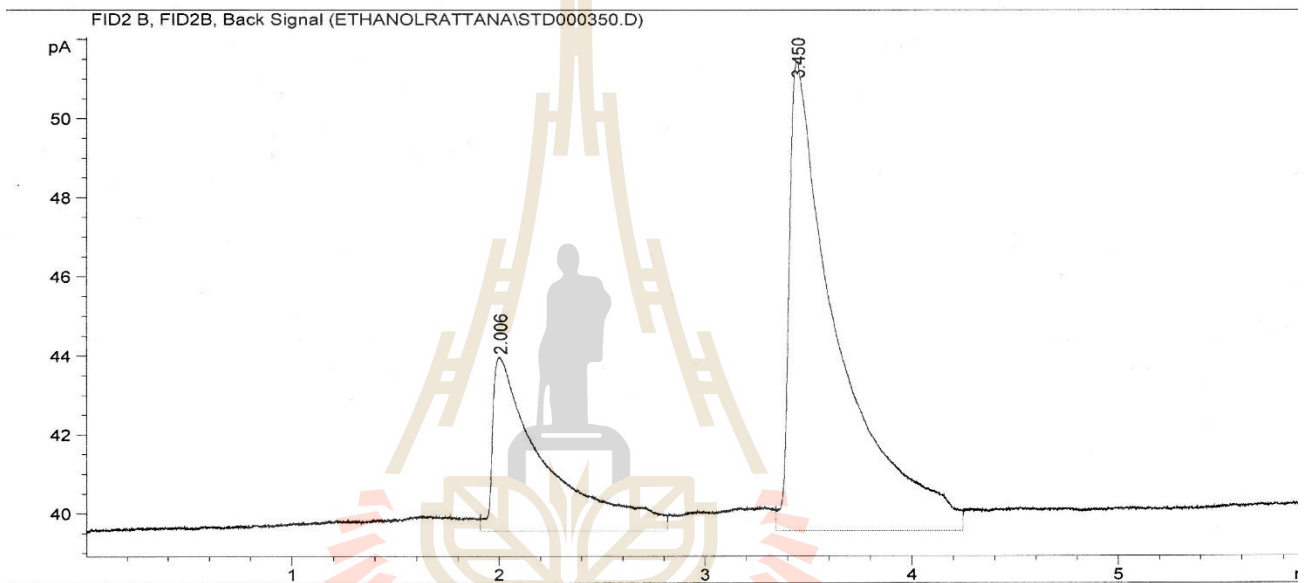
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	1.928	1	VV	6.58797	6.50905e-1	1.12823
2	2.096	1	VV	8.64035	5.32788e-1	1.47972

File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000350.D
 Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 09.08.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 4:56:56 AM
                                           Inj Volume : Manually
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
List changed    : 1/1/2002 4:53:39 AM by RATTANA 09.08.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000350.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
List changed    : 1/1/2002 12:06:55 AM by RATTANA 21.09.18
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. EN day 2 distillate 100 mi
                  croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syringe 50
                  microL) 09.08.18
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

Reported By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.006	1	VV	78.10945	4.37774	28.75709
2	3.450	1	VV	193.50862	11.85551	71.24291

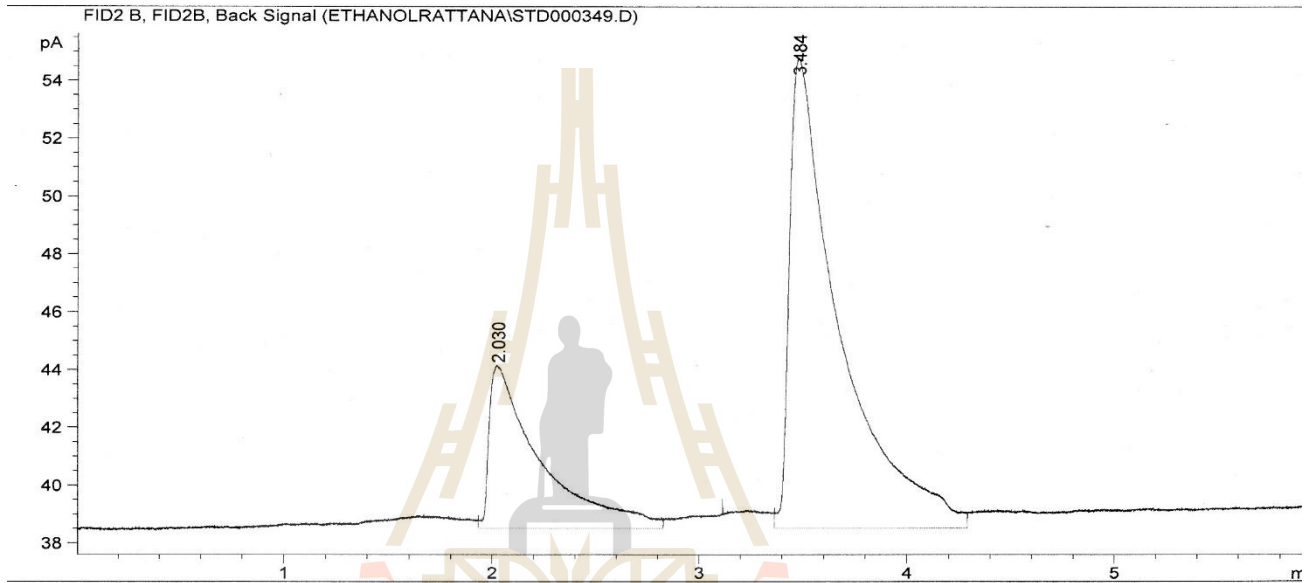

```

=====
Operator      : RATTANA 09.08.18
Instrument    : Instrument 1
Injection Date: 1/1/2002 4:47:38 AM
Location     : -
Inj Volume   : Manually

Method       : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Method changed: 1/1/2002 4:44:49 AM by RATTANA 09.08.18
              (modified after loading)
Analysis Method: C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000349.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
Method changed: 1/1/2002 12:05:57 AM by RATTANA 21.09.18
Method Info  : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info  : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. EN day 2 distillate 100 mic
              roL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50
              microL) 09.08.18

