

การพัฒนาแบบต้นแบบระดับกึ่งอุตสาหกรรมในการผลิตและ ทำให้อทานอลบริสุทธิ์จากเงาะคุณภาพต่ำเพื่อใช้ในแก๊สโซฮอลล์

DEVELOPMENT OF A SEMI-INDUSTRIAL SCALE PROTOTYPE SYSTEM FOR THE PRODUCTION AND PURIFICATION OF ETHANOL FROM LOW-GRADE RAMBUTAN (*NEPHELIUM LAPPACEUM*) FOR GASOHOL APPLICATIONS

ศรีอุบล ทองประดิษฐ์¹ และ อดุลย์สมาน สุขแก้ว^{2*}

Sriubol Thongpradistha¹, and Adulsman Sukkaew^{2*}

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
วิทยาเขตนครศรีธรรมราช (ทุ่งใหญ่)

²สาขาวิชาพลังงานทดแทน คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

¹Program in Food Technology and Innovation, Faculty of Agro-Industry, Rajamangala University
of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus (Thung Yai)

²Program in Renewable energy, Faculty of Science, Technology, and Agriculture, Yala Rajabhat University

*corresponding author e-mail: adulsman.s@yru.ac.th

(Received: 25 March 2025; Revised: 10 June 2025; Accepted: 22 June 2025)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำเพื่อใช้ในพลังงานทดแทน มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล ศึกษากระบวนการกลั่นแยกเอทานอลที่ได้จากการขยายขนาดการหมัก ผลการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล คือ การเตรียมเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะร้อยละ 20 โดยมีผลต่อปริมาตร เต็ม Di-ammonium Phosphate; DAP เป็นแหล่งไนโตรเจน 0.96 กรัมต่อลิตร ทำให้ปลอดภัยด้วย Potassium Metabisulfite; KMS ปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร แล้วหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 ที่ผ่านการคัดเลือก ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 5.83 โดยปริมาตร เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมไปขยายขนาดการหมักเป็น 18 ลิตร ในถังหมักขนาด 20 ลิตร ใช้เวลาการหมัก 21 วัน ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 8.83 โดยปริมาตร เมื่อนำมากลั่นในเครื่องกลั่นลำดับส่วนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร และทำการกลั่นซ้ำจำนวน 4 รอบ ได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร และนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีแยกน้ำโดยใช้โมเลกุลาร์ซีฟประเภทซีโอไลต์ปริมาณ 100 กรัม พบว่า สามารถแยกเอทานอล

1 ลิตร ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 99.20 โดยปริมาตร ที่สามารถนำไปผสมกับน้ำมันเบนซินเพื่อทำเป็นน้ำมันแก๊สโซฮอล์ได้ ผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำมาพัฒนาเป็นระบบต้นแบบระดับกึ่งอุตสาหกรรมและใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนแห่งอนาคตต่อไป

คำสำคัญ: เอทานอล เงามะ การหมัก แก๊สโซฮอล์ พลังงานทดแทน

Abstract

This research explores ethanol production from low-quality rambutan as an alternative energy source. It aims to determine optimal fermentation conditions and study the distillation process for ethanol extraction during scale-up. The findings indicate that the ideal fermentation conditions involve preparing low-quality rambutan with 20 %w/v fruit pulp (weight per volume of rambutan juice), adding 0.96 g/L of Di-ammonium Phosphate; DAP as a nitrogen source, and sterilizing with 0.18 g/L Potassium Metabisulfite; KMS. Fermentation with selected *S. cerevisiae* TISTR 5339 yeast yielded a maximum ethanol concentration of 5.83 %v/v. Scaling up the fermentation to 18 liters in a 20-liter fermenter for 21 days increased ethanol production to 8.83 %v/v. Distillation using a fractional distillation system at 90 °C resulted in 50 %v/v ethanol concentration, which increased to 95 %v/v after four rounds of distillation. Further purification using zeolite molecular sieves (100 g) produced ethanol at 99.20 %v/v, suitable for blending with gasoline to create gasohol. The study demonstrates the feasibility of developing a semi-industrial ethanol production model, contributing to future renewable energy sources.

Keywords: Ethanol, Rambutan, Fermentation, Gasohol, Renewable energy

บทนำ

น้ำมันเชื้อเพลิงเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยมานาน เนื่องจากแหล่งผลิตในประเทศมีสัดส่วนเพียงเล็กน้อยของการใช้น้ำมันทั้งหมดในประเทศ ส่วนใหญ่ต้องพึ่งพาการนำเข้าประเทศไทยสูญเสียเงินตราต่างประเทศเพื่อนำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงกว่าแสนล้านบาท นอกจากนี้ราคาน้ำมันมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ มีการประมาณการอย่างคร่าวๆ ว่าโลกเราจะมีน้ำมันสำรองใช้ได้อีกประมาณ 40–50 ปี (Wang et al., 2021) การคิดค้นแหล่งพลังงานใหม่ๆ เพื่อทดแทนน้ำมันเกิดขึ้นมานานแล้ว แต่เพิ่งจะเริ่มตื่นตัวกันอย่างจริงจังเมื่อราคาน้ำมันพุ่งขึ้นสูงเกินกว่าที่จะยอมรับได้ในขณะนี้ (Kamsuwan et al., 2023; Kiatkittipong et al., 2008) พลังงานทดแทนมีหลายประเภทด้วยกัน ได้แก่ พลังงานที่ได้จากก๊าซธรรมชาติ ก๊าซปิโตรเลียมเหลว ถ่านหิน

เอทิลแอลกอฮอล์ หินน้ำมัน พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานความร้อนใต้พิภพ และพลังงานนิวเคลียร์ ซึ่งจะกล่าวถึงรายละเอียดเฉพาะพลังงานที่ได้จากเอทิลแอลกอฮอล์ เพราะกำลังเป็นเรื่องที่ประชาชนทั่วไปให้ความสนใจ เอทิลแอลกอฮอล์ หรือเอทานอล เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง ซึ่งเกิดจากการหมักผลิตผลหรือเศษเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีส่วนผสมของแป้งหรือน้ำตาล ได้แก่ อ้อย น้ำตาล กากน้ำตาล กากอ้อย ปืทรูด (หัวผักกาดหวาน) แป้งมันสำปะหลัง มันเทศ ธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าวโพด ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง โดยเปลี่ยนแป้งจากพืชให้เป็นน้ำตาล แล้วเปลี่ยนจากน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์อีกทอดหนึ่ง แอลกอฮอล์ที่ทำให้บริสุทธิ์ได้ร้อยละ 95 โดยปริมาตร จะเรียกว่า เอทานอล 190 proof (Devi et al., 2021; Mogg, 2004; Zheng et al., 2013)

เงาะเป็นผลไม้เมืองร้อน ประเทศในยุโรปและอเมริกามีผลผลิตเงาะไม่มากที่จะทำเป็นอุตสาหกรรม จึงมีการศึกษาการนำเงาะมาแปรรูป หรือพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่างๆ หรือผลิตเป็นเอทานอลมีไม่มาก ส่วนมากจะเป็นการศึกษาวิจัยของประเทศ มาเลเซีย ส่วนอินโดนีเซียและฟิลิปปินส์ก็มีการศึกษาน้อย ซึ่งมีงานที่เกี่ยวข้องกับการนำเงาะมาผลิตเป็นเครื่องดื่มประเภทไวน์ เช่น การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไวน์เงาะและการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไวน์เงาะ จะเห็นได้ว่าการวิจัยที่นำเงาะสดมาก็คือเป็นเครื่องดื่มประเภทไวน์เป็นส่วนใหญ่ ยังไม่มียางานวิจัยที่ต่อยอดนำเงาะคุณภาพต่ำไปผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน โดยเฉพาะภาคใต้มีเงาะที่มีคุณภาพต่ำมากเพียงพอสามารถนำไปผลิตเอทานอลโดยการหมักและการกลั่นไปใช้ผสมกับน้ำมันเบนซินในการผลิตน้ำมันแก๊สโซฮอล์สำหรับเป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์และเครื่องยนต์เบนซิน (Fang et al., 2025; Kiatkittipong et al., 2008)

