หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

การผลิตเอทานอลในประเทศไทยปัจจุบันนี้ใช้กากน้ำตาล (molasses) เป็นวัตถุดิบเป็นส่วนใหญ่(1) เนื่องจากกากน้ำตาลมีราคาถูกและเป็นผลพลอยได้ที่สำคัญจากการผลิตน้ำตาลทราย กากน้ำตาลมีลักษณะเป็นของเหลวข้น ไม่ตกผลึก มีสีน้ำตาลไหม้ ในการผลิตน้ำตาลทรายจะได้กากน้ำตาลเป็นผลพลอยได้ประมาณ 4-6 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณอ้อยที่ใช้ในการผลิต ดังนั้นปริมาณของกากน้ำตาลจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลที่ผลิตได้จากอ้อยในแต่ละปีโดยเฉพาะประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการผลิตอ้อยเป็นพืชหลักรองจากข้าวและมีการผลิตน้ำตาลทรายเป็นอุตสาหกรรมที่สำคัญของประเทศจึงทำให้มีกากน้ำตาลเป็นผลพลอยได้เป็นปริมาณมากในแต่ละปี (2) ดังตารางแสดงปริมาณกากน้ำตาลในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลผลิตและประสิทธิภาพการผลิตน้ำตาลและกากน้ำตาล (3) ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2525-2530

ฤดูการผลิต (พ.ศ.)	ผลผลิต(ล้านตัน)		
	อ้อย	น้ำตาล	กากน้ำตาล
2525-26	23.916	2.216	1.316
2526-27	23.087	2.213	1.230
2527-28	25.053	2.471	2.471
2528-29	23.999	2.491	2.491
2529-30	24.441	2.535	2.535

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าในประเทศไทยมีกากน้ำตาลเหลือมากขึ้นในแต่ละปี ซึ่งกากน้ำตาลนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น ส่งเป็นสินค้าออก ใช้ทำปุ๋ย ใช้เป็นอาหารสัตว์ ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการหมักต่างๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมการผลิตยีสต์ทำขนมปัง ผงชูรสและที่สำคัญที่สุดและผลิตมากที่สุดในประเทศไทยคือ การผลิตเอทานอล เป็นต้น การใช้กากน้ำตาลในประเทศไทยยังมีสถิติไม่แน่นอน นอกจากการส่งเป็นสินค้าออกประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ต่อปีแล้ว กากน้ำตาลที่เหลือส่วนใหญ่จะใช้ในการผลิตเอทานอลประมาณ 28 เปอร์เซ็นต์ต่อปี นอกจากนี้จะใช้ในการผลิตผงชูรส ผลิตน้ำส้มสายชู ผสมอาหารสัตว์ ผสมในซีอิ๊วและซอสปรุงรสต่างๆเป็นต้น โรงงานผลิตเอทานอลในประเทศไทยส่วนใหญ่จะใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ เนื่องจากต้นทุนในการผลิตจะถูกกว่าการใช้วัตถุดิบอื่น เช่น ในการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นสุราชนิด 40 ดีกรีปริมาณ 1 เท (1 เทเท่ากับ 20 ลิตร) ถ้าใช้กากน้ำตาลอย่างเดียวจะใช้ประมาณ 36.59 กิโลกรัม แต่ถ้าใช้ข้าวหักหรือปลายข้าวจะใช้ประมาณ 24.61 กิโลกรัม แต่ราคากากน้ำตาลต่อหน่วยจะถูกกว่าราคาข้าว จึงเป็นเหตุผลให้โรงงานผลิตเอทานอลในประเทศไทยส่วนใหญ่จึงนิยมใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบมากกว่า (4)

ในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลนั้น ภายหลังจากการกลั่นเอทานอลแล้วจะทำให้มีของเสียออกมาจากกันหอกลั่นเป็นของเหลวเหลือทิ้งของโรงงานผลิตเอทานอลที่เรียกว่าน้ำกากส่า (distillery slop) ซึ่งเป็นของเสียเกิดขึ้นจากการผลิตสิ่งประมาณ 3.5 เท่าของอัตราการผลิตเอทานอล เช่น อัตราการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นสุราขาวชนิด 28 ดีกรี ปริมาณ 6,500 เทต่อวัน หรือประมาณ 130 ลูกบาศก์เมตรต่อวันจะมีน้ำกากส่าประมาณ 350 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน น้ำกากส่าจากโรงงานผลิตเอทานอลมีความเข้มข้นสูงมากมีค่า BOD และ COD สูงถึง 30,000-35,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 100,000-150,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีฤทธิ์เป็นกรดประมาณ 4.0 มีสีน้ำตาลเข้มหรือดำ หากปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ เช่น แม่น้ำ ลำคลอง โดยไม่มีการบำบัดเสียก่อนแล้ว จะก่อให้เกิดปัญหามลภาวะทางน้ำ เช่น ทำให้น้ำเน่าเสีย

มีกลิ่นเหม็นทำให้แหล่งน้ำนั้นๆ ไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ประโยชน์อื่นๆ ได้ และเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำต่างๆได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูแล้ง เพราะมีปริมาณน้ำน้อยที่จะมาทำให้น้ำกากส่าเจือจางได้ โดยเฉพาะสีของน้ำกากส่าซึ่งมีสีน้ำตาลดำเข้มมาก(1) ได้มีการศึกษาคุณสมบัติของน้ำกากส่าของโรงงานผลิตเอทานอลจากโรงงานต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงคุณสมบัติของน้ำกากส่าของโรงงานผลิตเอทานอลต่างๆ (1,5,6)

คุณสมบัติ	หน่วย	โรงงานสุราไต้หวัน (พ.ศ.2521)	โรงงานสุราในไทย (พ.ศ.2524)	โรงงานสุรานามทอง (พ.ศ.2526)	โรงงานสุราแสงโสม (พ.ศ.2530)
BOD	มก./ล.	72,000	27,475	26,333	27,000
COD	มก./ล.	114,500	84,400	79,739	117,000
pH	pH unit	4.9	3.6	4.2	4.5
อุณหภูมิ	°c	-	86	-	98
น้ำตาลรีดิวซ์	ก./100 มล.	2.2	-	-	2.0
ไนโตรเจน-ทั้งหมด	ก./100 มล.	0.385	0.935	0.134	-
ไนโตรเจน-อะมิโน	ก./100 มล.	0.074	-	-	0.05
ไนโตรเจน-แอมโมเนียม	ก./100 มล.	0.010	-	-	0.01

