# ผลของเวลาการให้อากาศต่อการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล โดยเชื้อ *Sacharomyces cerevisiae*

# Effect of Aeration Time on Ethanol Production from Molasses by *Sacharomyces cerevisiae*

**ประยุทธ เสาทอง[1,2] กล้าณรงค์ ศรีรอต[1,2] บุญทิวา นิลจันทร์[1] และวิรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตนา[1*]**
Prayooth Saothong[1,2], Klanarong Sriroth[1,2], Boontiwa Ninchan[1] and Wirat Vanichsriratana[1*]

## บทคัดย่อ

อากาศถือเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อเชื้อยีสต์และประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล ดังนั้นงานวิจัยจึงนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการให้อากาศต่อการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลที่สอดคล้องกับการใช้เชื้อยีสต์ *Sacharomyces cerevisiae* ภายใต้สภาวะการให้อากาศที่ระดับ 0.10 vvm (อัตราปริมาตรอากาศต่อปริมาตรต่อนาที) ในช่วงเริ่มต้นของการหมักเอทานอลเป็นเวลา 6, 12 และ 18 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่า อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อยีสต์ อัตราการใช้สารตั้งต้น และปริมาณเอทานอลที่ได้ในระหว่างการหมักเอทานอลสูงกว่าการทดลองชุดควบคุม (ไม่มีการให้อากาศ) โดยเฉพาะปริมาณการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตรที่ได้สูงสุดพบในสภาวะการให้อากาศ 12 ชั่วโมง (เอทานอลเชิงปริมาตรที่ได้ 1.73 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) และ 18 ชั่วโมง (เอทานอลเชิงปริมาตรที่ได้ 1.70 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) รองลงมาคือ การให้อากาศ 6 ชั่วโมง (เอทานอลเชิงปริมาตรที่ได้ 1.58 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) ซึ่งผลสอดคล้องกับอัตราการเจริญจำเพาะและการใช้สารตั้งต้น และพบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้ต่ำที่สุดพบในสภาวะการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ ปริมาณเอทานอลเชิงปริมาตรอยู่ที่ 1.48 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งการวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การให้อากาศในระยะเริ่มต้นเป็นเวลา 12 ชั่วโมงของการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลมีผลทำให้เชื้อยีสต์สามารถเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ ใช้สารตั้งต้นได้อย่างรวดเร็ว และปริมาณเอทานอลที่ได้เพิ่มสูงขึ้น

**คำสำคัญ**: กากน้ำตาล การให้อากาศ การหมักเอทานอล *Sacharomyces cerevisiae*

## Abstract

Aeration is one of the significant factors affecting yeast physiology and efficiency of ethanol production. In this study, we investigated the effects of aeration time on ethanol fermentation from molasses by *Sacharomyces cerevisiae*. When aeration was conducted at 0.10 vvm (volume per volume per minute) at 6, 12 and 18 h, the specific growth rate, substrate consumption rate, and ethanol concentration and productivity were higher than in the case of the control. Specifically, higher ethanol productivity was achieved during fermentation when aeration was prolonged to 12 h (1.73 g/l/h) and 18 h (1.70 g/l/h), compared with that at 6 h (1.58 g/l/h), results which were in agreement with those obtained for specific growth rate and substrate consumption rate values. Conversely, the lowest ethanol productivity, 1.48 g/l/h, was obtained when the fermentation was not aerated. These findings indicated that the initial aeration at 12 h during ethanol fermentation greatly improved the yeast cell growth, substrate consumption, and ethanol concentration and productivity.

**Keywords**: molasses, aeration, ethanol fermentation, *Sacharomyces cerevisiae*

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[1] Department of Biotechnology, Faculty of Agro-industry, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900
[2] บริษัท มิตรผลวิจัยพัฒนา อ้อยและน้ำตาล จำกัด อ. ภูเขียว จ. ชัยภูมิ 36110
[2] Mitr Phol Innovation and Research Center Co., Ltd., Phu Khiao, Chaiyaphum 36110
*Corresponding author, Email: wirat.v@ku.ac.th

## คำนำ

การหมักเอทานอลโดยใช้วิธีทางชีวเคมีเป็นกระบวนการที่อาศัยเชื้อ *S. cerevisiae* ในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล 2 โมเลกุล และคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเชื้อยีสต์จะกระทำภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย และมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเชื้อยีสต์ การหมักเอทานอลโดยทั่วไปจะใช้ระยะเวลาในการหมัก 48 ถึง 72 ชั่วโมง ซึ่งจะได้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 8 ถึง 12 กรัมต่อลิตร (ยุทธศักดิ์ คณาสวัสดิ์, 2549)

วัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้สำหรับการผลิตเอทานอลส่วนใหญ่จะมีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ อ้อย (sugarcane) กากน้ำตาล (molasses) หัวผักกาดหวาน (sugar beet) ข้าวฟ่างหวาน (sweet sorghum) แต่เนื่องจากเชื้อยีสต์ไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสในการหมักเอทานอลได้ ดังนั้นจึงต้องอาศัยปฏิกิริยาในการสลาย (hydrolysis) ด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) ซึ่งเชื้อยีสต์จะผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทสออกมาย่อยน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่จะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรุกโทส (Kumar et al., 2010) ซึ่งในสภาวะที่มีอากาศเชื้อยีสต์จะใช้น้ำตาลกลูโคสในกระบวนการหายใจเพื่อการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ ได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และพลังงานในรูปของ ATP (adenosine triphosphate) ซึ่งออกซิเจน ถือเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญสำหรับการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเชื้อยีสต์ต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ และสังเคราะห์เออร์โกสเตอรอล (ergosterol) รวมทั้งสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นสำหรับความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (Shang et al., 2006) ซึ่งในสภาวะการหมักเอทานอลที่มีการให้อากาศตลอดระยะเวลาการหมักเอทานอลจะส่งผลทำให้ชีวมวลหรือปริมาณเซลล์ยีสต์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ในขณะที่การผลิตเอทานอลจะลดลง ซึ่งเป็นเพราะออกซิเจนส่งเสริมให้เกิด Pasteur effect นอกจากนั้นยังช่วยลดการเกิดผลพลอยได้ (by-product) อื่น ๆ ซึ่งผลพลอยได้หลักที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอล คือ กลีเซอรอล แต่อย่างไรก็ตาม การควบคุมการไม่ให้อากาศตลอดระยะเวลาของการหมักต่อการผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่า เชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญหรือเพิ่มจำนวนเซลล์เล็กน้อย และผลได้ของเอทานอลต่อ 1 กรัมสับเตรต (subtrates) น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแบบให้อากาศเมื่อสิ้นสุดการหมัก (Alfenore et al., 2004) Deesuth et al. (2016) ทำการศึกษาการให้อากาศในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลจากน้ำข้าวฟ่างหวาน (sweet sorghum juice) ภายใต้สภาวะที่มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นสูง (very high gravity) โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่า การให้อากาศด้วยอัตรา 0.31 vvm ระยะเวลา 12 ชั่วโมงได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด สกานต์ เหลืองเกรียงไกร และคณะ (2556) ได้ศึกษาผลของการให้อากาศระหว่างการหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังแบบเส้นบด พบว่า การให้อากาศในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยอัตรา 1.0 vvm ระยะเวลา 12 ชั่วโมง สามารถลดระยะเวลาของการหมักเอทานอลได้ถึง 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแบบปกติ (การหมักแบบไม่มีการให้อากาศ) และปริมาณเอทานอลที่ได้ใกล้เคียงกันเมื่อสิ้นสุดการหมัก นอกจากนี้ พจมาลย์ พิมพขันธ์ (2555) ได้ทำการศึกษาผลของอัตราการเติมอากาศในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำอ้อยเข้มข้นโดยเชื้อยีสต์ทนร้อน *Kluyveromyces marxianus* พบว่า อัตราการให้อากาศระหว่างการหมักเอทานอลที่อัตรา 0.00 vvm ได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการให้อากาศที่อัตรา 0.20 vvm และเชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญสูงกว่าระบบที่ไม่มีการให้อากาศ ซึ่งปัจจุบันโรงงานผลิตเอทานอลในประเทศไทยที่ผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลจำนวน 11 โรงงาน มีกำลังการผลิตอยู่ที่ 2.78 ล้านลิตรต่อวัน ผลิตจากน้ำอ้อยจำนวน 1 โรงงาน มีกำลังการผลิตอยู่ที่ 0.23 ล้านลิตรต่อวัน ผลิตจากมันสำปะหลังและกากน้ำตาลจำนวน 6 โรงงานมีกำลังการผลิตอยู่ที่ 0.92 ล้านลิตรต่อวัน และผลิตจากมันสำปะหลังจำนวน 9 โรงงาน มีกำลังการผลิตอยู่ที่ 2.19 ล้านลิตรต่อวัน (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2564) ซึ่งโรงงานเอทานอลส่วนมากจะใช้กากน้ำตาล (molasses) และมันสำปะหลัง (cassava) เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเอทานอล (Nguyen et al., 2008; Papong et al., 2010) และจากการตั้งเป้าหมายในการผลิตเอทานอลที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณความต้องการวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลมีเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากโรงงานเอทานอลที่ใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตนั้นมักเกิดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบ เนื่องจากมันสำปะหลังจัดว่าเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่สามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหรือผลิตภัณฑ์อื่น ๆ รวมถึงความไม่แน่นอนทางด้านต้นทุนวัตถุดิบ จึงทำให้ไม่สามารถที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเอทานอลได้ (นรินทร์ ตันไพบูลย์, 2560) ดังนั้นการพัฒนาอุตสาหกรรมเอทานอลจึงมุ่งเน้นการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบหลัก ซึ่งกากน้ำตาลถือเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล ซึ่งเป็นส่วนของน้ำตาลที่เหลือที่ไม่สามารถตกผลึกเป็นน้ำตาลทรายได้อีก โดยพบว่าอุตสาหกรรมเอทานอลที่ใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเอทานอลมีกำลังการผลิตสูงถึงร้อยละ 66 ของกำลังการผลิตเอทานอลจากอุตสาหกรรมเอทานอลทั้งหมดในประเทศ และยังพบว่าระบบการผลิตเอทานอลส่วนใหญ่เป็นระบบต่อเนื่อง และเป็นการหมักภายใต้สภาวะไม่มีการให้อากาศในระหว่างการหมักเอทานอล (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2564) ซึ่งประสิทธิภาพของการผลิต