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำ และกลั่นแยกเอทานอลที่ได้จากการหมักไวน์เงาะคุณภาพต่ำ และศึกษากรรมวิธีทำให้เอทานอลที่กลั่นได้บริสุทธิ์สามารถนำไปผลิตพลังงานทดแทน (แก๊สโซฮอล์) เพื่อเป็นทางเลือกสำหรับอุตสาหกรรมระดับชุมชน และอุตสาหกรรมขนาดย่อมและขนาดกลางที่เกี่ยวข้องกับเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมหัวเชื้อยีสต์บริสุทธิ์

นำหัวเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. cerevisiae* TISTR 5021 *S. cerevisiae* TISTR 5039 *S. cerevisiae* TISTR 5055 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย มาขยายขนาด นำเชื้อยีสต์บริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหาร YM เหลวเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นถ่ายลงในอาหาร YM วันเลี้ยง บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

48 ชั่วโมง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อทุกๆ 3 เดือน ก่อนนำใช้เตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น

2. การเตรียมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้น

การเตรียมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นสำหรับการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ มีวิธีการดังนี้ คือ 1) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ YM เหลว (Yeast Malt; YM) ประกอบด้วยยีสต์สกัด 3 กรัม มอลต์สกัด 5 กรัม เบปไตน์ 5 กรัม กลูโคส 10 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 4.50 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.10 นอร์มัล และสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.10 นอร์มัล แล้วบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้ให้มีปริมาตรเท่ากับร้อยละ 2 โดยปริมาตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (Kiatkittipong et al., 2008; Nomura, Bin & Nakao, 2002) ทิ้งไว้ให้เย็น 2) เชื้อยีสต์บริสุทธิ์จากอาหาร YM วันเลี้ยง จำนวน 2–3 หลบ (ในสภาพปลอดเชื้อ) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM เหลว แล้วนำไปบ่มด้วยเครื่องเขยาคบคุมความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. การเตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำ

เงาะคุณภาพต่ำจากอำเภอนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่คัดทิ้ง มาวางทิ้งไว้จนเปลือกมีสีดำเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ นำมาแกะเปลือกและเมล็ดออก แล้วปั่นพร้อมแยกกากเงาะออก จะได้น้ำเงาะที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 18 องศาบริกซ์ (ถ้ามีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ไม่ถึงให้ปรับด้วยวิธีเพียร์สันสแควร์ โดยต้องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ด้วยรีแฟรกโตมิเตอร์ก่อนนำมาคำนวณ) และปรับพีเอชเท่ากับ 4.50 ก่อนนำไปทำการทดลอง

4. การศึกษากรรมวิธีการทำน้ำเงาะคุณภาพต่ำให้ปลอดเชื้อระหว่างการต้มและการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์

การศึกษากกรรมวิธีทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อมี 2 กรรมวิธี คือ การต้มโดยเตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำตามวิธีการข้อที่ 3 ให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร แล้วนำมาบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร พร้อมปิดฝาขวดด้วยอุปกรณ์กันอากาศ (Air-locker) แล้วต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (Rattanapan, Limtong & Phisalaphong, 2011; Salakkam et al., 2023) ทิ้งให้เย็น และการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium Metabisulfite, KMS) และตัวควบคุมที่ไม่ทำให้ปลอดเชื้อ โดยนำน้ำเงาะคุณภาพต่ำบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม KMS ในอัตราส่วน 0.18 กรัมต่อน้ำเงาะ 1 ลิตร (ต้องทำให้ละลายในน้ำอุ่นก่อน) พร้อมปิดฝาขวดด้วยอุปกรณ์กันอากาศ ทิ้งไว้ให้ KMS ระเหย 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้น *S. cerevisiae* TISTR 5039 ร้อยละ 2 โดยปริมาตร ที่เตรียมจากข้อที่ 2

แล้วหมักในตูบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพนิ่ง เป็นระยะเวลา 12 วัน เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช คัดเลือกกรรมวิธีการทำให้น้ำเงาะปลอดเชื้อที่หมัก จากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ; DMRT

5. การศึกษาวิธีการเตรียมน้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำ

เตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำตามวิธีการข้อที่ 3 ทำการศึกษาวิธีการเตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำ 2 ลักษณะ คือ การใช้เฉพาะน้ำเงาะคุณภาพต่ำเพียงอย่างเดียว และการใช้น้ำเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร โดยให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำมาบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้วิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อที่เหมาะสมที่คัดเลือกจากวิธีการข้อที่ 4 จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้น *S. cerevisiae* TISTR 5039 ที่เตรียมจากข้อที่ 2 ร้อยละ 2 โดยปริมาตร พร้อมปิดฝาขวดด้วยอุปกรณ์กันอากาศ แล้วหมักในตูบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพนิ่ง เป็นระยะเวลา 12 วัน เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช คัดเลือกวิธีการเตรียมน้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด คัดเลือกกรรมวิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อที่เหมาะสม จากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด โดยวิธี DMRT

6. การศึกษาแหล่งไนโตรเจนในน้ำเงาะคุณภาพต่ำ

เตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำตามวิธีการข้อที่ 3 ใช้วิธีการเตรียมน้ำหมักเงาะที่เหมาะสมที่ผ่านการคัดเลือกจากวิธีการข้อที่ 5 มาทำการศึกษาการเติมไนโตรเจนลงในน้ำเงาะคุณภาพต่ำ ดังนี้ เติม Di-ammonium Phosphate; DAP 0.96 กรัมต่อลิตร ตามด้วย Di-ammonium Hydrogen Phosphate; DAHP 0.50 กรัมต่อลิตร และยูเรียในอัตราส่วน 0.96 0.80 0.60 และ 0.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร แล้วนำมาบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้วิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อที่เหมาะสมที่คัดเลือกจากวิธีการข้อที่ 4 จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้น *S. cerevisiae* TISTR 5039 ที่เตรียมจากข้อที่ 2 ร้อยละ 2 โดยปริมาตร พร้อมปิดฝาขวดด้วยอุปกรณ์กันอากาศ แล้วหมักในตูบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพนิ่ง เป็นระยะเวลา 12 วัน เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช คัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม จากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด โดยวิธี DMRT

7. การศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ในการหมักเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำ

เตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำตามวิธีการข้อที่ 3 ใช้วิธีการเตรียมน้ำหมักเงาะที่เหมาะสมที่ผ่านการคัดเลือกจากวิธีการข้อที่ 5 เติมแหล่งไนโตรเจนในปริมาณที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อที่ 6 โดยให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำมาบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร และใช้วิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อที่เหมาะสมที่คัดเลือกจากวิธีการข้อที่ 4 มาศึกษาสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. cerevisiae* TISTR 5021 *S. cerevisiae* TISTR 5039 *S. cerevisiae* TISTR 5055 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เตรียมจากข้อที่ 2 ร้อยละ 2 โดยปริมาตร พร้อมปิดฝาขวดด้วยอุปกรณ์กันอากาศ แล้วหมักในตูบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพนิ่ง เป็นระยะเวลา 12 วัน เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช คัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสม จากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด โดยวิธี DMRT กับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อธรรมชาติจากเงาะคุณภาพต่ำ

8. การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการกลั่นเพื่อให้ได้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 95 โดยปริมาตร

การหมักเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำโดยใช้สภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ วิธีการเตรียมน้ำหมักเงาะ ปริมาณแหล่งไนโตรเจน วิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อ และสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสม ร้อยละ 2 โดยปริมาตร โดยขยายปริมาตรการหมักเป็น 18 ลิตร ในถังหมักขนาด 20 ลิตร พร้อมปิดฝาถังด้วยอุปกรณ์กันอากาศ ทำการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 21 วัน หรือยังสังเกตจากระดับน้ำที่คงที่จากอุปกรณ์กันอากาศ เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน มาวิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้แก่ ปริมาณเอทานอล ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณฟูเซลอยล์ และอัลดีไฮด์ นำน้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำที่สิ้นสุดการหมัก มากลั่นด้วยเครื่องกลั่นลำดับส่วน ทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการกลั่น จำนวน 3 อุณหภูมิ คือ 80 90 และ 92 องศาเซลเซียส โดยกำหนดระยะเวลาในการกลั่น 60 นาที เพื่อให้ได้เอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 50 โดยปริมาตร จากนั้นนำเอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 50 โดยปริมาตร ที่กลั่นได้มากลั่นซ้ำด้วยเครื่องกลั่นลำดับส่วน อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มาศึกษาจำนวนรอบในการกลั่นที่เพื่อให้ได้เอทานอลที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 95 โดยปริมาตร

9. การทำให้เอทานอลที่กลั่นได้มีความบริสุทธิ์

เตรียมคอลัมน์บรรจุโมเลกุลาร์ซีฟชนิดซีโอไลต์ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณ 0.25 0.50 และ 1 กรัม บรรจุในหลอดฉีดขนาด 5 มิลลิลิตร ใช้ปั๊มดูดเอทานอล 100 มิลลิลิตร ให้ไหลผ่านตัวดูดซับในคอลัมน์ เก็บตัวอย่างที่เวลา 10 20 30 40

50 และ 60 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ตัวอย่างที่เก็บนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

10. วิธีการวิเคราะห์

10.1 การวัดปริมาณเอทานอลด้วยวินิโอมิเตอร์ (vinometer) เทตัวอย่างที่ปรับอุณหภูมิไว้ที่ 20 องศาเซลเซียส ด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ลงในเครื่องวินิโอมิเตอร์ ปล่อยให้ไวน์ไหลลงจนหยุดจากปลายท่อ และตรวจสอบให้แน่ใจว่าไม่มีฟองอากาศในท่อคว่ำวินิโอมิเตอร์ลง ไวน์จะไหลย้อนกลับขึ้นในท่อจนหยุด ณ จุดหนึ่งอ่านค่าปริมาณเอทานอลเป็นร้อยละโดยปริมาตรจากขีดวัดของเครื่องตรงตำแหน่งที่ระดับตัวอย่างหยุด

10.2 การวัดปริมาณเอทานอลด้วยวิธีวัดความถ่วงจำเพาะ โดยเทเอทานอลที่กลั่นได้ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในกระบอกตวง แล้วปรับอุณหภูมิให้อยู่ที่ 20 องศาเซลเซียส หย่อนเครื่องวัดความถ่วงจำเพาะ (Alcoholometer, gay lussac–cartier scale) ลงในตัวอย่าง และอ่านค่าปริมาณเอทานอลโดยตรง

10.3 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC) โดยการสร้างกราฟมาตรฐานจากสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1 3 และ 5 โดยปริมาตร เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอลกับพื้นที่ใต้กราฟ เตรียมตัวอย่างโดยการกรองใส่ขวด Vidal วางขวดตัวอย่างบนถาดป้อนตัวอย่างของเครื่อง GC คำนวณปริมาณเอทานอลจากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน โดยมีสถานะในการวิเคราะห์ คือ แก๊สพา (Carrier gas) คือ ฮีเลียมมีอัตราการไหลที่ 10 มิลลิลิตรต่อนาที แก๊สไฮโดรเจนมีอัตราการไหลที่ 45 มิลลิลิตรต่อนาที และแก๊สอากาศ (Air zero) 450 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราการไหลของแก๊สพาเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราการไหลของแก๊สสำหรับโหมด Split เท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อนาที คอลัมน์เป็นชนิด Wax เส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร อุณหภูมิสูงสุด 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของหัวฉีด 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของหัวฉีด 70 องศาเซลเซียส (5 นาที) FID 150 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการเคลื่อนที่ของสารผ่านคอลัมน์ (Retention time) 1.954 นาที (ดัดแปลงจาก Siri Wong et al., 2019; Sriputorn et al., 2021; Wu et al., 2016)

10.4 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยนำน้ำหมักมาเจาะคุณภาพต่ำใส่ในช่องวัดของเครื่องอ่านค่าในหน่วยองศาบริกซ์

10.5 การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธีฟินอล-ซัลเฟต (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990) โดยใส่สารละลายตัวอย่างต่อแบลงค์ หรือสารละลายมาตรฐานกลูโคส (100 90 80 70 60 50 40 30 20 และ 10) ลงในหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟินอล 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็วพร้อมกัน เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที หรือจนเย็น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น

488 นาโนเมตร โดยวัดเทียบกับแสงคัล ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง แล้วอ่านค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (x) จากสมการที่ได้จากการเขียนกราฟค่าการดูดกลืนแสง (y) กับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ไม่โครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากสมการที่ 1

$$y = 0.0079x - 0.016 \quad (R^2=0.9955) \quad (1)$$

10.6 การวิเคราะห์หาปริมาณฟูเซลอยล์ (Fusel oil) ด้วยวิธี Spectrophotometry (AOAC, 1990) โดยนำน้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำที่ผ่านการกลั่นปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร บรรจุในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติม Color reagent 0.10 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริก 2 มิลลิลิตร ตั้งในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้อง 20 องศาเซลเซียส และนำไปต้มในน้ำเดือด 30 นาที ทิ้งให้เย็น หากปริมาตรลดลงให้เติมกรดซัลฟิวริกให้เท่าเดิม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 445 นาโนเมตร (y) และนำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณปริมาณฟูเซลอยล์ (x) (กรัม/ลิตร) จากสมการที่ 2

$$y = 0.0977x + 0.0031 \quad (R^2=0.9983) \quad (2)$$

10.7 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด โดยนำน้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จนเปลี่ยนเป็นสีชมพู (จุดยุติ) (AOAC, 1990) ดังสมการที่ 3

$$\text{สูตรการคำนวณกรดทั้งหมด (g/L)} = \frac{\text{ปริมาตร NaOH (ml)} \times \text{Normality ของ NaOH} \times 60}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (ml)}} \quad (3)$$

10.8 การวิเคราะห์ปริมาณอัลดีไฮด์ในเอทานอลที่กลั่นได้ (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990) โดยดูดตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ใส่ลงฟลาสก์ เติมไอโอดีนความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล ลงไป 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายสีน้ำตาลแดง เติมน้ำแบ่งลงไป 2–3 หยด จะได้สารละลายสีน้ำเงิน นำไปไทเทรตกับของโซเดียมไฮโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล จนสีน้ำเงินหายไป จดปริมาตรของโซเดียมไฮโอเดียมซัลเฟตที่ใช้ (x) ทำสารละลายมาตรฐานโดยใช้ 10 มิลลิลิตร และไอโอดีนความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง นำไปไทเทรตกับโซเดียมไฮโอซัลเฟต 0.10 นอร์มัล แล้วจดปริมาตรของโซเดียมไฮโอซัลเฟตที่ใช้ (b) คำนวณปริมาณอัลดีไฮด์จากสมการที่ 4 โดยมาตรฐานไม่ควรมากกว่า 80 พีพีเอ็ม