จากคุณสมบัติของน้ำกากส่าดังแสดงในตารางที่ 2 แล้ว คุณสมบัติที่สำคัญอีกอย่างของน้ำกากส่าคือ สีน้ำตาลดำเข้มมาก แม้ว่าเมื่อมีการบำบัดน้ำกากส่าจนมีค่า BOD และ COD จนถึงระดับที่สามารถปล่อยทิ้งได้ แต่ก็ยังมีปัญหาที่สีของ

น้ำกากส่า หากไม่ได้รับการฟอกสีก่อนปล่อยลงสู่แม่น้ำ ลำคลอง ก็จะทำให้แหล่งน้ำนั้นๆมีสีน้ำตาลเข้มของน้ำกากส่าละลายปะปนอยู่ด้วย ซึ่งทำให้เกิดสภาพที่ไม่ดีต่อแหล่งน้ำนั้นๆ เช่น ประชาชนไม่สามารถนำน้ำจากแหล่งน้ำนั้น ๆไปใช้ได้ เกิดทัศนียภาพที่ไม่ดีต่อผู้คนที่พบเห็น และทำให้เกิดมลภาวะต่อสัตว์น้ำได้ ดังนั้นจึงได้มีความคิดที่จะทำการฟอกสี (decolorization) น้ำกากส่าก่อนปล่อยออกจากโรงงาน ซึ่งหลักการสำคัญก็คือการกำจัดสารมีสีในน้ำกากส่า

สีของน้ำกากส่านั้นเกิดมาจากกากน้ำตาลที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย กากน้ำตาลซึ่งใช้ในการผลิตเอทานอลนั้นได้จากการเคี่ยวน้ำอ้อยให้ข้นเพื่อให้น้ำระเหยออกไป (evaporation) และการตกผลึกเป็นน้ำตาลทราย ซึ่งการเคี่ยวและการตกผลึกเป็นน้ำตาลทรายนี้ปกติจะทำซ้ำๆถึง 3 ครั้งจนกระทั่งน้ำตาลไม่สามารถตกผลึกได้อีกแล้ว ส่วนที่เหลือเหล่านี้ก็คือกากน้ำตาลขั้นสุดท้าย กากน้ำตาลดิบนี้จะประกอบไปด้วย น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น น้ำตาลซูโครส (sucrose) น้ำตาลกลูโคส (glucose) น้ำตาลฟรุคโตส (fructose) และน้ำตาลราฟฟิโนส (raffinose) เป็นต้น ซึ่งยีสต์สามารถนำไปใช้ในขบวนการหมักเอทานอลได้และยังมีสารประกอบอื่นๆที่ยีสต์ไม่สามารถใช้ในการหมักเอทานอลได้ ส่วนใหญ่เป็นสารที่มีสี ได้แก่

คาราเมล (caramel) ของน้ำตาลต่างๆเป็นสารประกอบที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เกิดจากน้ำตาลได้รับความร้อนมากเกินไปในระหว่างการผลิตน้ำตาลทราย คาราเมลมีสีดำสนิท ส่วนมากใช้ประโยชน์ในการทำเป็นส่วนผสมที่ทำให้เกิดสีในอาหาร เช่น ซีอิ้ว ซ๊อสปรุงรส สุรา และเครื่องดื่มประเภทน้ำอัดลมต่างๆ เป็นต้น การผลิตคาราเมลในการเป็นส่วนผสมในการผลิตสุราในประเทศไทย ใช้วิธีการเคี่ยวน้ำตาลทรายในกะทะจนน้ำตาลทรายไหม้เป็นสีดำ จากนั้นเติมเอทานอลลงไปเป็นตัวทำละลาย จะได้สารละลายคาราเมลมีลักษณะเป็นของเหลวข้นสีดำมีกลิ่นหอมของน้ำตาลไหม้และเอทานอล ใช้ในการผสมสีของสุราต่อไป (7)

เมลานอยดิน (melanoidin) เป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning or mailard reaction)

ซึ่งเป็นปฏิกิริยาควบแน่น (condensation) ของน้ำตาลชนิดต่างๆกับสารประกอบไนโตรเจนเช่น กรดอะมิโนชนิดต่างๆ เมลานอยดินเป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาลเข้ม พบว่าเป็นปัญหาที่สำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารและน้ำตาลประเภทต่างๆ โดยเฉพาะพบมากในกากน้ำตาลซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้น้ำกากส่ามีสีน้ำตาลเข้มยิ่งขึ้นด้วย (7,8,9) เมลานอยดินนอกจากจะเกิดขึ้นเองในระหว่างขบวนการผลิตน้ำตาลทรายและอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ แล้วยังสามารถสังเคราะห์ขึ้นเองเพื่อใช้ในการศึกษาการฟอกสีเมลานอยดินดังรายงานต่อไปนี้คือ

Watanabe และคณะ (10) ใช้สารละลายผสมระหว่างน้ำตาลกลูโคส 1 โมลาร์กับกลูตาเมต 1 โมลาร์ ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 9 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ต้มกลั่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาไดอะไลซ์ (dialyzation) ด้วยน้ำประปา 2 วันและน้ำผ่านการกำจัดอิออน (deionized water) 1 วัน ได้สารละลายเมลานอยดิน ใช้ในการศึกษาการฟอกสีเมลานอยดินด้วยเอ็นไซม์ที่สกัดได้จากเห็ด Coriolus sp. NO.20

Hayase และคณะ(11) ใช้สารละลายผสมระหว่างน้ำตาลกลูโคส 1 โมลาร์ไกลซีน 1 โมลาร์และโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.2 โมลาร์ ปรับปริมาตรเป็น 500 มล.ด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำผ่านการกำจัดอิออน ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.8 ต้มกลั่นในอ่างน้ำมัน (oil bath) เป็นเวลา 7 ชั่วโมง นำมาไดอะไลซ์ด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำผ่านการกำจัดอิออนเป็นเวลา 2 สัปดาห์ วิธีนี้จะได้สารละลายเมลานอยดิน 17.6 กรัมจากน้ำตาลกลูโคส 180 กรัม ใช้ในการศึกษาการฟอกสีและการย่อยสลายเมลานอยดินด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

Ohmomo และคณะ (12) ใช้สารละลายผสมระหว่างน้ำตาลกลูโคส 1 โมลาร์ กรดอะมิโน 1 โมลาร์และโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.5 โมลาร์ ละลายน้ำกลั่นหรือน้ำผ่านการกำจัดอิออนให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร นำมานึ่งไอน้ำที่ความดัน 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล นำมากรองผ่านอุลตร้าฟิลเตอร์ (ultrafilter) ชนิด UK-10 และ UH-1 เมลานอยดินที่ได้จะมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 1,000 และต่ำกว่า 10,000 ใช้ในการศึกษาการฟอกสีเมลานอยดิน

ด้วยเอ็นไซม์P-III และ P-IV จากสายใยของเห็ด Coriolus versicolor Ps4a.