```



Area Percent Report

```

=====
Reported By      :
Multiplier:      : 1.0000
Dilution:        : 1.0000
Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

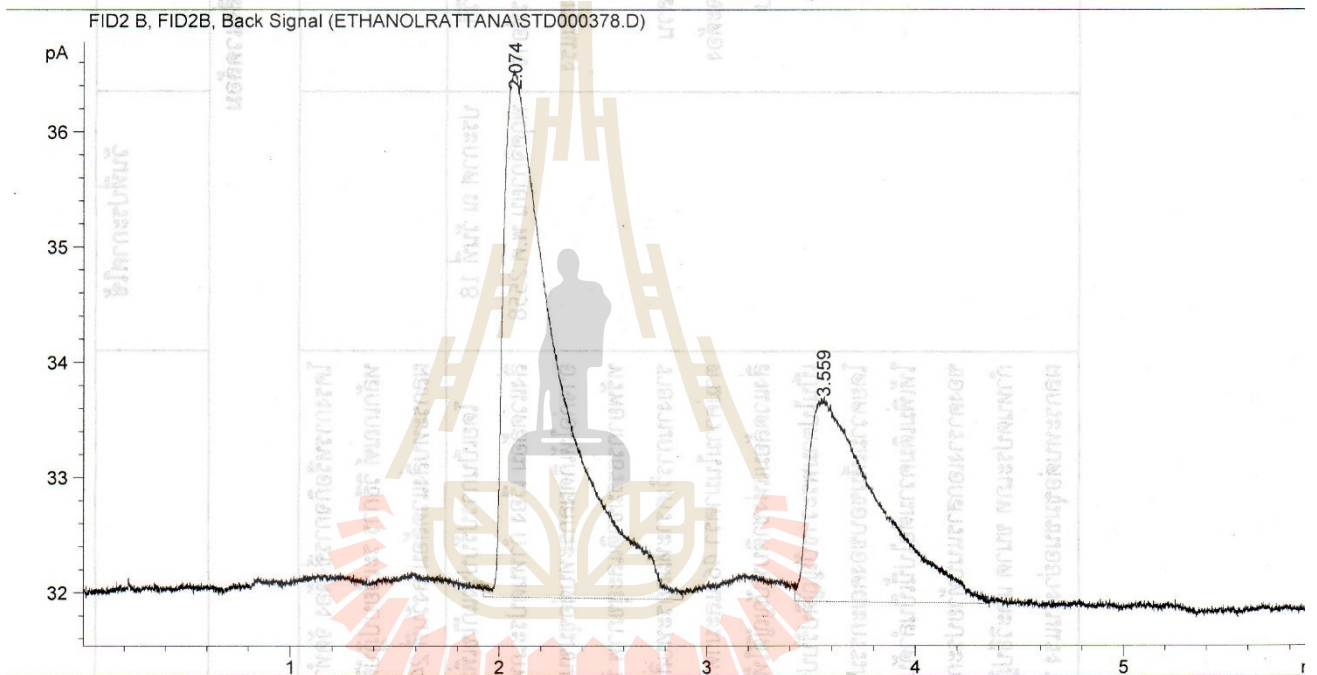
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.030	1	VV	96.95292	5.61110	26.26035
2	3.484	1	VV	272.24597	16.25927	73.73965

Report generated on 1/1/2002 12:06:28 AM by RATTANA 21.09.18

Page 1 of 2

V

q. Operator : RATTANA 10.08.18
 q. Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 6:26:29 AM Inj Volume : Manually
 q. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 6:21:02 AM by RATTANA 10.08.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO_FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 6:32:29 AM by RATTANA 10.08.18
 (modified after loading)
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. EN SUB day 3 distillate 10
 0 microL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syrin
 g 50 microL) 10.08.18



Area Percent Report

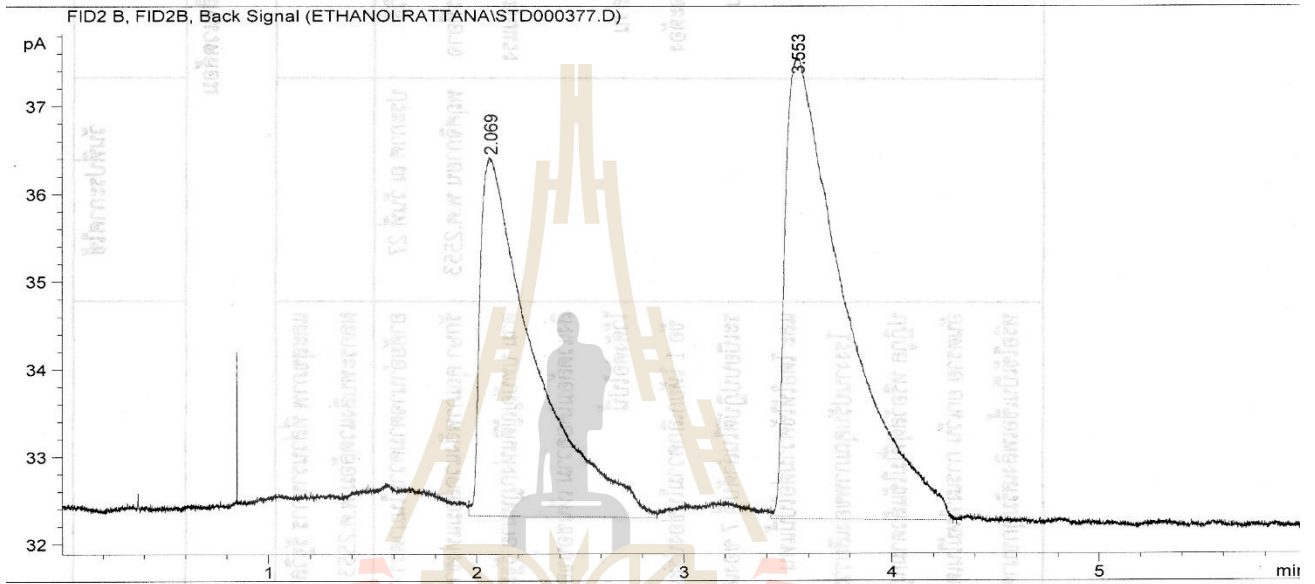
Reported By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Report Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.074	1	VV	82.90408	4.54750	67.03522
2	3.559	1	VV	40.76834	1.73068	32.96478


```

Operator      : RATTANA 10.08.18
Instrument    : Instrument 1
Location     : -
Injection Date : 1/1/2002 6:15:03 AM
Inj Volume   : Manually
Method       : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Changed      : 1/1/2002 6:10:42 AM by RATTANA 10.08.18
              (modified after loading)
Lysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Changed      : 1/1/2002 6:21:01 AM by RATTANA 10.08.18
              (modified after loading)
Method Info  : Test IQ Aug 31, 2009
Sample Info  : Petrobacter sp. CO, CO2, H2. EN day 3 distillate 100 mi
              croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp. 38 C Syring 50
              microL) 10.08.18
    
```



=====
Area Percent Report
=====

```

Integrated By      :
Multiplier        : 1.0000
Integration       : 1.0000
Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Injection 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

<	RetTime	Sig	Type	Area	Height	Area
	[min]			[pA*s]	[pA]	%
1	2.069	1	VV	74.40149	4.07920	41.63312
2	3.553	1	VV	104.30596	5.25489	58.36688



Acq. Operator : RATTANA 31.08.18
 Acq. Instrument : Instrument 1
 Injection Date : 1/1/2002 4:49:35 AM