$$\text{ปริมาณอัลดีไฮด์ (พีพีเอ็ม)} = (x-b) \times 44 \quad (4)$$

ผลการวิจัย

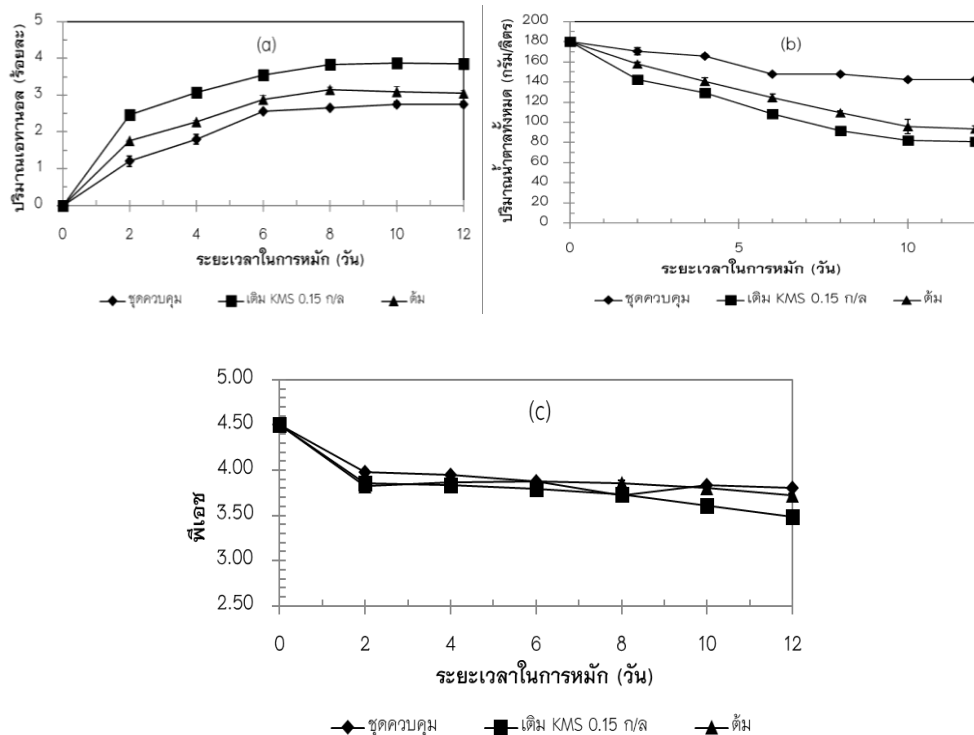
1. ผลการศึกษากรรณวิธีทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อระหว่างการต้มกับการเติม KMS

จากการศึกษากรรณวิธีทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อ 2 กรรณวิธี คือ การต้ม และการเติม KMS ในปริมาณ 0.18 กรัมต่อน้ำเงาะ 1 ลิตร โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่ไม่ทำให้ปลอดเชื้อ แล้วหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5039 ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน และเก็บตัวอย่าง ทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่า การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลทั้งหมด ในช่วงแรกของการหมักเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจะลดลงน้อยเนื่องจากยีสต์ อยู่ในช่วงสภาวะการปรับตัว ให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ ส่งผลให้ไม่สามารถนำน้ำตาลมาผลิตเป็นเอทานอลได้ดีเพียงพอ เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจะลดลงมากขึ้น ดังภาพที่ 1(b) ส่วนค่าพีเอชในการหมักก็จะลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากยีสต์ผลิตกรดลงสู่หมัก ดังภาพที่ 1(c) และเมื่อพิจารณาจากน้ำหมักเงาะที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุด พบว่าวิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อด้วยการเติม KMS เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 12 วัน จะได้น้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำที่มีปริมาณเอทานอลมากที่สุดเท่ากับ 3.85 และโดยความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยการทำให้น้ำเงาะปลอดเชื้อด้วยวิธีการต้มและตัวควบคุมที่ไม่ทำให้ปลอดเชื้อที่มีปริมาณเอทานอลเท่ากับร้อยละ 3.05 และ 2.75 โดยปริมาตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 1(a) ดังนั้นจึงคัดเลือกวิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อด้วยการเติม KMS ลงไปในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร ไว้สำหรับการทดลองขั้นต่อไป

2. ผลการศึกษาวิธีการเตรียมน้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำ

จากการศึกษาวิธีการเตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำจำนวน 2 ลักษณะ คือ การใช้เฉพาะน้ำเงาะคุณภาพต่ำเพียงอย่างเดียว และ การใช้น้ำเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร โดยให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำมาบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้วิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อที่เหมาะสมที่ผ่านคัดเลือก คือ เติมน้ำ KMS ในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร แล้วหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5039 ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน และเก็บตัวอย่าง ทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและค่าพีเอชของน้ำหมักลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานในการสร้างเอทานอล และมีการสร้างกรดอินทรีย์ ซึ่งปล่อยสู่ระบบน้ำหมัก ส่งผลให้ค่า พีเอชลดลงเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ดังภาพที่ 2(b–c) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากน้ำหมักเงาะที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุด พบว่า การหมักน้ำเงาะที่ผสมเนื้อเงาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 3.96 โดยปริมาตร ในวันที่ 8 ของ

การหมัก โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรหมักเฉพาะน้ำเาะ ซึ่งมีให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเพียง ร้อยละ 2.82 โดยมวลต่อปริมาตร ดังภาพที่ 2(a) ผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า การเติมเนื้อเาะลงในน้ำเาะคุณภาพต่ำร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างเอทานอลของยีสต์ได้ เนื่องจากเนื้อเาะยังคงมีน้ำตาลหลงเหลืออยู่ จากกระบวนการบีบคั้น ซึ่งยีสต์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารเพื่อสร้างเอทานอลเพิ่มเติม ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังเป็นการลดต้นทุนและระยะเวลาในการหมัก ดังนั้น การทดลองต่อไปจะเตรียมน้ำเาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร และทำให้น้ำเาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อด้วยการเติม KMS ลงไปในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร

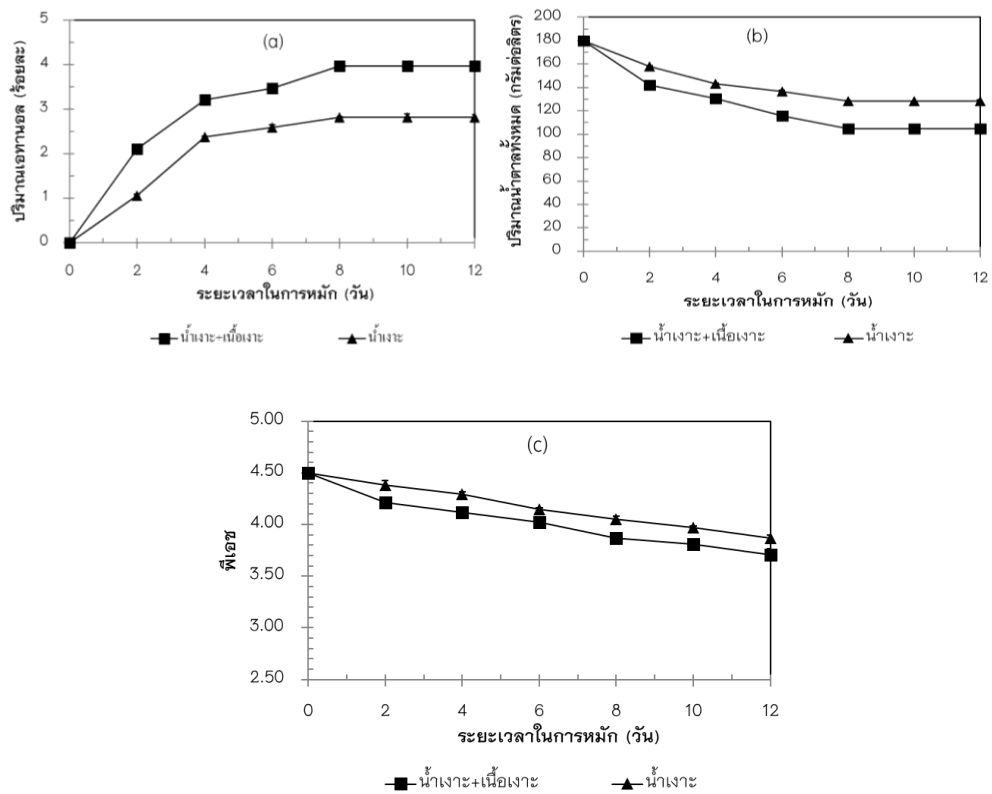


ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล (a) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (b) และค่าพีเอช และ (c) ในน้ำเาะคุณภาพต่ำที่ผ่านการต้มและเติม และหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5339 เป็นระยะเวลา 12 วัน