Takeushi และคณะ(13) ใช้สารละลายผสมระหว่างน้ำตาลกลูโคส 0.6 โมลาร์กับไลซีน 0.9 โมลาร์และโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.75 โมลาร์ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.4 นำมาต้มกลั่นที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมงจะได้สารมีลักษณะเหนียวๆ มีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.6 นำมาไดอะไลซ์ด้วยหลอดเซลลูโลส (cellulose tubing) ด้วยน้ำไหลผ่านเป็นเวลา 5 วันใช้ในการศึกษาผลทางสรีรวิทยาของเมลานอยดินในหนู

การศึกษาเกี่ยวกับเมลานอยดินที่ไม่เกี่ยวกับการฟอกสีนั้นมีรายงานดังต่อไปนี้คือ

Takeuchi และคณะ(13) ศึกษาผลทางสรีระวิทยาของเมลานอยดินในหนู โดยใช้เมลานอยดินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและสูงมาศึกษาการดูดซึมและการขับถ่ายเมลานอยดินในหนูทดลองสายพันธุ์ Wiatar โดยให้หนูกินเคซีน 10เปอร์เซ็นต์ผสมกับเมลานอยดิน 3 เปอร์เซ็นต์และเคซีน 25 เปอร์เซ็นต์ผสมกับเมลานอยดิน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และเคซีน 25 เปอร์เซ็นต์ผสมกับเมลานอยดิน 3 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเจริญและน้ำหนักอวัยวะของหนูไม่มีความเปลี่ยนแปลงแต่จะพบว่าไตของหนูมีสีดำขึ้น ซึ่งเกิดจากการสะสมเมลานอยดินในไตในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักไตหนูและพบว่าปริมาณเมลานอยดินที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณคอเรสเตอรอลในพลาสมาลดลง แต่จะไปเพิ่มมากขึ้นในอุจจาระแทน

Kato และคณะ(14) ศึกษาการย่อยสลายไนไตรท์และยับยั้งการสร้างสารไนโตรซามีนที่ก่อมะเร็ง (carcinogenic nitrosamine) ด้วยเมลานอยดิน พบว่าเมื่อใช้เมลานอยดินผสมกับสารไนไตรท์ในอัตราส่วน 1:3 ที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 1.2 จะทำให้มีการย่อยสลายสารไนไตรท์สูงสุดได้ 29 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 1.2 จะทำให้มีการยับยั้งการสร้างสารไนโตรซามีนที่ก่อมะเร็งได้สูงสุด 99 เปอร์เซ็นต์

เนื่องจากในประเทศไทยมีโรงงานผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลเป็นจำนวนมากและในแต่ละวันจะมีปริมาณน้ำกากส่าออกมาจากหอกลั่นเป็นปริมาณมาก ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น น้ำกากส่าซึ่งเป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมมาก ไม่สามารถระบายลงสู่แม่น้ำ ลำคลองได้ทันที จึงทำให้มีปริมาณน้ำกากส่ากักอยู่ในบ่อเก็บกักของโรงงานแต่ละโรงงานเป็นปริมาณมาก ในอดีตจึงมีวิธีการกำจัดน้ำกากส่าที่เคยปฏิบัติกันมาก่อนอยู่ 8 วิธีคือ

1.การระเหยและเผา โดยการเคี่ยวน้ำกากส่าในหม้อเคี่ยวสเตนเลสให้เข้มข้นขึ้น 60 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรของแข็ง จากนั้นนำมาผสมกับอากาศแล้วฉีดเข้าไปภายในเตาเผาความดันสูง (incinerator) ที่อุณหภูมิ 1,000 องศาเซลเซียส มีข้อเสียคือวิธีการนี้ยุ่งยากและเสียค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาสูง นอกจากนี้ยังมีเถ้าปลิวฟุ้งในอากาศและมีก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์(SO_2) และก๊าซซัลเฟอร์ออกไซด์(SO_3) ซึ่งเป็นด่างอย่างแรงปะปนออกมาด้วยซึ่งมีกลิ่นเหม็นและเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต มีข้อดีคือมีความร้อนออกมามาก นำไปใช้แทนน้ำมันเตาในระบบหอกลั่น และกากเถ้ามีโปแตสเซียมออกไซด์ 65 เปอร์เซ็นต์ นำไปทำปุ๋ยได้ โดยเฉพาะในนาข้าวหรือพื้นที่เพาะปลูกที่เป็นดินเปรี้ยวเพื่อลดความเป็นกรดของดินลงได้ นอกจากนี้ยังมีธาตุโปแตสเซียมนำไปใช้ในโรงงานผลิตแก้วได้

2.การระเหย โดยการเคี่ยวในกะทะขนาดใหญ่ ใช้น้ำมันเตาเป็นเชื้อเพลิงเคี่ยวให้น้ำกากส่ามีความเข้มข้นขึ้นจากเดิม 20 เท่า มีข้อเสียคือใช้พลังงานมาก ทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูงคือ น้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร ใช้น้ำมันเตา 28 ลิตร คิดเป็นเงิน 126 บาทต่อน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร มีข้อดีคือน้ำกากส่าเข้มข้นที่ได้นำไปใช้เป็นปุ๋ยได้

3.การหมักในถังหมักไร้อากาศ (anaerobic digestion) และระบบการเติมอากาศเลี้ยงตะกอน (activated sludge) โดยการหมักน้ำกากส่าในถังหมักชีวภาพจะทำให้ได้ก๊าซมีเทน (methane gas) มาใช้แทนน้ำมันเตาได้ โดยน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตรจะได้ก๊าซมีเทน 15-20 ลูกบาศก์เมตร และสามารถลดค่า BOD ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปบำบัดต่อด้วยวิธีการเติมอากาศเลี้ยงตะกอนซึ่งต้องใช้ค่าใช้จ่ายประมาณ 100-200 บาทต่อน้ำกากส่า

1 ลูกบาศก์เมตร ข้อเสียคือวิธีนี้ค่อนข้างซับซ้อน ต้องมีผู้เชี่ยวชาญในการควบคุมระบบและน้ำกากส่าที่บำบัดแล้วยังมีค่า BOD สูงกว่ามาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม (ภาคผนวก จ) สีของน้ำกากส่าก็ยังมีสีน้ำตาลเข้มอยู่มีข้อดีคือใช้พื้นที่น้อย