เอทานอลยังไม่ได้ตามความต้องการอันเนื่องมาจากหลายปัจจัย ซึ่งปัจจัยที่สำคัญได้แก่ คุณภาพของกากน้ำตาล และเชื้อยีสต์ ซึ่งจากงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นพบว่า เชื้อยีสต์ต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ และยังพบว่าการให้อากาศในระยะเวลาที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการหมักเอทานอล อีกทั้งยังพบว่าการหมักเอทานอลจากสารตั้งต้นหรือวัตถุดิบที่แตกต่างกัน และสายพันธุ์เชื้อยีสต์ที่ต่างกัน สภาวะการให้อากาศที่เหมาะสมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการหมักเอทานอลได้ แต่เนื่องจากงานวิจัยดังกล่าวใช้วัตถุดิบที่ไม่ใช่กากน้ำตาลในการหมักเอทานอล ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของระยะเวลาการให้อากาศต่อการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลที่สอดคล้องกับการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในการหมักเอทานอล

## วิธีการศึกษา

**การเตรียมอาหารหมัก**

การศึกษาในครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์กากน้ำตาลจาก บริษัท น้ำตาลสระบุรี จำกัด โดยนำกากน้ำตาลมาเตรียมเป็นอาหารสำหรับการหมักเอทานอลในถังหมักระดับห้องปฏิบัติการขนาด 5 ลิตร โดยทำการเจือจางกากน้ำตาลด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นเติมยูเรีย 2.25 กรัมต่อลิตร และปรับพีเอชให้ได้ 4.5 ด้วยกรดซัลฟิวริก ($H_2SO_4$) ความเข้มข้น 5 โมลาร์ แล้วนำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำความดันสูง (autoclave รุ่น tomy ss-325, Japan) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (Chotineeranat et al., 2010)

**การหมักเอทานอล**

ทำการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลในถังหมักระดับห้องปฏิบัติการขนาด 5 ลิตร (5-L fermenter, Biostat®, B. Braun, Germany) โดยเตรียมอาหารหมักปริมาตร 3 ลิตร จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์แห้ง (active dry yeast; angel yeast) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.35 กรัมต่อลิตร หรือจำนวนเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตเท่ากับ $10^6$ CFU (colony forming unit)/ml (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แล้วทำการหมักเอทานอลที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส อัตราการกวนที่ 120 รอบต่อนาที ให้อากาศที่ระดับ 0.10 vvm และทำการศึกษาระยะเวลาการให้อากาศในระหว่างการหมักเอทานอลออกเป็น 4 การทดลอง คือ ไม่ให้อากาศในระหว่างการหมัก (ชุดควบคุม หรือการหมักแบบปกติ) ให้อากาศตั้งแต่เริ่มต้นการหมักที่ระยะ 6, 12 และ18 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 2, 4, 6, 10, 24, 30, 48, 54 และ 72 ชั่วโมง

**การวิเคราะห์จำนวนเชื้อ ปริมาณน้ำตาล และปริมาณเอทานอล**

**การวิเคราะห์อัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate)**

วิเคราะห์อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อยีสต์ในช่วง log phase โดยทำการนับจำนวนเซลล์ยีสต์โดยใช้เครื่องนับจำนวนเซลล์ฮีไซมาโตมิเตอร์ (haemacytometer รุ่น improved neubaver line, Germany) จากนั้นนำค่าจำนวนเซลล์ของเชื้อยีสต์ที่ได้มาคำนวณเทียบกับเวลา

การวิเคราะห์อัตราการใช้สารตั้งต้น (substrate consumption rate) และปริมาณเอทานอลที่ได้ (ethanol concentration)

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโทส ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ VertiSepTM Sugar CMP, 7.8 x 300 mm, 8 um (Vertical Chromatography Co., Ltd.), RI detector, สารชะล้างที่ใช้ คือ น้ำ DI อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ 35 นาทีต่อตัวอย่าง จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณอัตราการใช้สารตั้งต้น (substrate consumption rate) ดังสมการที่ 1

$$\text{ผลได้ของเอทานอล (g/l)} = \frac{\text{ความเข้มข้นเอทานอลที่ผลิตได้ } \left(\frac{g}{l}\right) - \text{ความเข้มข้นเอทานอลเริ่มต้น } \left(\frac{g}{l}\right)}{\text{ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดที่ถูกใช้ } \left(\frac{g}{l}\right)} \quad \text{สมการที่ 1}$$

และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการทดลอง ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Aminex HPX-87H (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA), RI detector สารชะล้างคือ กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.50 มิลลิโมลาร์ อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ 25 นาทีต่อตัวอย่าง

**การวิเคราะห์อัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตร** (productivity)

อัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตรเป็นค่าของการผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้นจริงในช่วงเวลาหนึ่ง (กรัมต่อชั่วโมง) คำนวณโดยใช้สมการที่ 2

$$\text{อัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตร (g/l/h)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ } \left(\frac{g}{L}\right)}{\text{ระยะเวลาของการหมักเอทานอล } (h)} \qquad \text{สมการที่ 2}$$

**การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบความแตกต่างสถิติด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 16 โดยใช้วิธี general linear model (GLM)