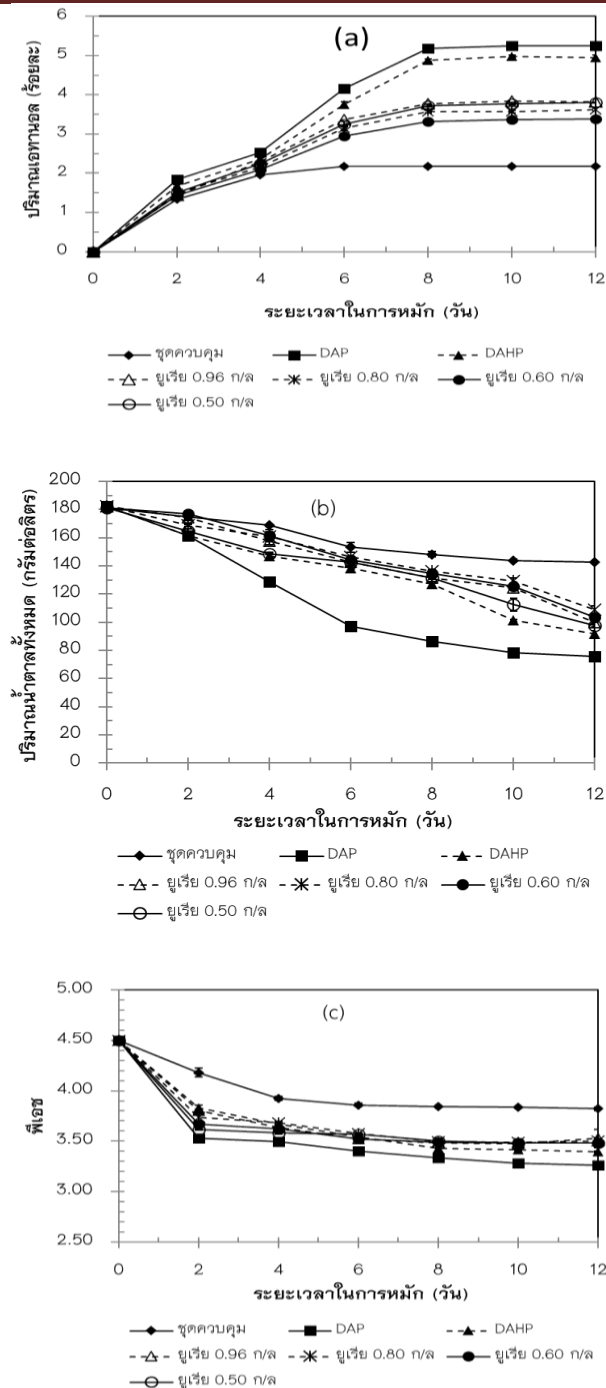
3. ผลการศึกษาการเติมแหล่งไนโตรเจนในน้ำเาะ

การศึกษาการเติมไนโตรเจนลงในน้ำเาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร ได้แก่ DAP 0.96 กรัมต่อลิตร DAHP 0.50 กรัมต่อลิตร และยูเรียในอัตราส่วน 0.96 0.80 0.60 และ 0.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร แล้วนำมาบรรจุ

ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้วิธีการทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อที่เหมาะสมที่ผ่านคัดเลือก คือ เติม KMS ในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร แล้วหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5039 ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน และเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่า ในช่วงต้นของการหมัก ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงเพียงเล็กน้อย เนื่องจากยีสต์อยู่ในช่วงปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ จึงยังไม่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนในการสร้างเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไปความสามารถของยีสต์ในการใช้คาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลลดลงมากขึ้น ขณะเดียวกันค่าพีเอชของน้ำหมักลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากการผลิตกรดอินทรีย์โดยยีสต์ในระหว่างการหมัก ดังภาพที่ 3(b-c) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากน้ำหมักเงาะที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุด พบว่า การเติม DAP ปริมาณ 0.96 กรัมต่อลิตร ลงในน้ำเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะ ร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร มีผลให้เชื้อยีสต์สร้างเอทานอลได้ในปริมาณสูงสุดเท่ากับร้อยละ 5.25 โดยปริมาตร ในวันที่ 10 ของการหมัก และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ การเติมแหล่งไนโตรเจนอื่นทั้งหมด ส่วนการเติม DAHP 0.50 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ปริมาณเอทานอลรองลงมาเท่ากับ ร้อยละ 4.98 โดยปริมาตร ดังภาพที่ 3(d) และยังพบว่าการเติม DAP 0.96 กรัมต่อลิตร มีผลส่งเสริมให้ยีสต์สร้างเอทานอลเพิ่มขึ้นร้อยละ 140.83 โดยปริมาตร เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนซึ่งให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับร้อยละ 2.18 โดยปริมาตร ดังนั้นการทดลองต่อไปจะเตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร เติม DAP 0.96 กรัมต่อลิตร แล้วทำให้น้ำเงาะคุณภาพต่ำปลอดเชื้อด้วยการเติม KMS ลงไปในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล (a) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (b) และค่าพีเอช และ (c) ในน้ำเงาน้ำและน้ำเงาน้ำผสมน้ำเงาน้ำ และหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5339 เป็นระยะเวลา 12 วัน



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล (a) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (b) และค่าพีเอช และ (c) ในน้ำงาเพาะคุณภาพต่ำที่เติมแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ และหมักด้วยเชื้อ *S. Cerevisiae* TISTR 5339 เป็นระยะเวลา 12 วัน

4. ผลการศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ในการหมักเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำ

จากการศึกษาสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. cerevisiae* TISTR 5021 *S. cerevisiae* TISTR 5039 *S. cerevisiae* TISTR 5055 และ *S. cerevisiae* TISTR 5055 มาหมักในน้ำเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร เติม DAP 0.96 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน แล้วทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม KMS ลงไปในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน และเก็บตัวอย่าง ทุกๆ 2 วัน มาวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าพีเอช พบว่า การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากยีสต์ใช้เป็นแหล่งอาหารในการสร้างเอทานอล ดังภาพที่ 4(b) ส่วนค่าพีเอช ก็ลดลงตามระยะเวลาการหมัก อันเป็นผลมาจากการผลิตกรดอินทรีย์ของยีสต์ ดังภาพที่ 4(c) เมื่อพิจารณาความสามารถในการสร้างเอทานอลของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า มีลักษณะการหมักเอทานอลที่คล้ายคลึงกัน โดยในช่วงแรกของการหมักมีการสร้างเอทานอลในปริมาณต่ำ และค่อยๆ เพิ่มการหมักจนได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และที่ระยะเวลาในการหมัก 12 วัน พบว่า ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 สามารถสร้างเอทานอลได้สูงที่สุดที่สุดเท่ากับร้อยละ 5.83 โดยปริมาตร และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์สายพันธุ์ สายพันธุ์อื่น ส่วนยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5021 สามารถสร้างเอทานอลรองลงมาเท่ากับร้อยละ 49.50 โดยปริมาตร ดังภาพที่ 4(a) โดยเงาะคุณภาพต่ำที่ผ่านการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ ที่ระยะเวลา 12 วัน ดังตารางที่ 1

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากน้ำเงาะคุณภาพต่ำในระดับห้องปฏิบัติการ ได้สภาวะที่เหมาะสม ดังนี้ คือ ต้องเตรียมเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะร้อยละ 20 โดยมวลต่อปริมาตร เติม DAP 0.96 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน แล้วทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม KMS ลงไปในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร แล้วหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 12 วัน จะได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดร้อยละ 5.83 โดยปริมาตร แต่ยังคงมีน้ำตาลหลงเหลืออยู่ และไม่ถือว่าเป็นจุดสิ้นสุดของกระบวนการหมักเอทานอล ซึ่งจุดสิ้นสุดการหมักกระบวนการเอทานอลที่แท้จริง คือ ระยะที่ยีสต์ใช้น้ำตาลที่แหล่งคาร์บอนจนหมดและไม่มีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นในการหมักเอทานอลในระดับขยายขนาดก่อนนำมาทำการศึกษาถนอมแยกเอทานอล จะใช้อุปกรณ์กันอากาศมาปิดถึงหมักและสังเกตจนมีระดับน้ำที่คง ถือเป็นจุดสิ้นสุดกระบวนการหมัก