4.การทำปุ๋ยหมัก โดยการนำเอาเศษวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ชานอ้อย ขี้เถ้าแกลบ จุยมะพร้าว มากองรวมกันแล้วฉีดพ่นด้วยน้ำกากส่า ทำการกลับกองวัสดุไปมา และใส่สารเร่งเพื่อให้เกิดการสลายตัวได้เร็วยิ่งขึ้น จะได้ปุ๋ยหมักสีดำเข้ม ข้อเสียคือ เสียค่าใช้จ่ายสูงประมาณ 100 บาทต่อน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร และทำได้เฉพาะฤดูแล้งเท่านั้น ข้อดีคือนำปุ๋ยไปขายได้

5.การทำบ่อเก็บกัก (lagoon) และลานตาก โดยการขุดบ่อเก็บกักน้ำกากส่าในช่วงฤดูฝน พอช่วงฤดูแล้งก็นำมาตากในลานตากรวมกับน้ำกากส่าที่ออกมาใหม่ วิธีการตากคล้ายวิธีการทำนาเกลือ น้ำกากส่าจะระเหยวันละประมาณ 4 มิลลิลิตรต่อวันต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร วิธีนี้จะทำให้ได้ปุ๋ยที่มีคุณภาพดีกว่าปุ๋ยคอก 3-4 เท่า ข้อเสียคือ ใช้พื้นที่มากและใช้เวลานานเป็นปี ข้อดีคือเสียค่าใช้จ่ายน้อย ประมาณ 6 บาทต่อน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร และสามารถขายปุ๋ยได้อีกประมาณ 10-20 บาทต่อน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร

6.การราดถนน โดยการนำน้ำกากส่าไปราดถนนในชนบทซึ่งส่วนมากเป็นถนนลูกรังซึ่งมีฝุ่นมากในฤดูแล้ง เนื่องจากน้ำกากส่ามีลิกนินซึ่งมีความเหนียว เมื่อราดถนนจะทำให้ยึดฝุ่นได้คล้ายยางมะตอยทำให้ถนนไม่มีฝุ่นไปถึง 2 สัปดาห์ ข้อเสียคือทำได้เฉพาะฤดูแล้งเท่านั้นและอาจต้องเสียค่าใช้จ่ายค่ารถนำไปราด ข้อดีคือในกรณีมีผู้ร้องขอให้ไปราดถนนอาจจะได้ค่าตอบแทนบ้าง

7.การนำไปใช้เป็นอาหารปลา โดยการใช้น้ำกากส่าเป็นอาหารทางอ้อมแก่ปลา ซึ่งน้ำกากส่าจะเป็นอาหารแก่สัตว์น้ำขนาดเล็ก เช่น แพลงตอน เพื่อเป็นอาหารแก่ปลาอีกต่อหนึ่ง ข้อเสียคือใช้กำจัดน้ำกากส่าได้น้อยมาก เช่น ในบ่อขนาด 1ไร่ลึก 1 เมตร จะใช้น้ำกากส่าได้เพียง 1 ลูกบาศก์เมตรต่อ 2 สัปดาห์เท่านั้น หากใช้ปริมาณมากกว่านี้จะทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง น้ำเกิดเน่าเหม็นและปลาอาจตายได้ ข้อดีคือช่วยประหยัดค่าอาหารปลาได้บ้าง

8.การใช้ในการเกษตรโดยตรง โดยการปล่อยน้ำกากส่าลงสู่นาข้าว หรือไร่อ้อยโดยตรง เป็นต้น ทำได้ในเฉพาะฤดูแล้งหรือในขณะที่นายังว่างอยู่หลังการเก็บเกี่ยวเท่านั้น ข้อดีคือปล่อยน้ำกากส่าได้ปริมาณมาก (1)

ทั้ง 8 ข้อที่กล่าวมาแล้วนั้น เป็นวิธีการกำจัดน้ำกากส่าที่เคยปฏิบัติกันมาในอดีตมาจนถึงปัจจุบัน แม้แต่ในทุกวันนี้ก็ใช้วิธีการกำจัดน้ำกากส่าบางวิธีที่กล่าวมาแล้ว เช่น ที่โรงงานสุราแสงโสม จังหวัดนครปฐม มีอัตราการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นสุราชนิด 40 ดีกรีปริมาณ 2,000 เทต่อวัน หรือ 40 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน จะมีน้ำกากส่าประมาณ 200 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน ใช้วิธีการกำจัดน้ำกากส่าคือการทำบ่อเก็บกักและลานตาก นำไปราดถนน และที่สำคัญคือการทำปุ๋ยหมักซึ่งผลิตได้เป็นปริมาณมากเพียงพอที่จะออกจำหน่ายได้แล้ว ส่วนที่โรงงานสุราหงษ์ทอง จังหวัดฉะเชิงเทรา จะใช้วิธีการคล้ายกับที่โรงงานสุราแสงโสม แต่เพิ่มวิธีการหมักก๊าซมีเทนอีกขั้น ซึ่งอยู่ในระหว่างการทดลองยังนำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ (7) อย่างไรก็ตามทุกวิธีการ ยังไม่สามารถกำจัดสีของน้ำกากส่าลงไปได้ ทางสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดยสาขาวิจัยสิ่งแวดล้อม ได้ศึกษาหาแนวทางในการกำจัดน้ำกากส่าที่เหมาะสมในประเทศไทยแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือ

1.การเลี้ยงตะกอนในสภาพไร้อากาศ (anaerobic activated sludge) น้ำกากส่าที่ผ่านขั้นตอนนี้แล้วจะทำให้ค่า BOD และ COD ลดลงเฉลี่ยประมาณ 80 และ 70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีก๊าซมีเทนเกิดขึ้นด้วย

2.การเลี้ยงตะกอนในสภาพให้อากาศ (aerobic activated sluge) เป็นการกำจัดน้ำกากส่าต่อจากวิธีที่ 1 โดยทำการเจือจางน้ำกากส่าจากขั้นที่ 1 อย่างน้อย 2 เท่า วิธีนี้จะลดค่า BOD และ COD ลงได้อีก 85 เปอร์เซ็นต์และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3.การตกตะกอนสีน้ำกากส่าด้วยสารเคมี (chemical coaggulation) โดยใช้สารเคมีชนิดต่างๆ เช่น สารส้ม ปูนขาว และเฟอร์ริคคลอไรด์ ($FeCl_3$) จากการศึกษาพบว่าสารเคมีที่เหมาะสมที่สุดคือ สารส้ม รองลงมาคือเฟอร์ริคคลอไรด์และปูนขาว โดยปริมาณสารส้มที่เหมาะสมในการตกตะกอนสีน้ำกากส่าคือ สารส้ม 5 กิโลกรัมต่อน้ำกากส่าที่ผ่านขั้นตอนที่ 2 แล้ว 1 ลูกบาศก์เมตรหรือ 35