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

**องค์ประกอบของกากน้ำตาลที่ใช้หมักเอทานอล**

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากน้ำตาลที่ใช้ในการทดลองหมักเอทานอล (Table 1) พบว่า กากน้ำตาลที่นำมาทำการทดลองมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เริ่มต้นเท่ากับ 80.4 องศาบริกซ์ และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากน้ำตาลพบว่า องค์ประกอบของกากน้ำตาลประกอบไปด้วยน้ำตาลซูโครส 363,900.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำตาลกลูโคส 51,300.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และน้ำตาลฟรุกโทส 45,700.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือร้อยละ 36.39, 5.13 และ 4.57 ตามลำดับ และมีปริมาณเถ้าอยู่ 101,600.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งจะพบว่าในกากน้ำตาลจะมีองค์ประกอบของน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ และมีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรุกโทส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เชื้อยีสต์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์และผลิตเอทานอลได้โดยตรง ซึ่งแตกต่างจากน้ำตาลซูโครสที่เชื้อยีสต์ต้องผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวก่อนจึงสามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งกากน้ำตาลถือเป็นวัตถุดิบที่มีปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในปริมาณที่สูงและเป็นวัตถุดิบที่ไม่ต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพก่อนหมักเอทานอล เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ในการหมักเอทานอล เช่น มันสำปะหลังและชานอ้อย ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์ก่อนการนำมาใช้ในการหมักเอทานอล เนื่องจากเชื้อยีสต์ไม่สามารถย่อยสลายวัตถุดิบดังกล่าวได้โดยตรง

**Table 1** Composition of molasses.

| Composition | |
|---|---|
| Total soluble solid (ºBrix) | 80.4 |
| Total sugar (mg/kg) | 460,900.8 |
| Sucrose (mg/kg) | 363,900.6 |
| Glucose (mg/kg) | 51,300.3 |
| Fructose (mg/kg) | 45,700.4 |
| Sulphate ash (mg/kg) | 101,600.5 |

ผลของระยะเวลาการให้อากาศต่ออัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate, μ) อัตราการใช้สารตั้งต้น (substrate consumption, $Q_s$), ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้ (ethanol concentration) และอัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตร (productivity, $Q_p$)

จากผลของการศึกษาการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลภายใต้สภาวะการให้อากาศในอัตรา 0.10 vvm ระยะเวลา 0 (ชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ), 6, 12 และ 18 ชั่วโมง ต่ออัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่า การให้อากาศ 6, 12 และ 18 ชั่วโมง เชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงกว่าการทดลองชุดควบคุม (Table 2) ซึ่งผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้อากาศมีผลทำให้เชื้อยีสต์มีการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ได้เร็ว ส่งผลให้อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อยีสต์สูงกว่ากว่าการทดลองที่ไม่มีการให้อากาศ

สำหรับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ทั้งนี้เมื่อพิจารณาระยะเวลาของการให้อากาศทั้ง 3 การทดลองพบว่า อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อยีสต์จึงส่งผลทำให้อัตราการเจริญของเชื้อยีสต์มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ

อัตราการใช้สารตั้งต้น หรือความสามารถของเชื้อยีสต์ในการใช้น้ำตาลซูโครสหรือความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโทส (น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่เชื้อยีสต์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ และผลิตเอทานอลได้ จากการศึกษาผลของระยะเวลาการให้อากาศที่ระดับ 0.10 vvm ในระหว่างการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลต่ออัตราการใช้สารตั้งต้นของเชื้อยีสต์ (Table 2) พบว่า อัตราการใช้สารตั้งต้นของเชื้อยีสต์ ภายใต้สภาวะการให้อากาศ 12 และ 18 ชั่วโมง มีอัตราการใช้สารตั้งต้นสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อยู่ที่ 4.01 และ 4.14 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือการให้อากาศ 6 ชั่วโมง เชื้อยีสต์มีอัตราการใช้สารตั้งต้นอยู่ที่ 3.58 กรัมต่อลิตร ซึ่งอัตราการใช้สารตั้งต้นของเชื้อยีสต์ภายใต้สภาวะการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง มีอัตราการใช้สารตั้งต้นสูงกว่าการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ ทั้งนี้ยังพบว่าผลของอัตราการใช้สารตั้งต้นของเชื้อยีสต์สอดคล้องกับผลของอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อยีสต์ ซึ่งการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ของเชื้อยีสต์ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะการให้อากาศนั้นก็ส่งผลทำให้เชื้อยีสต์ต้องการใช้สารอาหารเพิ่มมากขึ้น จึงส่งผลทำให้อัตราการใช้สารตั้งต้นของเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นด้วย (Cheong et al., 2007)