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักเฝ้าคุณภาพต่ำด้วยยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ระยะเวลา 12 วัน

สายพันธุ์ยีสต์	ลักษณะทางกายภาพของน้ำหมัก
ชุดควบคุม	ไม่มีตะกอนเซลล์ น้ำหมักมีลักษณะขุ่น
(สายพันธุ์ธรรมชาติ-ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ)	เกิดฟองก๊าซจำนวนมาก
<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5021	น้ำหมักใส มีตะกอนเซลล์เล็กน้อยบริเวณก้นขวด
	เกิดฟองอากาศน้อย
<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5055	น้ำหมักใส มีตะกอนเซลล์บริเวณก้นขวด
	เกิดฟองอากาศน้อย
<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	น้ำหมักใส มีตะกอนเซลล์บริเวณก้นขวด
	เกิดฟองอากาศน้อย
<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5339	น้ำหมักใส มีตะกอนเซลล์มากบริเวณก้นขวด
	เกิดฟองอากาศจำนวนมาก

5. ผลการศึกษากระบวนการกลั่นแยกเอทานอลจากการหมักให้ได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 50 และร้อยละ 95 โดยปริมาตร

จากการนำสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากน้ำเฝ้าคุณภาพต่ำในระดับห้องปฏิบัติการมาขยายขนาดการหมักโดยเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 18 ลิตร ในถังหมักขนาด 20 ลิตร แล้วทำการหมักจนสิ้นสุดการหมัก ผลการทดลองพบว่า ใช้ระยะเวลาในการหมักนานถึง 21 วัน ได้น้ำหมักเฝ้าคุณภาพต่ำที่มีปริมาณเอทานอลสุดท้ายเท่ากับร้อยละ 8.83 โดยปริมาตร ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลงเหลือในปริมาณเล็กน้อยเท่ากับ 19.50 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังว่าในน้ำหมักมีปริมาณฟอสเฟตเท่ากับ 0.08 กรัมต่อลิตร และอัลดีไฮด์เท่ากับ 23.47 พีพีเอ็ม ดังตารางที่ 2

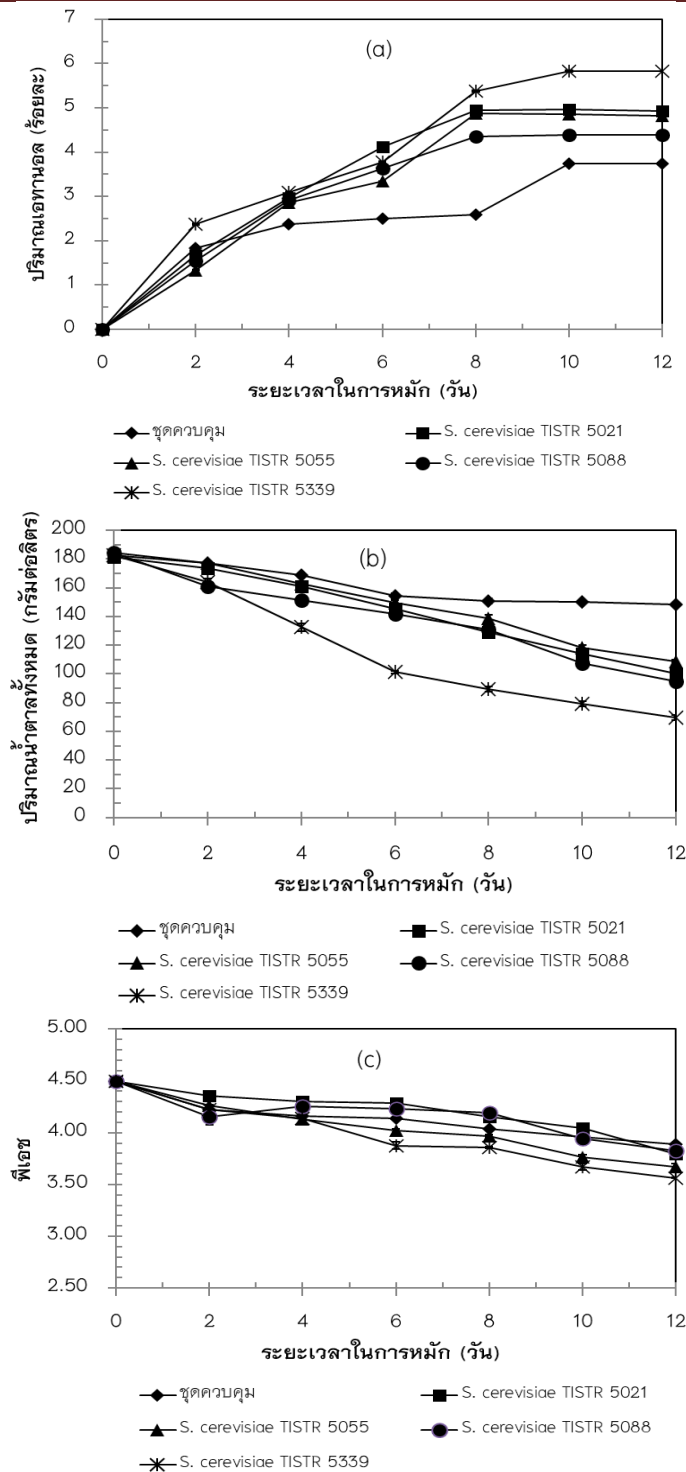
เมื่อนำเอทานอลที่หมักได้จากการหมัก 21 วัน ในปริมาตรเริ่มต้น 18 ลิตร ไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นแบบลำดับส่วนที่อุณหภูมิ 80 90 และ 92 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งให้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50.20 โดยปริมาตร และได้ปริมาตรเอทานอล 5.56 ลิตร คิดเป็นผลผลิต 55.60 ของปริมาตรน้ำหมักเริ่มต้น ดังตารางที่ 3 เมื่อนำเอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 50 โดยปริมาตร มาทำการกลั่นซ้ำโดยใช้เครื่องกลั่นลำดับส่วนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จำนวน 4 รอบ พบว่า เอทานอลที่ได้มีความเข้มข้นสูงที่สุดถึงร้อยละ 95 โดยปริมาตร หลังการกลั่นรอบที่ 4 โดยมีผลผลิต 40 ของปริมาตรเอทานอลเริ่มต้น ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล กรดทั้งหมด น้ำตาลทั้งหมด ฟิวเซลอย และ อัลดีไฮด์ ระหว่างหมักน้ำเงาะคุณภาพต่ำด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 ในถังหมักขนาด 20 ลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณ เอทานอล (ร้อยละโดย ปริมาตร)	ปริมาณกรด ทั้งหมด (ร้อยละ โดย ปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาล ทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	ฟิวเซลอย (กรัมต่อ ลิตร)	อัลดีไฮด์ (พีพีเอ็ม)
0	0.00±0.00	10.13±0.06	182.50±0.09	0.06±0.00	0.00±0.00
7	5.03±0.04	6.09±0.01	92.20±0.57	0.10±0.02	68.64±0.76
14	7.75±0.05	5.14±0.04	59.40±0.18	0.09±0.05	43.41±0.21
21	8.83±0.02	4.24±0.03	19.50±0.15	0.08±0.04	23.47±0.25

ตารางที่ 3 ปริมาตร ความเข้มข้น และผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการกลั่นซ้ำที่อุณหภูมิต่างๆ ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร

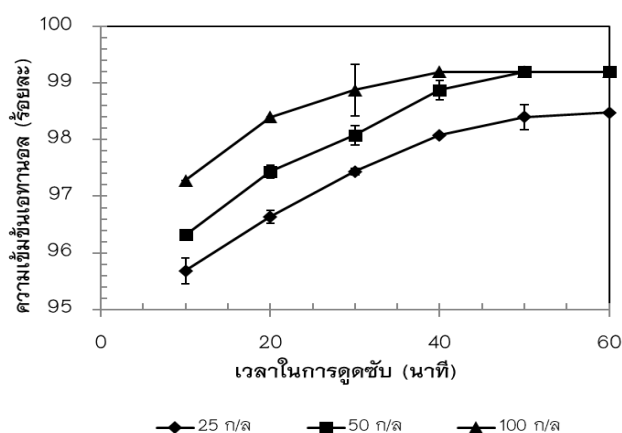
อุณหภูมิที่กลั่น (°C)	ความเข้มข้น เอทานอล (ร้อยละ โดยปริมาตร)	ปริมาตรเอทานอล ที่กลั่นได้ (ลิตร)	ผลผลิตเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
80	68.00±0.60	3.05±0.11	30.50
90	50.20±0.40	5.56±0.05	55.60
92	38.42±0.30	6.35±0.08	63.50



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล (a) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (b) และค่าพีเอช (c) ในน้ำเฆาะคุณภาพต่ำที่หมักด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 วัน

ตารางที่ 4 ปริมาตร ความเข้มข้น และผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการกลั่นซ้ำในแต่ละรอบ
 ให้มีความเข้มข้น ร้อยละ 95 โดยปริมาตร

จำนวนรอบ ที่กลั่น	ความเข้มข้น เอทานอล (ร้อยละ โดยปริมาตร)	ปริมาตรเอทานอล ที่กลั่นได้ (ลิตร)	ผลผลิตเอทานอล (ร้อยละ โดยปริมาตร)
(เริ่มต้น)	50.20±0.40	5.56±0.05	–
1	80.00±0.12	4.28±0.01	77
2	89.00±0.02	2.27±0.03	53
3	91.00±0.05	1.20±0.01	47
4	95.00±0.03	0.48±0.05	40



ภาพที่ 5 ความเข้มข้นเอทานอล (ร้อยละ) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อใช้โมเลกุลาร์ซีฟในปริมาณ 25 50 และ 100 กรัมต่อลิตร ณ ระยะเวลาต่างๆ

6. ผลการศึกษาการทำให้บริสุทธิ์ด้วยกรรมวิธีในการแยกน้ำโดยการใชโมเลกุลาร์ซีฟ

ผลจากการนำเอทานอลที่ได้จากกระบวนการกลั่น มาศึกษาการแยกน้ำที่เหลือออก โดยใช้เทคนิคการดูดซับด้วยโมเลกุลาร์ซีฟชนิดซีโอไลต์ ที่บรรจุในคอลัมน์ในปริมาณที่ใช้ศึกษา ต่างๆ คือ 0.25 0.50 และ 1 กรัม แล้วป้อนให้เอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร (เข้มข้นเบื้องต้น ร้อยละ 95 โดยปริมาตร ไหลวนผ่านตัวดูดซับอย่างต่อเนื่องภายในระบบปิด จากนั้นเก็บตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอลในช่วงเวลา 10 20 30 40 50 และ 60 นาที ผลการทดลอง พบว่า การเพิ่มปริมาณโมเลกุลาร์ซีฟส่งผลให้ประสิทธิภาพในการแยกน้ำออกจากเอทานอล เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเมื่อใช้โมเลกุลาร์ซีฟในปริมาณ 1 กรัม (เทียบเท่ากับ 1 กรัมต่อเอทานอล 100 มิลลิลิตร) สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้สูงสุดถึง ร้อยละ 99.20 โดยปริมาตร

ภายในเวลา 40 นาที ดังภาพที่ 5 เอทานอลที่มีความเข้มข้นระดับนี้สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมพลังงาน เช่น การผสมกับน้ำมันเบนซินเพื่อผลิตน้ำมันแก๊สโซฮอล์ ซึ่งมีความเหมาะสมในเชิงพาณิชย์และสามารถนำไปใช้ทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงฟอสซิลได้

อภิปรายผล

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำ พบว่าหลายปัจจัยมีผลต่อประสิทธิภาพการหมัก ได้แก่ วิธีการทำให้วัตถุดิบปลอดเชื้อ องค์ประกอบของวัตถุดิบ ชนิดของแหล่งไนโตรเจน สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ และกระบวนการกลั่นและทำให้บริสุทธิ์ ผลการศึกษา พบว่า การเติม KMS ในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ความร้อนในการทำให้น้ำเงาะปลอดเชื้อ โดยสามารถให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 3.85 โดยปริมาตร ภายหลังจากการหมัก 12 วัน ขณะที่การต้มให้ผลเพียง ร้อยละ 3.05 โดยปริมาตร แสดงให้เห็นว่า KMS สามารถควบคุมจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ดีกว่าและช่วยรักษาน้ำตาลให้พร้อมสำหรับการใช้ของยีสต์ ส่งผลต่อปริมาณเอทานอลที่ได้โดยตรง (Afedzi et al., 2023; Granjo et al., 2020) การเตรียมน้ำเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะ ร้อยละ 20 โดยมีผลต่อปริมาตรส่งผลให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับร้อยละ 3.96 โดยปริมาตร เทียบกับเพียงการหมักที่ใช้น้ำเงาะเพียงอย่างเดียวที่ได้ปริมาณเอทานอลเพียงร้อยละ 2.82 โดยปริมาตร ซึ่งการผสมเนื้อจะเป็นการเพิ่มแหล่งอาหารคาร์บอนให้กับยีสต์ ทำให้ช่วยมีการเพิ่มอัตราการสร้างเอทานอลของยีสต์อีกทางหนึ่งด้วย และยังเป็นการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบเหลือทิ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kamsuwan et al., 2023; Silva & Corseuil, 2012; Zheng et al., 2013) การเติม DAP ในปริมาณ 0.96 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดที่สุดในการเสริมการสร้างเอทานอลของยีสต์ ซึ่งได้โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับร้อยละ 5.25 โดยปริมาตร ขณะที่ DAHP และยูเรียให้ผลรองลงมาตามลำดับ จะเห็นว่าประเภทและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการกระตุ้นการเจริญของยีสต์และการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล โดยเฉพาะในช่วงการปรับตัวเริ่มต้นของการหมัก (Erkan, Coban, & Turhan, 2022; Fang et al., 2025) ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 มีประสิทธิภาพในการสร้างเอทานอลดีที่สุดที่สุดในบรรดาสายพันธุ์ยีสต์ที่ศึกษา โดยให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับร้อยละ 5.83 โดยปริมาตร ภายในวันที่ 12 ของการหมัก สอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักที่มีตะกอนเซลล์จำนวนมากและเกิดฟองอากาศจำนวนมาก แสดงให้เห็นถึงกิจกรรมการเมตาบอลิซึมที่สูงของสายพันธุ์ยีสต์และเป็นผลให้มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาล ฟิเอซ และการสร้างเอทานอลในกระบวนการหมัก การหมักในระดับขยายขนาดการหมักโดยเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 18 ลิตร ในถังหมักขนาด 20 ลิตร จะเพิ่มระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นเป็น 21 วัน สามารถหมักได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 8.83 โดยปริมาตร โดยมีน้ำตาลทั้งหมดเหลือเพียง 19.50 กรัมต่อลิตร