กิโลกรัมต่อน้ำกากส่าสด 1 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งเสียค่าใช้จ่าย 197 บาทต่อน้ำกากส่าสด 1 ลูกบาศก์เมตร (15)

นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาการฟอกสีเมลานอยดินด้วยสารเคมีคือ

Hayase และคณะ (11) ได้ทำการศึกษาพบว่าเมื่อใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสฟอกสีเมลานอยดินในสภาวะที่เหมาะสม จะฟอกสีเมลานอยดินได้ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้นทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ขึ้นและย่อยสลายเมลานอยดิน จากเหตุผลนี้เขาจึงใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาทำการทดลองแทนเอนไซม์ดังกล่าว โดยการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาฟอกสีเมลานอยดิน พบว่าเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 6.72 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเป็นกรดด่าง 2 ระดับคือเป็นกลาง 7.0 และเป็นด่าง 10.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 ชั่วโมง เมลานอยดินจะถูกย่อยสลายลง 64 และ 97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมลานอยดินที่ถูกย่อยสลายลงนี้เป็นเมลานอยดินที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 5,300 - 3,500

การกำจัดสีของเมลานอยดินด้วยวิธีการทางเคมียังมีอีกหลายรูปแบบ ซึ่งใช้ค่าใช้จ่ายสูง เช่น การดูดซับด้วยแอคทิเวทคาร์บอนหรือการตกตะกอนด้วยสารเคมีบางอย่าง เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต, เฟอร์ริคซัลเฟต, สารส้ม, ปูนขาวและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แต่เนื่องจากต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงมาก เช่น การตกตะกอนด้วยสารส้มต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงถึง 197 บาทต่อน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก็เป็นสารเคมีที่มีราคาแพงมาก (11,15) นอกจากนี้ผลการทดลองก็ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ไม่ว่าจะเป็นวิธีการลดค่า BOD หรือ COD หรือวิธีการฟอกสีของน้ำกากส่าด้วยวิธีการทางเคมี จึงมีการหันมาสนใจวิธีการทางชีวภาพบ้าง โดยการพยายามคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้ ดังรายงานวิจัยต่อไปนี้คือ

จากรายงานการวิจัยของ Ueda (16) พบว่ามีจุลินทรีย์ได้แก่ เห็ด , รา และ แบคทีเรียบางชนิดสามารถฟอกสีของน้ำกากส่าได้ เช่น เห็ด Coriolus versicolor และ Fumitopsis cytosina สามารถฟอกสีของน้ำกากส่าได้

ส่วนแบคทีเรียที่พบว่ามีความสามารถฟอกสีของน้ำกากส่าได้ จะมีความสามารถในการย่อยวุ้นได้ด้วย จากรายงานดังกล่าวจึงทำให้เกิดความสนใจที่จะหาวิธีการทางชีวภาพเพื่อฟอกสีน้ำกากส่ามากขึ้น

Watanaba และคณะ (10) ได้ศึกษาพบว่า เห็ด Coriolus sp.No.20 สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 1.5 กรัม โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต(KH_2PO_4) 10 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.5 กรัม ในสารละลายสีเมลานอยดินที่สังเคราะขึ้นเองด้วยวิธีการอ้างต้นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ความเป็นกรดด่าง 6.4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ การฟอกสีนี้พบว่าเกิดจากเอนไซม์ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) ซึ่งสามารถสกัดได้จากสายใยของเห็ดที่กำลังเจริญ เอนไซม์นี้มีชื่อว่าซอร์โบสออกซิเดส (sorbose oxidase) ปฏิกิริยาของเอนไซม์นี้จะไปออกซิไดซ์กลูโคสให้ได้แอคทีฟออกซิเจน (active oxygen) และแอคทีฟออกซิเจนนี้จะไปฟอกสีเมลานอยดิน

Aoshima และคณะ (17) ได้ศึกษาความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า [Molasses pigment (melanoidin) decolorizing activity] หรือ MDA พบว่ามีในพวกราที่มีสายใยสีขาว (white-rot fungi) โดยเฉพาะในเห็ด Coriolus versicolor Ps4a ซึ่งสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ เปปโตน (peptone) 0.5 เปอร์เซ็นต์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายสีน้ำกากส่าจากโรงงานผลิตยีสต์ทำจากมัน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน MDA นี้เกิดจากเอนไซม์ภายในเซลล์ ซึ่งถูกชักนำโดยสีในน้ำกากส่า (molasses pigment) เอนไซม์นี้มี 2 ชนิดคือ เอนไซม์ที่ขึ้นอยู่กับน้ำตาล (sugar dependent enzyme) และเอนไซม์ที่ไม่ขึ้นอยู่กับน้ำตาล (sugar independent enzyme) การฟอกสีของเอนไซม์ดังกล่าวเป็นการย่อยสลายสีของน้ำกากส่านั่นเอง

Ohmomo และคณะ(12)ได้สกัดเอนไซม์จากเห็ด Coriolus versicolor Ps4a มาทำให้บริสุทธิ์และศึกษาคุณสมบัติบางประการของเอนไซม์นี้ โดยการสกัดเอนไซม์จากสายใยของเห็ดที่กำลังเจริญนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟฟี (column chromatography) แบบ DEAE-Sephadex, DEAE-Sephacel และ Sephadex G-200 จะได้เอนไซม์ฟอกสีเมลานอยดิน (Melanoidin decolorizing enzyme) หรือ MDE ซึ่งจะประกอบไปด้วยเอนไซม์ 2 ส่วนคือ P-fraction ซึ่งเป็นเอนไซม์ส่วนใหญ่และ E-fraction ซึ่งเป็นเอนไซม์ส่วนน้อย P-fraction นั้นจะมีเอนไซม์ย่อยๆอีก 5 ชนิดส่วนที่สำคัญมี 2 ชนิดคือ P-III และ P-IV P-III นั้นมีน้ำหนักโมเลกุล 48,000-50,000 ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมคือ 5.5 และอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-35 องศาเซลเซียส ต้องการกลูโคสและออกซิเจนในการเกิดปฏิกิริยา ถูกยับยั้งได้โดย *p*-CMB (*p*-Chloromercuribenzoic acid),*N*-BSI (*N*-Bromosuccinylmide), Ag^{+} และ o-phenanthroline ส่วน P-IV นั้นมีน้ำหนักโมเลกุล 43,800-45,000 ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมคือ 4.0-4.5 และอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-35 องศาเซลเซียส เกิดปฏิกิริยาการฟอกสีโดยไม่ต้องการกลูโคสและออกซิเจน ถูกยับยั้งได้โดย p-CMB , N-BSI และ Ag^{+} P-IV นั้นจะฟอกสีน้ำกากส่าโดยตรง แต่ P-III ฟอกสีน้ำกากส่าโดยอ้อมโดยเป็นปฏิกิริยาย่อยของเอนไซม์ ชูการ์ออกซิเดส (sugar oxidase)