ผลของระยะเวลาการให้อากาศในระหว่างการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลต่อปริมาณเอทานอลที่ได้ พบว่า การหมักเอทานอลภายใต้สภาวะการให้อากาศที่ระดับ 0.10 vvm ระยะเวลา 12 และ 18 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อยู่ที่ 9.24 และ 9.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ การให้อากาศระยะเวลา 6 ชั่วโมง ปริมาณเอทานอลที่ได้คือ 8.56 กรัมต่อลิตร และการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศได้เอทานอลต่ำสุดอยู่ที่ 8.11 กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณเอทานอลที่ได้จากหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศทั้ง 3 การทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ และนอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลภายใต้สภาวะการให้อากาศทั้ง 3 การทดลองได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ สกานต์ เหลืองเกรียงไกร และคณะ (2556) ซึ่งการศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันเส้นบดด้วยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักพร้อมแบบย่อยน้ำตาลก่อนการหมักและเติมอากาศระหว่างการหมัก ของสกานต์ เหลืองเกรียงไกร และคณะ (2556) พบว่า การเติมอากาศระหว่างการหมักด้วยปริมาณอากาศในอัตรา 5 ลิตรต่อนาที ระยะเวลา 12 ชั่วโมง สามารถลดระยะเวลาการหมักเอทานอลลง 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแบบปกติ และให้ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกัน และที่สภาวะการให้อากาศที่ 1.0 vvm ระยะเวลา 12 ชั่วโมงได้เอทานอลสูงสุดอยู่ที่ 7.60 กรัมต่อลิตร

อัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตร พบว่า มีผลสอดคล้องกับผลของอัตราการเจริญจำเพาะ อัตราการใช้สารตั้งต้นและปริมาณเอทานอลที่ได้ ซึ่งภายใต้สภาวะการให้อากาศเป็นระยะเวลา 12 และ 18 ชั่วโมง พบว่า มีอัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตรที่ระยะเวลาการให้อากาศ 12 ชั่วโมงมากกว่าเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อยู่ที่ 1.73 และ 1.70 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ การให้อากาศ 6 ชั่วโมง มีอัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตรรองลงมาอยู่ที่ 1.58 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ มีอัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตรต่ำสุดอยู่ที่ 1.48 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับการทดลองที่มีการให้อากาศในระหว่างการหมักเอทานอลทั้ง 3 การทดลอง

**Table 2** Specific growth rate (μ), substrate consumption rate ($Q_s$), ethanol concentration, and productivity ($Q_p$).

| Sample | μ ($h^{-1}$) | $Q_s$ (g/l) | Ethanol (g/l) | Productivity, $Q_p$ (g/l/h) |
|---|---|---|---|---|
| No aeration | 0.17±0.00[b] | 3.47±0.04[c] | 8.11±0.17[c] | 1.48±0.00[c] |
| Aeration 6 h | 0.19±0.01[a] | 3.58±0.01[b] | 8.56±0.37[b] | 1.58±0.01[b] |
| Aeration 12 h | 0.20±0.01[a] | 4.01±0.02[a] | 9.24±0.78[a] | 1.73±0.02[a] |
| Aeration 18 h | 0.21±0.00[a] | 4.14±0.02[a] | 9.30±0.21[a] | 1.70±0.00[a] |

[a-c] Lowercase letters in the same column indicate a significant difference ($P<0.05$).

**การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโทส ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยเชื้อยีสต์ภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศที่ระยะเวลาแตกต่างกัน**

จากผลการศึกษาการให้อากาศ 0, 6, 12 และ 18 ชั่วโมง ที่ระดับ 0.10 vvm ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุกโทส ในระหว่างการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลด้วยเชื้อยีสต์ (Figure 1) จากการศึกษา พบว่า การหมักเอทานอลภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศทั้ง 3 การทดลองมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลซูโครสอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะในระหว่างการหมักเอทานอลที่เวลา 6-48 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ ซึ่งพบว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลงอย่างช้า ๆ ที่ระยะเวลาเดียวกัน ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลงนั้นจะพบว่าปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากในระหว่างการหมักเอทานอล เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* มีการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) ออกมานอกเซลล์ ซึ่งเอนไซม์อินเวอร์เทสเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่ในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งเชื้อยีสต์สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้ในการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ และผลิตเอทานอลได้ (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549) ซึ่งในสภาวะการหมักเอทานอลที่มีการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง พบว่า ปริมาณน้ำตาลกลูโคสมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงเวลา 0 ถึง 12 ชั่วโมง และลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากชั่วโมงที่ 12 ทั้งนี้เนื่องจากอาหารหมักที่เป็นกากน้ำตาลนั้นมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบอยู่ในอาหารหมักแล้วดังแสดงใน Table 1 ซึ่งส่งผลทำให้เชื้อยีสต์สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในอาหารหมักได้โดยตรง โดยไม่ต้องผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส และจากการทดลองยังพบว่าภายใต้สภาวะการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากชั่วโมงที่ 12 ในขณะที่การทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงช้ากว่าการทดลองที่มีการให้อากาศ ทั้งนี้ผลของการลดลงของน้ำตาลกลูโคสนั้นแปรผกผันกับผลของอัตราการใช้สารตั้งต้น และอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อยีสต์ (Table 2) เนื่องจากอัตราการเจริญจำเพาะ และอัตราการใช้สารตั้งต้นของเชื้อยีสต์ที่มีค่าสูงแสดงว่าเชื้อยีสต์สามารถใช้สารตั้งต้นได้อย่างรวดเร็วส่งผลทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกัน และหลังจากชั่วโมงที่ 48 พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะค่อย ๆ ลดลงและคงที่ และในขณะที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากชั่วโมงที่ 24 พบว่าปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสเริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดเช่นเดียวกัน เนื่องจากในกรณีที่เชื้อยีสต์ใช้น้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในอาหารหมักจนกระทั่งมีปริมาณเหลือน้อยแล้ว เชื้อยีสต์จะเริ่มมีการใช้น้ำตาลฟรุกโทส โดยเชื้อยีสต์จะผลิตเอนไซม์ไอโซเมอเรส (isomerase) ออกมาเปลี่ยนน้ำตาลฟรุกโทสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสก่อน แล้วจึงสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสผลิตเอทานอลต่อไปได้ (Desai et al., 2016)