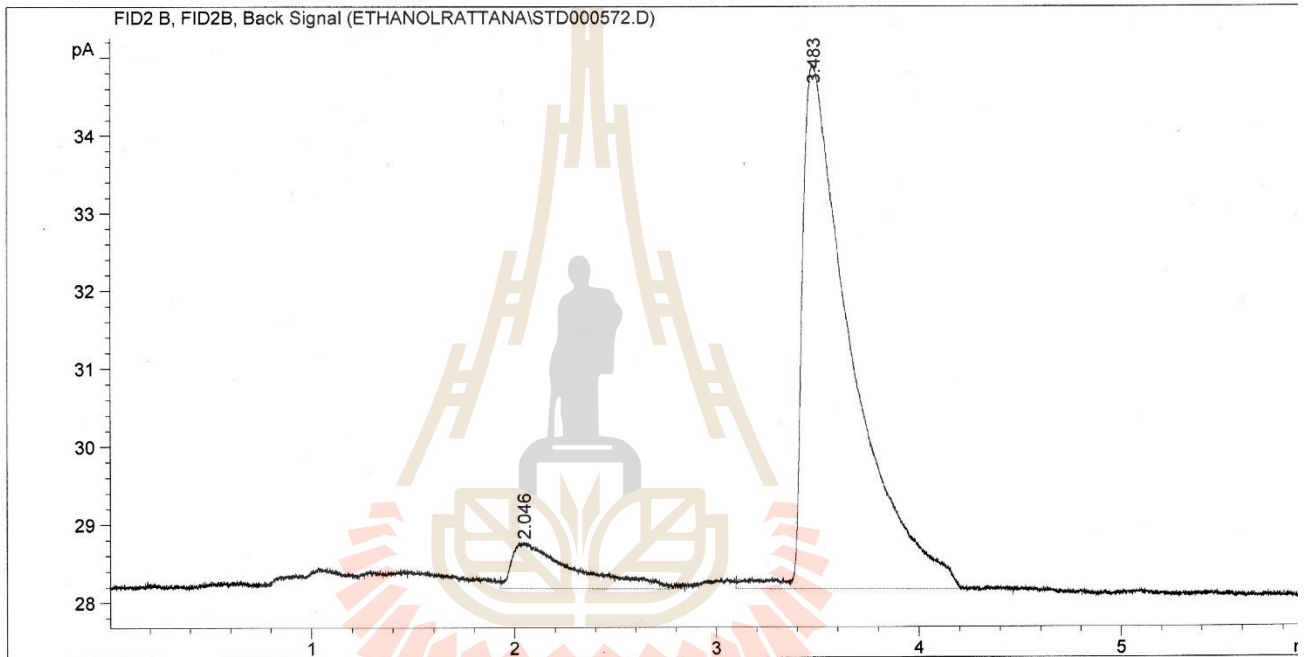
Location : -

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Last changed : 1/1/2002 4:46:33 AM by RATTANA 31.08.18
 (modified after loading)

Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000572.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
 Last changed : 1/1/2002 5:41:13 AM by RATTANA 11.09.18
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info : Petrobacter sp. CO2, CO, H2 NB 72 hr. distillate 100 mi
 croL
 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syring 50 microL
) 31.08.18
 24 hr.



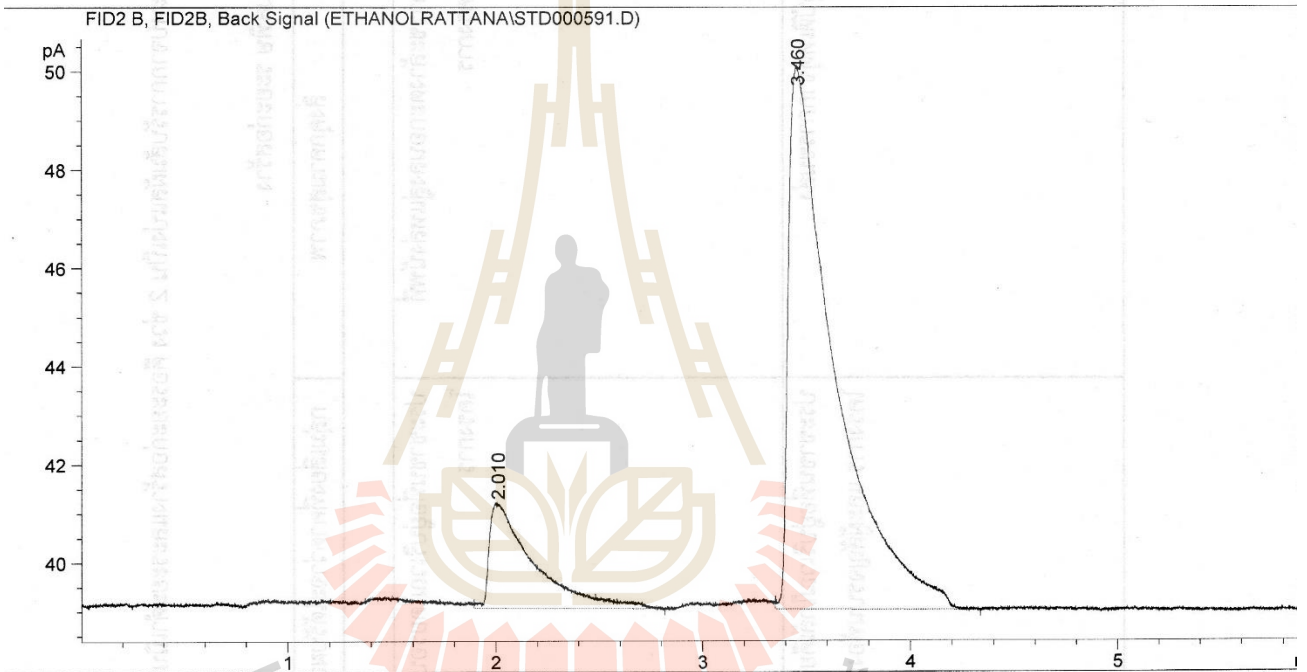
Area Percent Report

Sorted By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.046	1	VB	12.72018	5.72476e-1	10.09641
2	3.483	1	VB	113.26696	6.71548	89.90359

Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 4:15:55 AM Inj Volume : Manually
 Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO\FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 4:12:45 AM by RATTANA 02.09.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETHO\FID1.M
 Method changed : 1/1/2002 4:21:53 AM by RATTANA 02.09.18
 (modified after loading)
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO2, CO, H2. NB 72 hr. distillate 100 microL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syring 50 microL) 02.09.18



=====
 Area Percent Report
 =====

Reported By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

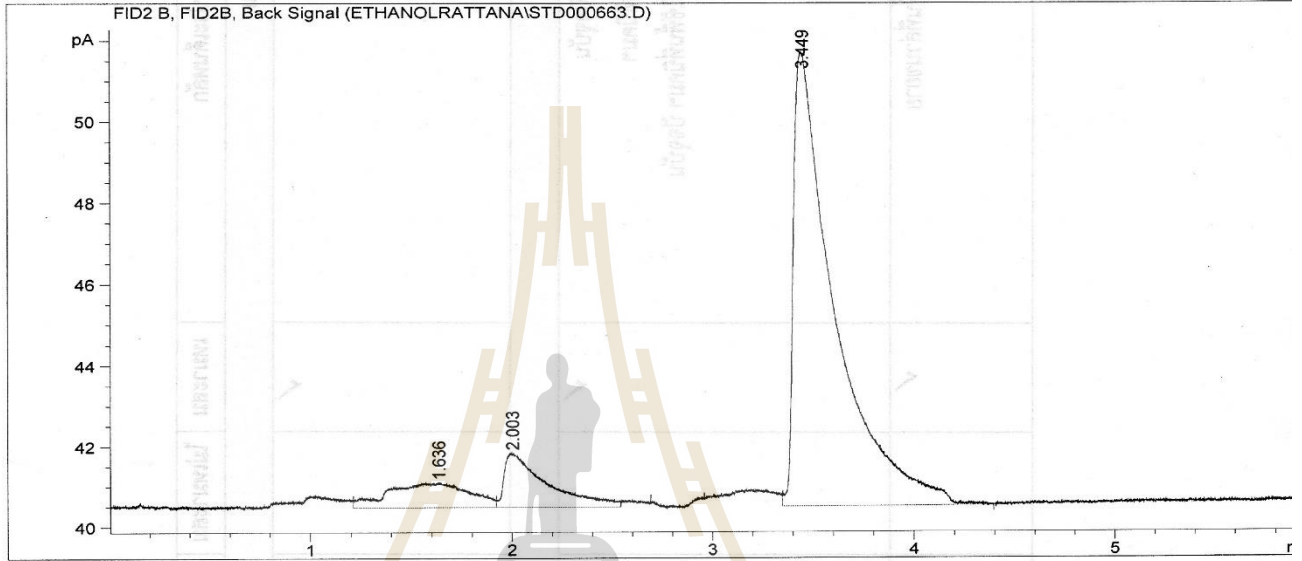
Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.010	1	VV	32.22560	2.11941	15.95571
2	3.460	1	VV	169.74341	11.01360	84.04429