Ohmomo และคณะ (18) ได้ศึกษาการฟอกสีน้ำกากส่าอย่างต่อเนื่อง (continuous decolorization of molasses waste water) โดยเห็ด Coriolus versicolor Ps4a โดยใช้น้ำกากส่าจากโรงงานผลิตยีสต์ทำขนมปังที่ผ่านการบำบัด โดยการนำไปผ่านการหมักก๊าซมีเทนและการให้อากาศเลี้ยงตะกอนแล้ว การทดลองใช้สายใยที่เป็นเพลเล็ทในขวดเขย่า เติมกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ เปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้อากาศในรูปออกซิเจนที่ละลายได้ปริมาณ 1 ppm เมื่อทำการฟอกสีต่อเนื่องในถังหมักแบบพ่นฟองอากาศ(bubbling column reactor) จะฟอกสีได้ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 20 ชั่วโมง และเมื่อทำการฟอกสีเป็นเวลานานด้วยการตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจีเนตเจล

(Ca-alginate gel) พบว่าสามารถฟอกสีได้ 65.7 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 16 วัน

สำหรับการศึกษาการฟอกสีน้ำกากส่าด้วยจุลินทรีย์ในประเทศไทยมีรายงานดังต่อไปนี้คือ

Ohmomo และคณะ(19)ได้คัดเลือกราที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าในประเทศไทย พบว่ารา Aspergillus fumigatus สายพันธุ์ G-2-6 สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ 75 เปอร์เซนต์ในเวลา 3 วัน เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ glycerol-peptone ซึ่งประกอบด้วยกลีเซอรอล 5 เปอร์เซ็นต์ เปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายสีน้ำกากส่าหรือเมลานอยดินที่ได้จากโรงงานผลิตเอทานอล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ด้วยวิธีการเขย่าและในการนำสายใยกลับมาใช้อีก พบว่าสายใยของราดังกล่าวสามารถฟอกสีได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ โดยการเติมกลีเซอรอล 4 เปอร์เซ็นต์ลงไปอีก การฟอกสีแบบต่อเนื่องในถังหมักขนาดเล็ก(jar fermentor) พบว่าสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ 70 เปอร์เซ็นต์ และในขณะเดียวกันยังสามารถลดค่า COD ลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และลดสารประกอบออร์กานิคคาร์บอนลงได้ 56 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการฟอกสีแบบต่อเนื่องของสารละลายสีน้ำกากส่าที่ไม่ได้ผ่านการไดอะไลซ์นั้น พบว่าสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ 40 เปอร์เซ็นต์ และสามารถลดค่า COD สารประกอบออร์กานิคคาร์บอนลงได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

Ohmomo และคณะ (20) ได้ศึกษาราอีกสายพันธุ์หนึ่งซึ่งแยกได้ในเวลาเดียวกันกับราข้างต้นคือ รา Aspergillus oryzae Y-2-32 ซึ่งสามารถดูดซับสีน้ำกากส่าด้วยเส้นใยได้ 75 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 7 วัน เมื่อเลี้ยงราสายพันธุ์นี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกันกับการทดลองข้างต้นแต่เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดเลี้ยงเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วันจากนั้นนำสายใยของรามานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที นำสายใยที่ได้มาดูดซับสารละลายสีน้ำกากส่า พบว่าสายใยราสามารถดูดซับเมลานอยดิน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ ได้ดี

การดูดซับเมลานอยดินนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่ใช้เลี้ยงเชื้อในครั้งแรก เช่น ถ้าใช้ กลูโคส กลีเซอรอลและแมนนิทอลเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน และใช้เปปโตนเป็นแหล่งอาหารไนโตรเจน จะทำให้สายใยราสามารถดูดซับสารเมลานอยดินได้ 40.3, 66.8 และ 73.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การดูดซับเมลานอยดินนี้จะถูกยับยั้งด้วยสารเคมี เช่น ถ้าล้างสายใยด้วย Tween 80 ปริมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ การดูดซับจะลดลงครึ่งหนึ่ง และถ้าล้างสายใยด้วย sodiumdo decyl sulfate ปริมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ สายใยจะหมดความสามารถในการดูดซับเมลานอยดิน

สันทัดและคณะ (21) ได้คัดเลือกราที่มีความสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ในประเทศไทยจากราทั้งหมด 228 สายพันธุ์พบว่ามีรา 9 สายพันธุ์ที่มีความสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งราแต่ละสายพันธุ์มีความต้องการสารอาหารและสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ เพื่อการฟอกสีน้ำกากส่าได้มากที่สุดแตกต่างกัน เช่น ความเข้มข้นของกลูโคส ความเป็นกรดด่าง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจน เป็นต้น ในการทดลองนี้พบราสายพันธุ์ D-90 มีความสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ประมาณ 93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงราสายพันธุ์นี้ในสารละลายสีน้ำกากส่าหรือเมลานอยดินที่ได้จากโรงงานผลิตเอทานอลที่ผสมด้วย กลูโคส 2.5 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 0.2 เปอร์เซ็นต์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 วัน ราสายพันธุ์ D-90 นี้เมื่อนำมาศึกษาพบว่าเป็นราใน Order Mycelia sterilia เนื่องจากมีสายใยสีขาวมีผนังกั้นในแต่ละเซลล์ ไม่พบการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น (clamp connection) และไม่สร้างสปอร์

สันทัดและคณะ (22) ได้นำราสายพันธุ์ D-90 มาทำการศึกษาการฟอกสีน้ำกากส่าต่อ โดยใช้น้ำกากส่าจากโรงงานผลิตเอทานอลที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบการให้อากาศและไร้อากาศ ตามลำดับ แล้วนำมาวิเคราะห์ทางเคมี โดยหา BOD และ COD จากการทดลองพบว่าราสายพันธุ์ D-90 สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 10 วันและลดค่า BOD ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อ