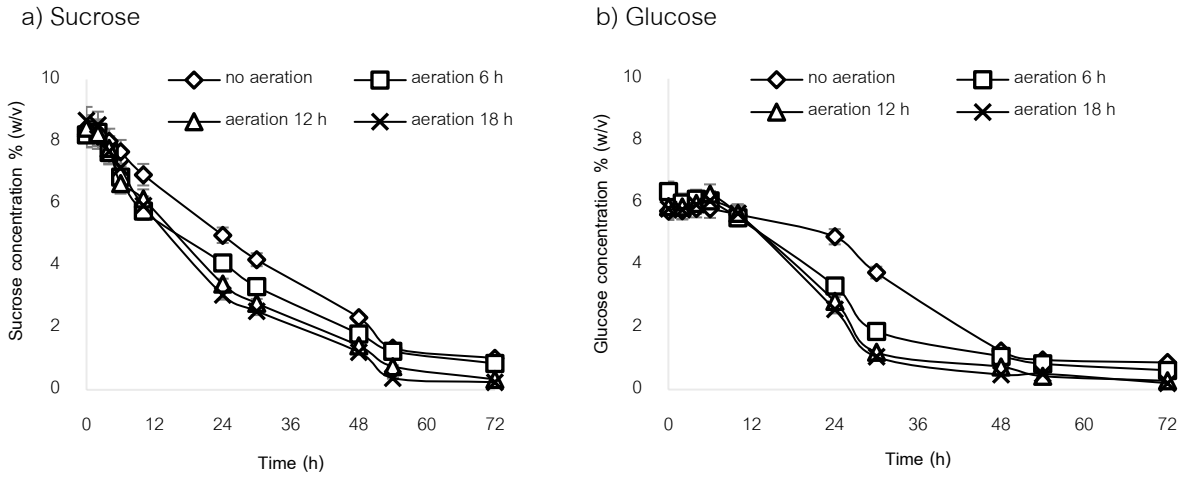


**Figure 1** Sucrose (a), glucose (b), fructose (c) concentration during ethanol fermentation from molasses by *Sacharomyces cerevisiae.*

c) Fructose

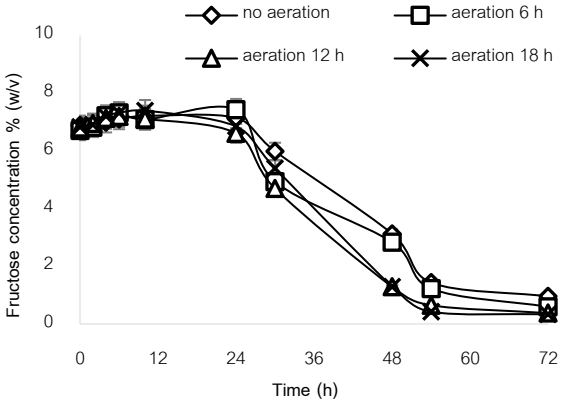


**Figure 1** (continued).

**การเปลี่ยนแปลงการเจริญของเซลล์ยีสต์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณเอทานอล ในระหว่างการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยเชื้อยีสต์ภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศที่ระยะเวลาแตกต่างกัน**