ภาคผนวก จ
ผลการวิเคราะห์หาเอทานอล
ส่วนของระบบการผลิตเอทานอล (EthaRex reactor)
ด้วยก๊าซผสมสัดส่วนร้อยละ 30:50:20 โดยปริมาตร และจุลินทรีย์ SUTSP1
ร้อยละ 20 โดยปริมาตรสารอาหารในระบบ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Acq. Operator : RATTANA 08.09.18
 Acq. Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 4:51:39 AM Inj Volume : Manually
 Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Last changed : 1/1/2002 4:43:20 AM by RATTANA 08.09.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000663.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
 Last changed : 1/1/2002 6:20:37 AM by RATTANA 08.09.18
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO2, CO, H2. NB 24 hr. distillate 100 m
 icroL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syring 50
 microL) 08.09.18



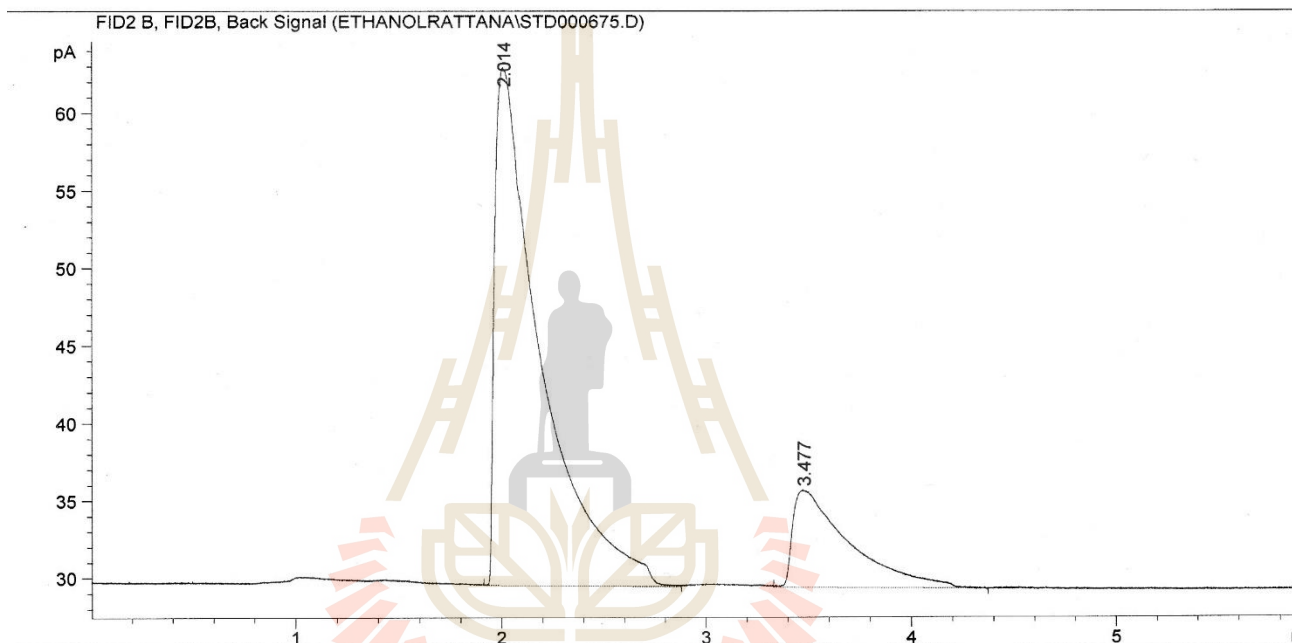
Area Percent Report

Sorted By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	1.636	1	VV	17.21886	5.96317e-1	8.81477
2	2.003	1	VV	19.80215	1.32560	10.13722
3	3.449	1	VV	158.31999	11.16164	81.04801

Operator : RATTANA 09.09.18
 Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 3:21:50 AM Inj Volume : Manually
 Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Last changed : 1/1/2002 3:14:33 AM by RATTANA 08.09.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Last changed : 1/1/2002 3:27:50 AM by RATTANA 09.09.18
 (modified after loading)
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO2, CO, H2. NB 48 hr distillate 100 mi
 croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syring 50
 microL) 09.09.18



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.014	1	VV	519.47882	33.40021	81.32562
2	3.477	1	VV	119.28524	6.24338	18.67438

Document 1 1/1/2002 3:27:51 AM RATTANA 09.09.18

Page 1 of 2

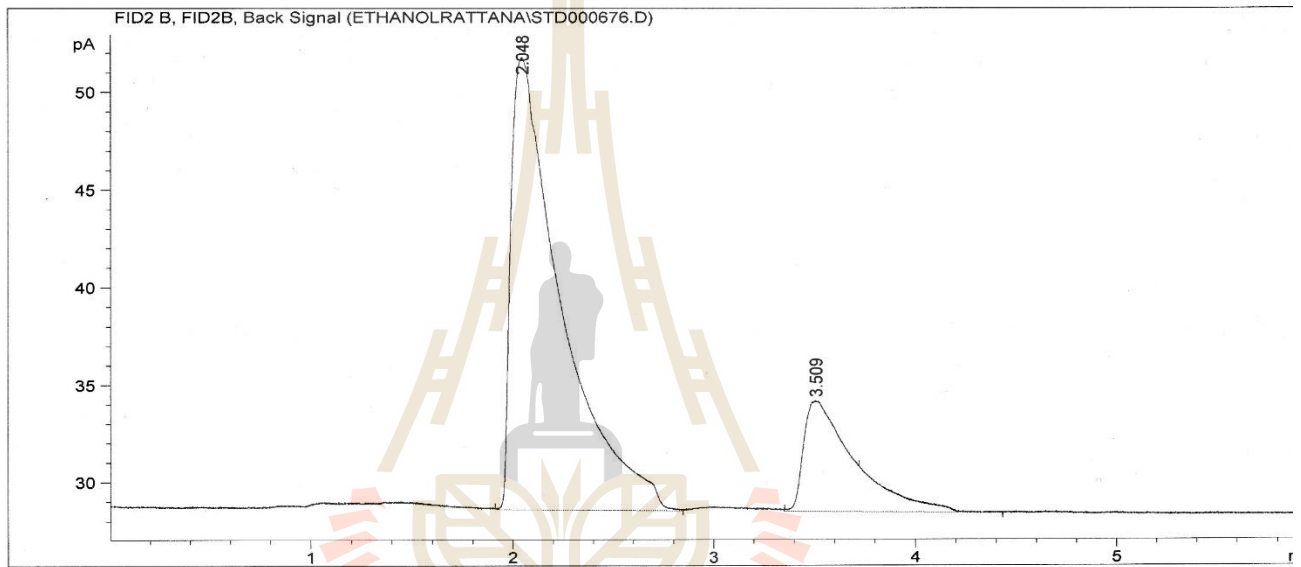
a File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000676.D
 ple Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 09.09.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 3:33:02 AM
                                           Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 3:27:51 AM by RATTANA 09.09.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 3:39:00 AM by RATTANA 09.09.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Petrobacter sp. CO2, CO, H2. NB 48 hr distillate 100 mi
                  croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syring 50
                  microL) 09.09.18
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