ซึ่งถือเป็น จุดสิ้นสุดของกระบวนการหมักที่สมบูรณ์ การกลั่นเอทานอลด้วยเครื่องกลั่นลำดับส่วน ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ให้ผลดีที่สุดโดยให้เอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 50.20 โดยปริมาตรและผลผลิตร้อยละ 55.60 โดยปริมาตรเมื่อกลั่นซ้ำ 4 รอบ ความเข้มข้นเพิ่มเป็น ร้อยละ 95 โดยปริมาตร โดยมีผลผลิตสุทธิเท่ากับร้อยละ 40 โดยปริมาตรสะท้อนถึงความสำคัญของการควบคุมอุณหภูมิและจำนวนรอบการกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์ การใช้โมเลกุลาร์ซีฟชนิดซีโอไลต์เพื่อแยกน้ำออกจากเอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร พบว่า การเพิ่มปริมาณตัวดูดซับช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกน้ำ โดยปริมาณ 1 กรัม (เทียบเท่ากับ 1 กรัมต่อเอทานอล 100 มิลลิลิตร) สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้สูงสุดถึงร้อยละ 99.20 โดยปริมาตรภายใน 40 นาที ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นขั้นตอนสุดท้ายเพื่อเตรียมเอทานอลบริสุทธิ์สำหรับใช้เป็นเชื้อเพลิงผสมในอุตสาหกรรมน้ำมันและพลังงานทดแทน เช่น น้ำมันแก๊สโซฮอล์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาเรื่องผลิตเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน (แก๊สโซฮอล์) เพื่อการพัฒนาระบบต้นแบบระดับกึ่งอุตสาหกรรมสามารถสรุปว่าสถานะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากเงาะคุณภาพต่ำในระดับห้องปฏิบัติการ คือ การเตรียมเงาะคุณภาพต่ำที่ผสมเนื้อเงาะ ร้อยละ 20 โดยมีมวลต่อปริมาตร เดิม DAP 0.96 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน แล้วทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม KMS ลงไปในปริมาณ 0.18 กรัมต่อลิตร แล้วหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 วัน ได้น้ำหมักเงาะคุณภาพต่ำที่มีปริมาณเอทานอลสุดท้ายเท่ากับ ร้อยละ 5.83 โดยปริมาตร เมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 12 วัน สถานะที่เหมาะสมในการกลั่นเอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำเงาะคุณภาพต่ำ โดยใช้เครื่องกลั่นลำดับส่วนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส จะได้เอทานอลที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 50 โดยปริมาตรคิดเป็นผลผลิตเอทานอลต่อปริมาตรน้ำหมักเริ่มต้นเท่ากับ ร้อยละ 55.60 โดยปริมาตร การกลั่นเอทานอลจากความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร ให้ได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร จะต้องทำการกลั่นซ้ำ จำนวน 4 รอบ คิดเป็นผลผลิตเอทานอลที่กลั่นได้/ปริมาตรเอทานอลเริ่มต้น (ความเข้มข้น ร้อยละ 50 โดยปริมาตร) เท่ากับ 40 และการใช้โมเลกุลาร์ซีฟในปริมาณ 1 กรัม (เทียบเท่ากับ 1 กรัมต่อเอทานอล 100 มิลลิลิตร) สามารถแยกน้ำและทำให้เอทานอลมีความเข้มข้นสูงสุดได้ถึงร้อยละ 99.20 โดยปริมาตร โดยใช้เวลาในการดูดซับนาน 40 นาที

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยเป็นอย่างยิ่งที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในการดำเนินโครงการนี้ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เอื้ออำนวยให้การดำเนินงานวิจัยเป็นไปอย่างราบรื่นและบรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ ขอขอบพระคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ที่เอื้อเพื่อห้องปฏิบัติการสำหรับการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. (1990). **Official methods of analysis: The association of official analytical chemists**. Virginia: Arlington.
- Afedzi, A.E.K., Rattanaporn, K., Sultan, I.N., Khan, M.W., Tareen, A.K., & Parakulsuksatid, P. (2023). Comparison of marine and rushton impeller in high solid loading of two-step pretreated oil palm trunk using simultaneous saccharification and fermentation for ethanol production. **Results in Engineering**, **19**, 101273.
- Devi, A., Singh, A., Bajar, S., Pant, D., & Din, Z.U. (2021). Ethanol from lignocellulosic biomass: An in-depth analysis of pre-treatment methods, fermentation approaches and detoxification processes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, **9**(5), 105798.
- Erkan, S.B., Coban, H.B., & Turhan, I. (2022). Evaluation of the inhibitory effect of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) on ethanol fermentation by using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in stirred-tank bioreactor and mathematical modeling. **Fuel**, **317**, 123499.
- Fang, R., Xia, T., Wu, S., He, J., & Xiao, G. (2025). Btn2p influences arginine metabolism and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* during *Huangjiu* fermentation. **Food Bioscience**, **65**, 105958.
- Granjo, J.F.O., Nunes, D.S., Duarte, B.P.M., & Oliveira, N.M.C. (2020). A comparison of process alternatives for energy-efficient bioethanol downstream processing. **Separation and Purification Technology**, **238**, 116414.
- Kamsuwan, C., Tanprasert, S., Nimmanterdwong, P., Piemjaiswang, R., Saencharee, K., Pumchumpol, T., & Chalermisinsuwan, B. (2023). Process simulation of cassava cellulosic ethanol production with low to medium-pressure steam heat integration. **Energy Reports**, **9**, 11–17.
- Khanpanuek, S., Lunprom, S., Reungsang, A., & Salakkam, A. (2022). Repeated-batch simultaneous saccharification and fermentation of cassava pulp for ethanol production using amylases and *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on bacterial cellulose. **Biochemical Engineering Journal**, **177**, 108258.
- Kiatkittipong, W., Thipsunet, P., Goto, S., Chaisuk, C., Praserttham, P., & Assabumrungrat, S. (2008). Simultaneous enhancement of ethanol supplement in gasoline and its quality improvement. **Fuel Processing Technology**, **89**(12), 1365–1370.
- Mogg, R. (2004). Biofuels in Asia: Thailand relaunches ‘Gasohol’ for automotive use. **Refocus**, **5**(3), 44–47.

- Nomura, M., Bin, T., & Nakao, S.-i. (2002). Selective ethanol extraction from fermentation broth using a silicalite membrane. **Separation and Purification Technology**, **27**(1), 59–66.
- Rattanapan, A., Limtong, S., & Phisalaphong, M. (2011). Ethanol production by repeated batch and continuous fermentations of blackstrap molasses using immobilized yeast cells on thin-shell silk cocoons. **Applied Energy**, **88**(12), 4400–4404.
- Salakkam, A., Phukoetphim, N., Laopaiboon, P., & Laopaiboon, L. (2023). Mathematical modeling of bioethanol production from sweet sorghum juice under high gravity fermentation: Applicability of Monod-based, logistic, modified Gompertz and Weibull models. **Electronic Journal of Biotechnology**, **64**, 18–26.
- Silva, M.L.B. d., & Corseuil, H.X. (2012). Groundwater microbial analysis to assess enhanced BTEX biodegradation by nitrate injection at a gasohol-contaminated site. **International Biodeterioration & Biodegradation**, **67**, 21–27.
- Siriwong, T., Laimeheriwa, B., Aini, U.N., Cahyanto, M.N., Reungsang, A., & Salakkam, A. (2019). Cold hydrolysis of cassava pulp and its use in simultaneous saccharification and fermentation (SSF) process for ethanol fermentation. **Journal of Biotechnology**, **292**, 57–63.
- Sripotorn, B., Laopaiboon, P., Phukoetphim, N., Uppatcha, N., Phuphalai, W., & Laopaiboon, L. (2021). Very high gravity ethanol fermentation from sweet sorghum stem juice using a stirred tank bioreactor coupled with a column bioreactor. **Journal of Biotechnology**, **332**, 1–10.
- Wang, W., Porninta, K., Aggarangsi, P., Leksawasdi, N., Li, L., Chen, X., Zhuang, X., Yuan, Z., & Qi, W. (2021). Bioenergy development in Thailand based on the potential estimation from crop residues and livestock manures. **Biomass and Bioenergy**, **144**, 105914.
- Wu, X., Zhang, J., Xu, E., Liu, Y., Cheng, Y., Addy, M., Zhou, W., Griffith, R., Chen, P., & Ruan, R. (2016). Microbial hydrolysis and fermentation of rice straw for ethanol production. **Fuel**, **180**, 679–686.
- Zheng, Y., Lee, C., Yu, C., Cheng, Y.-S., Zhang, R., Jenkins, B.M., & VanderGheynst, J.S. (2013). Dilute acid pretreatment and fermentation of sugar beet pulp to ethanol. **Applied Energy**, **105**, 1–7.