จากผลการศึกษาการให้อากาศในระหว่างการหมักเอทานอลที่ระยะเวลา 6, 12 และ 18 ชั่วโมง ที่ระดับ 0.10 vvm ต่อการเจริญของเซลล์ยีสต์ในระหว่างการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาล โดยทำการเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศตลอดระยะเวลาของการหมัก (Figure 2) พบว่า การเจริญของเซลล์ยีสต์มีการเจริญแบ่งออกเป็น 4 ระยะ (Werner-Washburne et al., 1993) คือ ระยะเริ่มต้นหรือระยะการปรับตัว (lag phase) คือช่วงเวลา 0 ถึง 6 ชั่วโมง พบว่าการเจริญของเซลล์ยีสต์มีการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์เล็กน้อย ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อยีสต์กำลังปรับเปลี่ยนเซลล์ให้เข้ากับสภาวะของสารอาหารที่เป็นกากน้ำตาล ซึ่งจะพบว่าภายใต้สภาวะการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง เชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่าเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุม ซึ่งแสดงว่าภายใต้สภาวะการให้อากาศนั้นเชื้อยีสต์มีปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมได้รวดเร็วกว่าการทดลองชุดควบคุม ระยะที่สอง คือ ระยะที่มีการเจริญของเซลล์ยีสต์มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอย่างเห็นได้ชัดในชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 12 โดยเฉพาะภายใต้สภาวะการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง เชื้อยีสต์มีการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุมพบว่ามีการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ช้ากว่า เนื่องจากพบว่าระยะเริ่มต้นหรือระยะ lag phase ของการทดลองชุดควบคุม เชื้อยีสต์มีระยะเวลาการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมช้ากว่าการทดลองที่มีการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง ซึ่งส่งผลทำให้ระยะการเพิ่มจำนวนเซลล์แบบทวีคูณหรือระยะ log phase เกิดขึ้นช้าไปด้วย ซึ่งในระยะการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ยีสต์แบบทวีคูณนั้น พบว่า ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) มีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งแสดงว่าในระยะที่เชื้อยีสต์กำลังเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ เชื้อยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน และในช่วงเวลาเดียวกันพบว่ามีปริมาณเอทานอลเกิดขึ้นเล็กน้อย ส่วนการทดลองชุดควบคุมมีอัตราการเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ยีสต์ที่ช้ากว่าส่งผลทำให้ปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างช้า ๆ เช่นเดียวกัน ระยะที่สาม คือ ระยะที่เชื้อยีสต์มีการเจริญอย่างคงที่หรือระยะ stationary phase พบว่าอยู่ในชั่วโมงที่ 30 ถึง 48 ซึ่งในช่วงเวลาเดียวกันนี้พบว่า อัตราการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งเป็นช่วงเวลาหลังจากที่หยุดให้อากาศของการทดลองที่มีการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง และปริมาณเอทานอลที่ได้ของการทดลองที่มีการให้อากาศ 12 ชั่วโมง มีอัตราการผลิตเอทานอลสูงกว่าการทดลองให้อากาศที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมง แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทดลองชุดควบคุมมีอัตราการผลิตเอทานอลที่ช้ากว่าการทดลองที่มีการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง และผลของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของการทดลองที่มีการให้อากาศทั้ง 3 การทดลอง ที่ชั่วโมงที่ 24 ถึง 48 พบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนการทดลองชุดควบคุมมีการลดลงอย่างช้า ๆ ในเวลาเดียวกัน (Figure 3) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การผลิตเอทานอลสอดคล้องกับอัตราการเจริญของเชื้อยีสต์ และแปรผกผันกับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ในช่วงระยะเวลาเดียวกันด้วย (Cot et al., 2006) และระยะที่สี่ คือ ระยะที่เซลล์ยีสต์มีจำนวนลดลงหรือระยะ death phase พบว่าอยู่ในชั่วโมงที่ 54 ถึง 72 ซึ่งเป็นระยะที่เชื้อยีสต์มีการผลิตเอทานอลเล็กน้อยหรือไม่มีการผลิตเอทานอลเลย และปริมาณน้ำตาลไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือลดลง

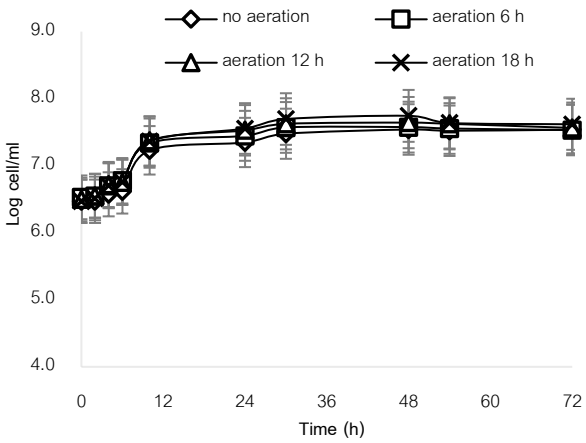


**Figure 2** Cell growth during fermentation from molasses.

a) Total sugar b) Ethanol

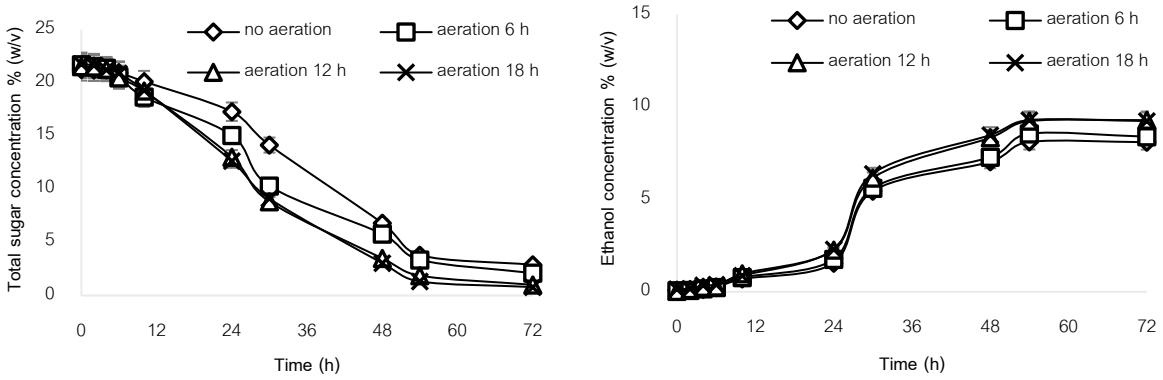


**Figure 3** Total sugar (a) and ethanol (b) concentration during yeast fermentation from molasses.

การวางแผนการให้อากาศที่สอดคล้องกับลักษณะของการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักและผลได้ของเอทานอลคือการให้อากาศที่ระยะการเจริญของเชื้อยีสต์ในช่วง 6 ถึง 12 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าการให้อากาศที่ระยะเวลา 12 และ 18 ชั่วโมงตั้งแต่เริ่มการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลส่งผลทำให้อัตราการผลิตเอทานอลที่ได้สูงที่สุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และอัตราการผลิตเอทานอลที่ได้สูงกว่าการทดลองที่ไม่มีการให้อากาศ และการให้อากาศ 6 ชั่วโมง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