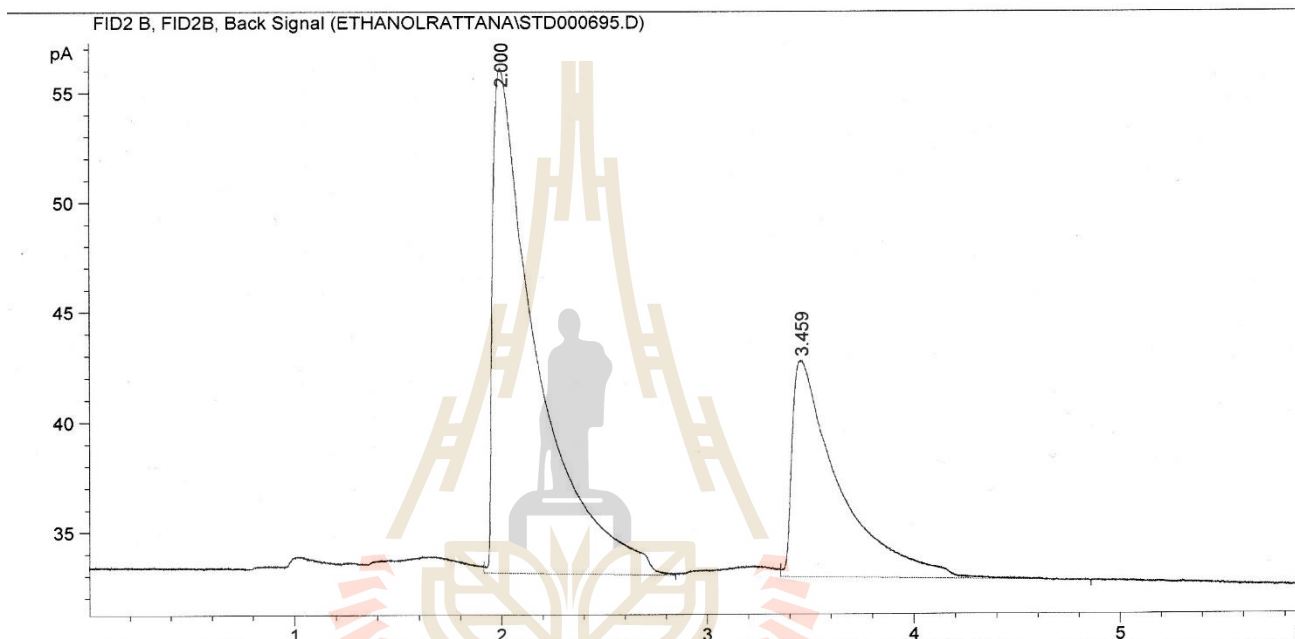
```

Sorted By      :      Retention Time
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.048	1	VV	401.06665	23.13128	80.01833
2	3.509	1	VB	100.15182	5.66697	19.98167

Operator : RATTANA 10.09.18
 Instrument : Instrument 1 Location : -
 Injection Date : 1/1/2002 1:55:08 AM Inj Volume : Manually
 Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
 Last changed : 1/1/2002 1:52:33 AM by RATTANA 10.09.18
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000695.D\DA.M (TOXICOETOH_FID1.M)
 Last changed : 1/1/2002 2:07:09 AM by RATTANA 10.09.18
 Method Info : Test IQ Aug 31, 2009
 Sample Info : Petrobacter sp. CO₂, CO, H₂. NB 72 hr. distillate 100 m
 icroL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syring 50
 microL) 10.09.18



=====
 Area Percent Report
 =====

Reported By : Retention Time
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

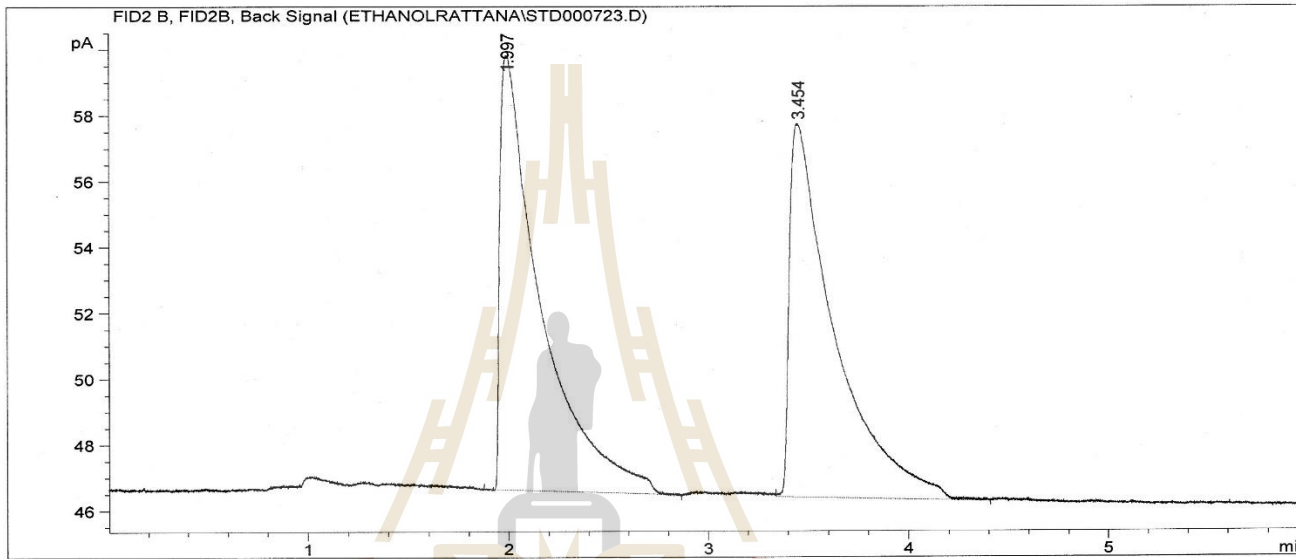
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.000	1	VV	339.58096	22.92335	68.53382
2	3.459	1	VB	155.91304	9.81037	31.46618


```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 11.09.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 4:54:24 AM   Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 4:51:43 AM by RATTANA 11.09.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 5:00:25 AM by RATTANA 11.09.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Petrobacter sp. CO2, CO, H2 NB 96 hr. distillate 100 mi
                  croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syringe 50
                  microL) 11.09.18
    
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Retention Time
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	1.997	1	BV	185.16515	13.14375	51.31620
2	3.454	1	VV	175.66658	11.34682	48.68380

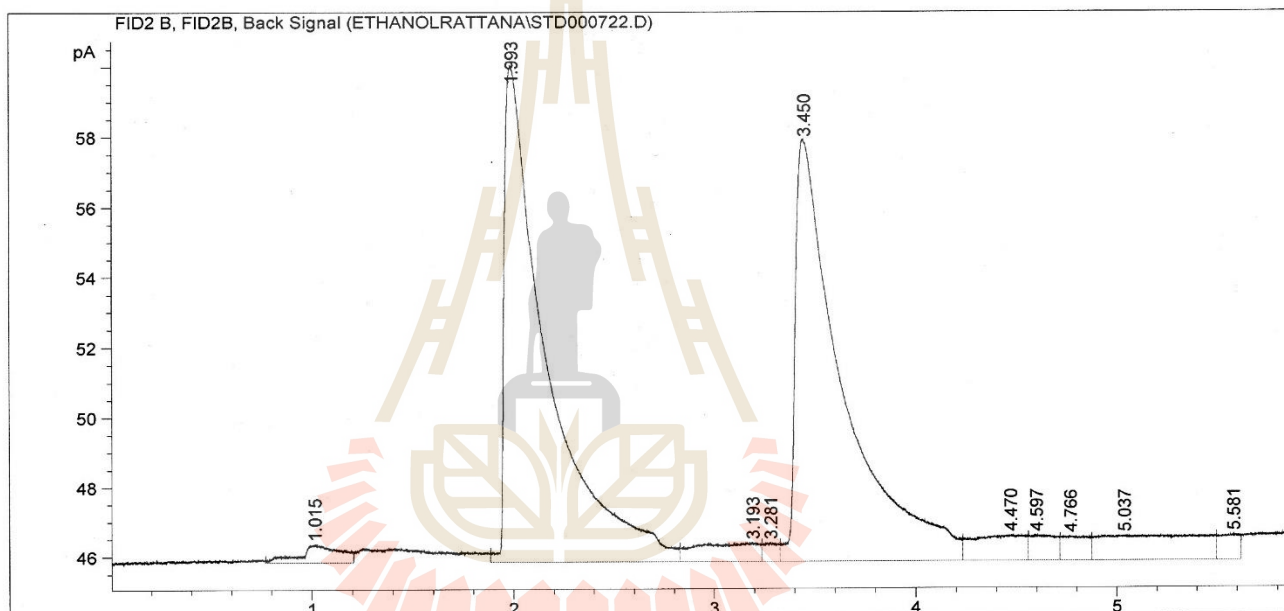
a File C:\CHEM32\1\DATA\ETHANOLRATTANA\STD000722.D
 File Name: Std.

```

=====
Acq. Operator   : RATTANA 11.09.18
Acq. Instrument : Instrument 1           Location : -
Injection Date  : 1/1/2002 4:45:42 AM      Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 4:43:43 AM by RATTANA 11.09.18
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\TOXICOETOH_FID1.M
Last changed    : 1/1/2002 4:51:42 AM by RATTANA 11.09.18
                  (modified after loading)
Method Info     : Test IQ Aug 31, 2009

Sample Info     : Petrobacter sp. CO2, CO, H2 NB 96 hr. distillate 100 mi
                  croL + 0.3% n-propanol 100 microL (Temp.38 C syring 50
                  microL) 11.09.18
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By           :      Retention Time
Multiplier:         :      1.0000
Dilution:           :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID2 B, FID2B, Back Signal

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	1.015	1	VV	7.45664	5.01163e-1	1.55095
2	1.993	1	BV	206.54517	14.20705	42.96050

ประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

หัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาว สิริภรณ์ โพธิวิชานนท์
(ภาษาอังกฤษ) Miss Siraporn Potivichayanon
2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
3. ที่อยู่หน่วยงาน
สาขาวิชานาฏยสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาสาธารณสุขศาสตร์
111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 0-4422-3936 โทรสาร 0-4422-3920 E-mail: siraporn@sut.ac.th,
possi12@yahoo.com
4. ประวัติการศึกษา
พ.ศ. 2558 Certificate of International Program in Integrated Water Management training course, in the framework of the International program in Environmental Science, Saxion University of Applied Sciences, Deventer, the Netherlands.
Supported by Netherlands Fellowship Programmes (NFP)
พ.ศ. 2551 Certificate of International Training Program in Ecological Alternatives in Sanitation, Stockholm Environment Institute, Sweden
พ.ศ. 2548 Ph.D. (Biology) International Program, Faculty of Science, Mahidol University
พ.ศ. 2541 วท.บ. (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยมหิดล
5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
Odor treatment, Biodegradation and Bioremediation, Ecological sanitation
6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :
 - 6.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:
 - เรื่องที่ 1 Removal of hydrogen sulfide by fixed-film bioscrubber
 - เรื่องที่ 2 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์
 - เรื่องที่ 3 Water management and sanitation in a community
 - เรื่องที่ 4 การประเมินความเสี่ยงของการนำน้ำเสียจากชุมชนขนาดเล็กที่ผ่านบำบัดแล้วมาใช้ในการเพาะปลูก ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัย

ผู้ร่วมงานวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาว รุจิรัตน์ กิจเลิศพรไพโรจน์
(ภาษาอังกฤษ) Miss Rujirat Kitleartpornpairat
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3409700127347
3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail
ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 0-4422-3936 โทรสาร 0-4422-3920 E-mail: rujirata@sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
พ.ศ. 2551 สาธารณสุขศาสตรบัณฑิต (อาชีวอนามัยและความปลอดภัย) มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
พ.ศ. 2545 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยบูรพา
พ.ศ. 2540 วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยบูรพา
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
Biodegradation, Water analysis, Industrial hygiene
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ : ระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอโครงการวิจัย เป็นต้น
 - 7.1. หัวหน้าโครงการวิจัย : -
 - 7.2. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :
 - เรื่องที่ 1 Biodegradation of Malachite green by Activated sludge. (ผู้วิจัยหลัก)
แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)
 - เรื่องที่ 2 การประเมินความเสี่ยงของการนำน้ำเสียจากชุมชนขนาดเล็กที่ผ่านบำบัดแล้วมาใช้ในการเพาะปลูก (ผู้ช่วยวิจัย)
แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2551 (งบเร่งด่วน)
 - เรื่องที่ 3 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ (ผู้ช่วยวิจัย)
แหล่งทุน เงินอุดหนุนการวิจัยเพื่อสนับสนุนการสร้างและพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
 - 7.3. งานวิจัยที่กำลังทำ : -
 - เรื่องที่ 1 การพัฒนาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดกลิ่นโดยใช้ระบบฟิสิกส์-ฟิล์มไบโอสครีบบเอร์ (ผู้ช่วยวิจัย)

- แห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2551 (งบเร่งด่วน)
- เรื่องที่ 5 การพัฒนาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดกลิ่นในรูปของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยใช้ระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์
- เรื่องที่ 6 การผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์โดยเชื้อจุลินทรีย์
- เรื่องที่ 7 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพในบริเวณพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช อพ.สธ. เขื่อนน้ำพุง จังหวัดสกลนคร