เลี้ยงรา D-90 ในสารละลายสีน้ำกากส่าหรือเมลานอยดินที่ได้จากโรงงานผลิตเอทานอลที่ผสมด้วยกลูโคส 2.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไนเตรท 0.2 เปอร์เซ็นต์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปผ่านการตกตะกอน นำไประเหยและไดอะไลซ์นำมาปรับความเข้มข้นของสีด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร วัดได้ค่าเท่ากับ 3.5 ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.0 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน เมื่อทดลองใช้น้ำกากส่าที่ไม่ได้ใส่สารอาหารลงไปพบว่าระ D-90 สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้เพียง 17.5 เปอร์เซ็นต์และในสภาวะที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อจะสามารถฟอกสีได้ 70 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 11 วันและลดค่า BOD ได้ 90 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 15 วัน เมื่อทำการฟอกสีเมลานอยดินในระบบกึ่งต่อเนื่อง (fed batch) พบว่าสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 10 วันและลดค่า BOD ได้ 70 เปอร์เซ็นต์

Ohmomoและคณะ (23) ได้คัดเลือกจุลินทรีย์พวกกึ่งไม่ใช้อากาศ (facultative anaerobe) ที่มีความสามารถฟอกสีน้ำกากส่า (melanoidin-decolorizing activity) หรือ MDA โดยคัดเลือกมาจากบ่อเก็บน้ำกากส่าในโรงงานผลิตเอทานอล พบว่ามีแบคทีเรียบางสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้ โดยเฉพาะ Lactobacillus hilgardii สายพันธุ์ W-NS มีความสามารถฟอกสีน้ำกากส่ามากที่สุด ในสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ 28 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย กลูโคส 1.0 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 0.2 เปอร์เซ็นต์ เปปโตน 0.3 เปอร์เซ็นต์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายสีน้ำกากส่าหรือเมลานอยดินที่ได้จากโรงงานผลิตเอทานอล เตรียมสารละลายสีน้ำกากส่าด้วยวิธีการเดียวกันกับวิธีการข้างต้น ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.3 ด้วย โซเดียมคาร์บอเนต เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน เมื่อทำการปรับปรุงการฟอกสีน้ำกากส่าด้วยวิธีการตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจิเนตเจลแล้ว พบว่าสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้เพิ่มมากขึ้นเป็น 40 เปอร์เซ็นต์

018354

Ohmomoและคณะ (24) ได้ศึกษาการฟอกสีน้ำกากส่าแบบระบบต่อเนื่องด้วยแบคทีเรีย Lactobacillus hilgardii สายพันธุ์ W-NS ที่ตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจีเนตเจลแล้ว ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ 90 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 1 เดือน ในระหว่างนี้ต้องเติม เปปโตน 0.05 เปอร์เซ็นต์ลงในน้ำกากส่านั้นด้วย และเมื่อทำการทดลองในถังหมักแบบคอลัมน์(column type reactor) จะไม่สามารถบำรุงรักษาเชื้อได้และการฟอกสีน้ำกากส่าจะลดลงครึ่งหนึ่งในเวลา 5 วัน เมื่อความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.3 การฟอกสีก็จะลดลงอีก

จากรายงานดังกล่าวจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้นั้นมุ่งเน้นที่จะใช้ในการฟอกสีน้ำกากส่าเพียงอย่างเดียวแต่ไม่ได้ให้ผลิตผลอย่างอื่นออกมา ซึ่งความจริงแล้ว มีรายงานว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถสร้างผลิตผลบางอย่างออกมาได้ เช่น เอนไซม์ กรดอะมิโนและโพลีแซคคาไรด์(polysaccharide) เป็นต้น โดยเฉพาะโพลีแซคคาไรด์นั้น ในปัจจุบันนี้จัดเป็นสารที่มีประโยชน์อย่างมากในทางอุตสาหกรรม โดยมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร, เครื่องสำอางค์, ยา, สารเคมี, สิ่งทอ, กระดาษ, กาว, สี, ผงซักฟอก และสารหล่อลื่นในอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นต้น (25,26,27)

โพลีแซคคาไรด์เป็นสารคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์หลายๆโมเลกุลมาจับกันด้วยพันธะไกลโคซิดิค(glycosidic linkage)เป็นโพลีเมอร์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โพลีแซคคาไรด์ แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

1.โฮโมโพลีแซคคาไรด์ (homopolysaccharide) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียว ได้แก่ เดกซ์แทรน พูลลูแลน จะประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ชนิดเดียว คือ กลูโคส เป็นต้น

2.เฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ (heteropolysaccharide) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ได้แก่ แซนแทน จะประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ 2 ชนิด คือ กลูโคส และแมนโนส เป็นต้น (25)

โพลีแซคคาไรด์ พบได้โดยทั่วไปในธรรมชาติทั้งจาก พืช สัตว์และ จุลินทรีย์

โดยเฉพาะจุลินทรีย์เป็นแหล่งที่พบโพลีแซคคาไรด์มากที่สุดและเป็นแหล่งผลิต โพลีแซคคาไรด์ที่มนุษย์นำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อเป็นการค้าแล้ว จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ ได้แก่ แบคทีเรียกรัมบวกและกรัมลบ สาหร่ายบางชนิด และราบางชนิด เป็นต้น (28,29,30)

โพลีแซคคาไรด์จากจุลินทรีย์นี้ยังแบ่งตามการสร้างและหน้าที่ได้เป็น 3 ชนิดคือ

1.โพลีแซคคาไรด์ภายในเซลล์ (intracellular polysaccharide) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่สร้างขึ้นภายในเซลล์ เป็นบางส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมอาหารและพลังงานของเซลล์

2. โพลีแซคคาไรด์โครงสร้าง (structural polysaccharide) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่สร้างขึ้นเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ เป็นบางส่วนของผนังเซลล์ ทำหน้าที่เป็นแหล่งสร้างความแข็งแรงให้กับเซลล์

3.โพลีแซคคาไรด์ภายนอกเซลล์ (extracellular polysaccharide) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่สร้างขึ้นเป็นโครงสร้างที่ห่อหุ้มเซลล์ เช่น แคปซูล ทำหน้าที่ห่อหุ้มเซลล์ บางครั้งสร้างแล้วปล่อยออกมาละลายอยู่ในสิ่งแวดล้อม หรืออาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น (26)