## สรุปผลการศึกษา

การหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยเชื้อยีสต์ภายใต้สภาวะการให้อากาศที่ระดับ 0.10 vvm ระยะเวลา 12 และ 18 ชั่วโมงมีอัตราการเจริญจำเพาะ อัตราการใช้สารตั้งต้น และอัตราการผลิตเอทานอลที่ได้เชิงปริมาตรของเชื้อ *S. cerevisiae* สูงกว่าการทดลองที่มีการให้อากาศที่ระยะ 6 ชั่วโมง และการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการให้อากาศที่ระดับ 0.10 vvm ระยะเวลา 6, 12 และ 18 ชั่วโมง อัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตร อยู่ที่ 1.58, 1.73 และ 1.70 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งการทดลองการให้อากาศในระหว่างการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลทั้ง 3 การทดลองพบว่าอัตราการผลิตเอทานอลเชิงปริมาตรที่ได้สูงกว่าการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศ ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการให้อากาศที่ระดับ 0.10 vvm ระยะเวลา 12 ชั่วโมงในระหว่างการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ช่วยเพิ่มผลได้ของเอทานอลที่ได้ถึงร้อยละ 13.93 เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักเอทานอลแบบปกติที่ไม่มีการให้อากาศ (การทดลองชุดควบคุม)

## เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2564. *สถานการณ์กำลังการติดตั้งโรงงานเอทานอลของประเทศไทย*. กรุงเทพฯ: กระทรวงพลังงาน.

พจมาลย์ พิมพขันธ์. 2555. การผลิตไบโอเอทานอลที่อุณหภูมิสูงจากน้ำอ้อยเข้มข้นโดยยีสต์ทนร้อน *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นรินทร์ ตันไพบูลย์. 2560. *แนวโน้มธุรกิจและอุตสาหกรรม ปี 2560-62: อุตสาหกรรมเอทานอล*. กรุงเทพฯ: วิจัยกรุงศรี ธนาคารกรุงศรีอยุธยา จำกัด.

ยุทธศักดิ์ คณาสวัสดิ์. 2549. การพัฒนาเทคโนโลยีด้านเอทานอล. *วารสารส่งเสริมการลงทุน* 17(5): 34-38.

สกานต์ เหลืองเกรียงไกร, เชาว์ อินประสิทธิ์ และพรทิพย์ ศิริสุนทรราลักษณ์. 2556. การผลิตเอทานอลจากมันเส้นบดด้วยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักพร้อมแบบย่อยน้ำตาลก่อนการหมักและเติมอากาศระหว่างการหมัก. ใน *การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทยระดับชาติ ครั้งที่ 14 และระดับนานาชาติ ครั้งที่ 6*, กรุงเทพฯ.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Alfenore, S., Cameleyre, X., Benbadis, L., Uribelarrea, G. C., Molina-Jouve, S., and Guillouet, E. 2004. Aeration strategy: a need for very high ethanol performance in *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch process. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63: 537.

Cheong, C., Wackerbauer, K., and Kang, S. 2007. Influence of aeration during propagation of pitching yeast on fermentation and beer flavor. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 17(2): 297-304.

Chotineeranat, S., Wansuksri, R., Piyachomkwan, K., Chatakanonda, P., Weerathaworn, P., and Sriroth, K. 2010. Effect of calcium ions on ethanol production from molasses by Saccharomyces cerevisiae. Sugar Tech 12(2): 120-124.

Cot, M., Loret, M. O., François, J., and Benbadis, L. 2006. Physiological behavior of *Saccharomyces cerevisiae* in aerated fed-batch fermentation for high level production of bioethanol. *FEMS Yeast Research* 7(1): 22-32.

Deesuth, O., Laopaiboon, P., and Laopaiboon, L. 2016. high ethanol production under optimal aeration conditions and yeast composition in a very high gravity fermentation from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae*. *Industrial Crops and Products* 92: 263-270.

Desai, S., Dhanashree, G., and Basavaraj, H. 2016. Glucose isomerising Enzymes. *Microbial Enzyme Technology in Food Applications* 69-82.

Kumar, S., Singh, N., and Prasad, R. 2010. Anhydrous ethanol: A renewable source of energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(7): 1830-1844.

Nguyen, T. L. T., and Gheewala, S. H. 2008. Fuel ethanol from cane molasses in Thailand: Environmental and cost performance. Energy Policy 36(5): 1589-1599.

Papong, S., and Malakul, P. 2010. Life-cycle energy and environmental analysis of bioethanol production from cassava in Thailand. *Bioresource Technology* 101(1): 112-118.

Shang, F., Wen, S., Wang, X., and Tan, T. 2006. High-cell-density fermentation for ergosterol production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101(1): 38-41.

Werner-Washburne, M., Braun, E., Johnston, G. C., and Singer, R. A. 1993. Stationary phase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Reviews* 57(2): 383-401.

*วันรับบทความ (Received date) : 26 ธ.ค. 62*

*วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 11 พ.ค. 64*

*วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 15 ก.ค. 64*