- เรื่องที่ 8 การพัฒนาความสามารถของระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์
- เรื่องที่ 9 การพัฒนาระบบการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมโดยจุลินทรีย์ SUTSP1
- เรื่องที่ 9 การกำจัดไฮยาไนด์จากน้ำเสียอุตสาหกรรมโดยจุลินทรีย์รวมกลุ่มร่วมกับระบบบำบัดน้ำเสียแบบฟิสิกซ์-ฟิล์มเอสปีอาร์
- เรื่องที่ 10 การพัฒนาการผลิตเอทานอลด้วยระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอรีแอกเตอร์แบบต่อเนื่อง
- เรื่องที่ 11 Health risk assessment of tap water quality: a case study in the international housing, Deventer, The Netherlands
- 6.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :
- เรื่องที่ 1 Removal of hydrogen sulfide by fixed-film bioscrubber. (ผู้วิจัยหลัก)
แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)
- เรื่องที่ 2 Optimization of bioscrubber system for hydrogen sulfide removal. (ผู้ช่วยวิจัย)
แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)
- เรื่องที่ 3 การประเมินห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทดสอบตามแนวทางปฏิบัติที่ดีที่สุดของห้องปฏิบัติการ: กรณีการชะแคะตะกอนและตะกั่วจากภาชนะเซรามิกห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี: ภายใต้โครงการการพัฒนารอบนโยบายการเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เพื่อการเสริมสร้างความเข้มแข็งของอุตสาหกรรมของประเทศไทยในการรับรองผลกระทบจากการประกาศใช้ระเบียบว่าด้วยสารเคมี (REACH) ของสหภาพยุโรป (ผู้ร่วมวิจัย)
แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
- เรื่องที่ 4 Water management and sanitation in a community (ผู้วิจัยหลัก)

- แหล่งทุน ภายใต้วามร่วมมือ การแนะนำและปรึกษาของ Swedish International Development Cooperation Agency (Sida) ในโปรแกรม International Training Programme (ITP) in Ecological Alternatives in Sanitation โดย Stockholm Environment Institute (SEI)
- เรื่องที่ 5 การประเมินความเสี่ยงของการนำน้ำเสียจากชุมชนขนาดเล็กที่ผ่านบำบัดแล้วมาใช้ในการเพาะปลูก
- แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2551 (งบเร่งด่วน)
- เรื่องที่ 6 การย่อยสลายไฮยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์
- แหล่งทุน เงินอุดหนุนการวิจัยเพื่อสนับสนุนการสร้างและพัฒนา นักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2550
- เรื่องที่ 7 การพัฒนาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดกลิ่นในรูปของก๊าซไฮโดรเจนไฮยาไนด์โดยใช้ระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสครีบเบอร์
- แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2553
- เรื่องที่ 8 การผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์โดยเชื้อจุลินทรีย์
- แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2553
- เรื่องที่ 9 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพในบริเวณพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช อพ.สธ. เขื่อนน้ำพุง จังหวัดสกลนคร
- แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2555
- เรื่องที่ 10 Health risk assessment of tap water quality: a case study in the international housing, Deventer, The Netherlands
- แหล่งทุน Netherlands Fellowship Programmes (NFP) 2014-2015
- เรื่องที่ 11 การพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่มในการย่อยสลายไรโอไฮยาเนตและโลหะไฮยาไนด์
- แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2555
- เรื่องที่ 12 การกำจัดไฮยาไนด์จากน้ำเสียอุตสาหกรรมโดยจุลินทรีย์รวมกลุ่มร่วมกับระบบบำบัดน้ำเสียแบบฟลักซ์-ฟิล์มเอสปีอาร์
- แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2556
- 6.3 งานวิจัยที่กำลังทำ :
- เรื่องที่ 2 การพัฒนาระบบการผลิตเอทานอลจากก๊าซผสมโดยจุลินทรีย์ SUTSP1
- แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2556

สถานภาพ	เสร็จสิ้นร้อยละ 50
เรื่องที่ 3	การพัฒนาการผลิตเอทานอลด้วยระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอรีแอคเตอร์แบบต่อเนื่อง
แหล่งทุน	สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2557
สถานภาพ	เสร็จสิ้นร้อยละ 30

งานตีพิมพ์เผยแพร่และประชุมวิชาการ

- Potivichayanon S, Pokethitiyook P, Kruatrachue M. 2006. Hydrogen sulfide removal by a novel fixed-film bioscrubber system. *Process Biochem* 41: 708-715.
- Potivichayanon S and Chuersuwan N. 2009. Greywater management and reuse for plant irrigation: A case study of Ban Laloommoa Village in Thailand. *Proceedings of the 11th International Conference on Environmental Science and Technology*. Chania, Crete, Greece. P.745-752.
- Potivichayanon S and Kitleartpornpaioat R. 2010. Biodegradation of cyanide by a novel cyanide-degrading bacterium. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 66: 1376-1379.
- Potivichayanon S, Sungmon T, Chaikongmao W, Kamvanin S. 2011. Enhancement of biogas production from bakery waste by *Pseudomonas aeruginosa*. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 80: 529-532.
- Potivichayanon S and Phaisanthia K. 2013. Ethanol production from carbon-rich gases by a new mixed culture of bacteria. *Proceeding of International Conference on Engineering and Applied Science*. Tokyo, Japan. P.1304-1309.
- Phaisanthia K, Potivichayanon S, Chuersuwan N, Meevasana K. 2013. Removal of heavy metals from electroplating wastewater by cassava peel waste. (Best Paper Award). *Proceeding of International Conference on Environmental Protection and Renewable Energy*. Pataya, Thailand. P.125-130.
- Potivichayanon S and Kitleartpornpaioat R. 2014. Degradation of cyanide to ammonia and nitrate by mixed culture of *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 and *Pseudomonas monteilii* SUTS 2. *Proceeding of the European Conference on Sustainability, Energy & the Environment*. Brighton, United Kingdom. P. 251-264.
- Supromin N, Potivichayanon S, Toensakes R. 2015. Degradation of metal cyanide from real electroplating wastewater by mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2. (Best

Paper Award). 3rd International conference on biological, chemical & environmental sciences (BCES-2015). Kuala Lumpur, Malaysia. 3: 75-80.

- Bunsort M, Potivichayanon S, Pentamwa P. 2015. Hydrogen cyanide and hydrogen sulfide gases removal by dual fixed-film bioscrubbers system. *KKU Science Journal* 43(4): 775-787.
- Potivichayanon S, Supromin N, Toensakes R. 2017. Degradation of a mixed microbial culture for thiocyanate and metal cyanide degradation. *3Biotech* 7:1-11.
- Potivichayanon, S., Toensakes, R. (2018). Bio-ethanol productivity by mixed culture of SUTSP1 and SUTSP5. *Exploring microorganisms: Recent advances in applied microbiology. Biomicroworld2017 conference. 18-20 October 2017. Madrid, Spain.*
- Toensakes, R., Potivichayanon, S., Tittabutr, P., and Vao-Soongnern. (2018). Isolation and identification of biodegradable plastic polyhydroxyalkanoate-producing strains by utilizing cassava pulp as a substrate. *Exploring microorganisms: Recent advances in applied microbiology. Biomicroworld2017 conference. 18-20 October 2017. Madrid, Spain.*

บทความวิชาการ

- สิริภรณ์ โพธิ์วิชยานนท์ 2553. รู้หรือไม่ว่า น้ำเสียจากครัวเรือนที่ผ่านการบำบัดแล้วนำมาใช้ในการเพาะปลูกพืชได้ดี วารสารอนามัยสิ่งแวดล้อม ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 เมษายน-มิถุนายน 2553 หน้า 67-71.

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2553
สถานภาพ เสร็จสิ้นร้อยละ 90

งานตีพิมพ์เผยแพร่

- Potivichayanon S and Kitleartpornpaioat R. 2010. Biodegradation of cyanide by a novel cyanide-degrading bacterium. Proceedings of ICEESD 2010 International Conference on Energy, Environment, Sustainable Development in World Academy of Science, Engineering and Technology. Paris, France. 66: 606-609.



ประวัติผู้ช่วยโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวรัตนา เทินสะเกษ

(ภาษาอังกฤษ) Miss Rattana Toensakes

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1 3001 00101 xx x

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยวิจัย

4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

สาขาอนามัยสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422-3963 E-mail : rattana.t58@gmail.com

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2556-ปัจจุบัน กำลังศึกษา วท.ม. (มลพิษสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัย)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พ.ศ. 2553 วท.บ. (อนามัยสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ : ระบุสถานภาพ

ในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละ
ข้อเสนอโครงการวิจัย เป็นต้น

6.1 งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้ว :

เรื่องที่ 1 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพในบริเวณพื้นที่ปกปัก

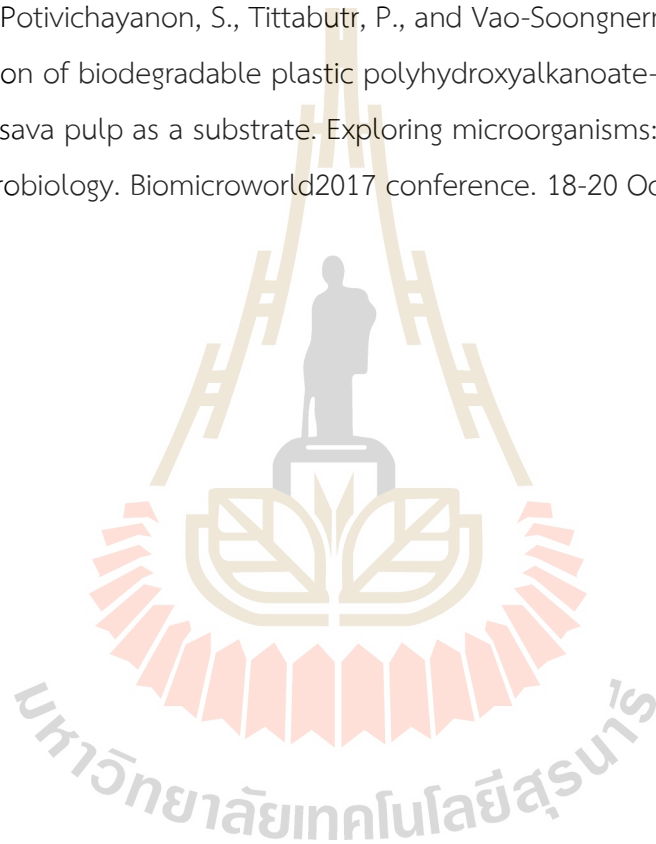
พันธุกรรมพืช อพ.สธ. เขื่อนน้ำพุง จังหวัดสกลนคร (ผู้ช่วยวิจัย)

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2555

งานตีพิมพ์เผยแพร่

- Moungnak N, Chimmair J, Toensakes R, Katramee A, Manatsakan S, Sukton B, Wongklom T, Chuersuwan N. 2014. Estimating daily exposure factors among Thai s' students : A case in an university in Northeastern Thailand. International conference on public health among the greater Mekhong sub-regional countries. Khon kean, Thailand. 6 : 197.
- Supromin N, Potivichayanon S, Toensakes R. 2015. Degradation of metal cyanide from real electroplating wastewater by mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2. 3rd International conference on biological, chemical & environmental sciences (BCES-2015). Kuala lumper, Malaysia. 3: 75-80.
- Toensakes R, Potivichayanon S, Supromin N. 2015. Screening and identification of biodegradable plastic polyhydroxyalkanoate- producing strains by rapid viable-

- colonies straining method. The 41th congress on science and technology of Thailand (STT41). Nakhon Ratchasima, Thailand.
- Katramee A, Toensakes R, Potivichayanon S. 2015. Biodegradation of oil and grease from synthetic wastewater by local isolation lipid degrading microorganism. The 41th congress on science and technology of Thailand (STT41). Nakhon Ratchasima, Thailand.
 - Potivichayanon S, Supromin N, Toensakes R. 2017. Degradation of a mixed microbial culture for thiocyanate and metal cyanide degradation. 3Biotech 7:1-11.
 - Toensakes, R., Potivichayanon, S., Tittabutr, P., and Vao-Soongnern. (2018). Isolation and identification of biodegradable plastic polyhydroxyalkanoate-producing strains by utilizing cassava pulp as a substrate. Exploring microorganisms: Recent advances in applied microbiology. Biomicroworld2017 conference. 18-20 October 2017. Madrid, Spain.



ประวัติผู้ช่วยโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวนุชจลี สุพรหมอินทร์

(ภาษาอังกฤษ) Miss Nootjalee Supromin

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1 4205 00060 xx x

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยวิจัย

4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

สาขาอนามัยสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422-3963 E-mail: Nootjalee_nat@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2559 วท.ม. (มลพิษสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัย)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พ.ศ. 2555 วท.บ. (อนามัยสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

งานตีพิมพ์เผยแพร่

- Supromin N., Potivichayanon S, Toensakes R. 2015. Degradation of metal cyanide from real electroplating wastewater by mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2. 3rd International conference on biological, chemical & environmental sciences (BCES-2015). Kuala Lumpur, Malaysia. 3: 75-80.
- Toensakes R, Potivichayanon S, Supromin N. 2015. Screening and identification of biodegradable plastic polyhydroxyalkanoate-producing strains by rapid viable-colonies straining method. The 41th congress on science and technology of Thailand (STT41). Nakhon Ratchasima, Thailand.
- Potivichayanon S, Supromin N, Toensakes R. 2017. Degradation of a mixed microbial culture for thiocyanate and metal cyanide degradation. 3Biotech 7:1-11.