ตัวอย่างโพลีแซคคาไรด์ที่พบจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่

แซนแทรน กัม (xantran gum) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จาก แบคทีเรีย Xanthomonas campestris (31) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีความสำคัญในทางการค้ามาก เช่น ในปี ค.ศ.1980 มีการผลิตแซนแทรน กัม ถึง 8,000 ตัน มีประโยชน์ในการเป็นสารหล่อลื่นในอุตสาหกรรม การขุดเจาะน้ำมันในประเทศสหรัฐอเมริกา (32,33)

เดกซ์แทรน (dextran) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จาก แบคทีเรียพวก Leuconostoc sp. , Leuconostoc mesenteroides , Leuconostoc dextranicum (34) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตเป็นการค้าตัวแรกมีประโยชน์ในทางการแพทย์, เภสัชกรรมและสารเคมีเช่น sephadex เป็นต้น (35)

อัลจีเนต (alginate) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากสาหร่ายทะเล Macrocyctis pyrifera (29) มีประโยชน์ในการวิจัยโดยใช้เป็นตัวตริง

เซลล์ของจุลินทรีย์, พืช และสัตว์ในการทดลอง (36)

พูลลูแลน (pullulan) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากยีสต์ Aureobasidium pullulan มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมผลิตฟิลม์ และเส้นใยเป็นต้น (37)

สเครอโรกลูแคน (scleroglucan) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากราที่ก่อให้เกิดโรคพืชได้แก่ราSclerotium rolfsiiและ Sclerotium glucanicum (38) มีประโยชน์ในการเป็นสารเคลือบ, ทำเจล, ตัวหล่อลื่นในการเจาะบ่อน้ำมัน และทางการแพทย์เป็นต้น (27)

เดริ์กแลน (curdlan) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากแบคทีเรีย Agrobacterium spp., และ Algaligenes faecalis ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร (39)

นอกจากนี้ยังมีโพลีแซคคาไรด์ที่ยังไม่ทราบชื่อแต่มีการศึกษาวิจัยกันแล้วและบางชนิดพบว่ามีประโยชน์ในทางการแพทย์และอุตสาหกรรมใหม่ ได้แก่

Ueda และคณะ(40) พบว่าแบคทีเรีย Aeromonas hydrophila NO. 626 ที่แยกได้จากดิน สามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์นอกเซลล์ได้ และพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อด้วยแหล่งอาหารคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่ความเป็นกรดด่าง 7-9 จะทำให้แบคทีเรียสร้างโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุด และโพลีแซคคาไรด์ที่ได้นั้นพบว่าประกอบไปด้วย กาแลคโตส แมนโนส และกรดกลูโคโรนิค (glucoronic acid) ในอัตราส่วน 5:4:2 ซึ่งกรดกลูโคโรนิคเป็นสารที่มีราคาแพงและใช้มากในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มชูกำลังในปัจจุบันนี้

กรรณิกา และคณะ (41) พบว่าแบคทีเรีย Bacillus polymyxa ที่แยกได้จากเศษไม้สามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์นอกเซลล์ได้ และศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี แลคโตส 7 เปอร์เซ็นต์และยีสต์สกัด 0.3 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันจะทำให้แบคทีเรียสร้างโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุด และโพลีแซคคาไรด์ที่ได้นั้นพบว่าประกอบไปด้วย กาแลคโตส กลูโคส และกรดกลูโคโรนิคในอัตราส่วน 4:9:1

Ukai และคณะ (42) พบว่าโพลีแซคคาไรด์ที่พบในราบางสายพันธุ์เป็นสารช่วยลดการอักเสบได้ ราสายพันธุ์ดังกล่าว ได้แก่ Tremella fuciformis, Auricularia auricula , Dictopphora indusiata ,Ganoderma japonicum เป็นต้น

Heidelberger และคณะ (43) พบว่าโพลีแซคคาไรด์จำพวกไกลแคนที่พบในจุลินทรีย์พวกรา, ราเมือกและยีสต์ บางสายพันธุ์สามารถเป็นตัวยับยั้งเชื้อโรคปอดบวมได้ เช่น เมือกหรือโพลีแซคคาไรด์ของรา Physarum polycephalum จะมีปฏิกิริยาที่ทำให้แอนตีซีรัมของเชื้อ Klebsiella pneumonae type 4 และ K1 ตกตะกอน

จากรายงานข้างต้นจะพบว่า จุลินทรีย์ที่สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ส่วนใหญ่จะเป็นรา เนื่องจากมีราบางชนิดเท่านั้นที่สามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์ได้จากสารละลายจำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลกลูโคส, น้ำตาลซูโครส เป็นต้น โดยมีรายงานว่า รา Sclerotium rolfsii , Sclerotium delphinii และ Sclerotium glucanicum สามารถสร้างสารโพลีแซคคาไรด์จากน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครสและแป้งในระหว่างการเจริญได้ (33, 44) นอกจากนั้นจะเป็นพวกแบคทีเรียและสาหร่ายเป็นส่วนใหญ่ที่สามารถสร้างสารโพลีแซคคาไรด์ได้จากสารละลายจำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลกลูโคส, น้ำตาลซูโครส, น้ำตาลแลคโตส และแป้ง เป็นต้น สารโพลีแซคคาไรด์เป็นสารที่มีประโยชน์มาก ปัจจุบันนำมาใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และอุตสาหกรรมต่างๆทั่วไป (33) ถ้าสามารถคัดเลือกราที่มีความสามารถทั้งในการฟอกสีน้ำกากส่า และผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ด้วยซึ่งเป็นประโยชน์สองต่อแล้ว คาดว่าจะมีประโยชน์อย่างมากในวงการอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

เนื่องจากยังไม่มีรายงานการค้นพบราที่มีความสามารถทั้งฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ได้ในเวลาเดียวกัน ในการวิจัยนี้จึงมุ่งหมายที่จะคัดเลือกราที่มีความสามารถฟอกสีน้ำกากส่าและสร้างสารโพลีแซคคาไรด์ได้ในเวลาเดียวกัน และศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ เพื่อเป็นแนวทางในการที่จะนำไปกำจัดน้ำกากส่าของโรงงานสุราต่อ

ไปและได้ประโยชน์จากสารโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) คัดเลือกสายพันธุ์ราที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า (Distillery Slop) และผลิตสารโพลีแซคคาไรด์

2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตสารโพลีแซคคาไรด์โดยราที่คัดเลือกได้

3) ศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย