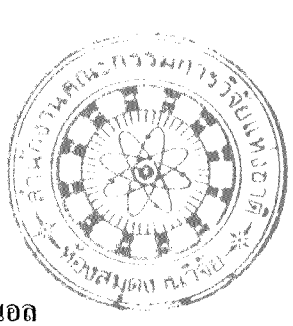
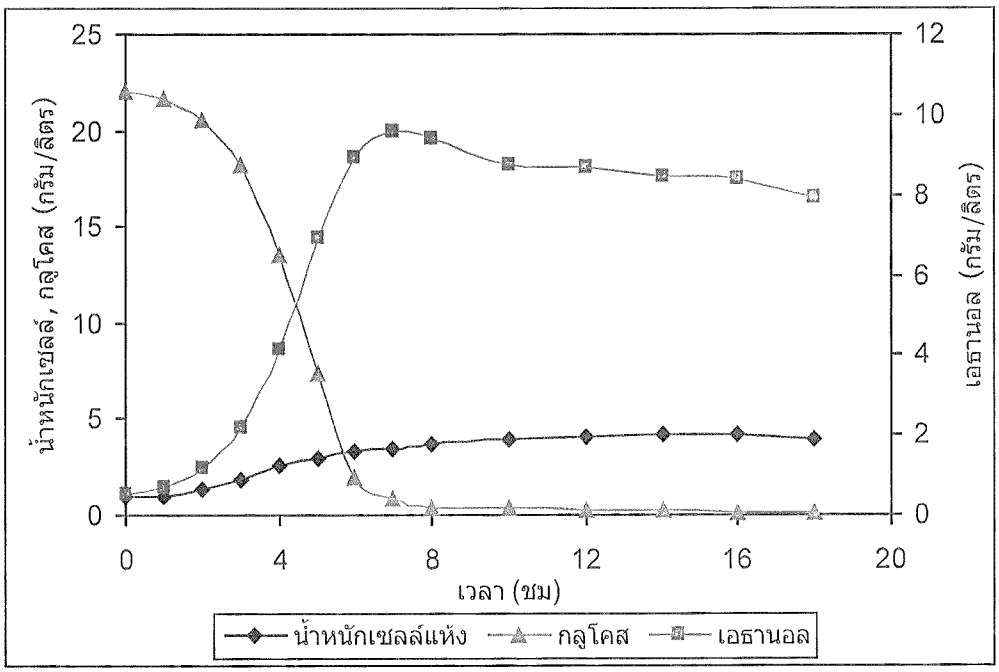


ผลการทดลอง

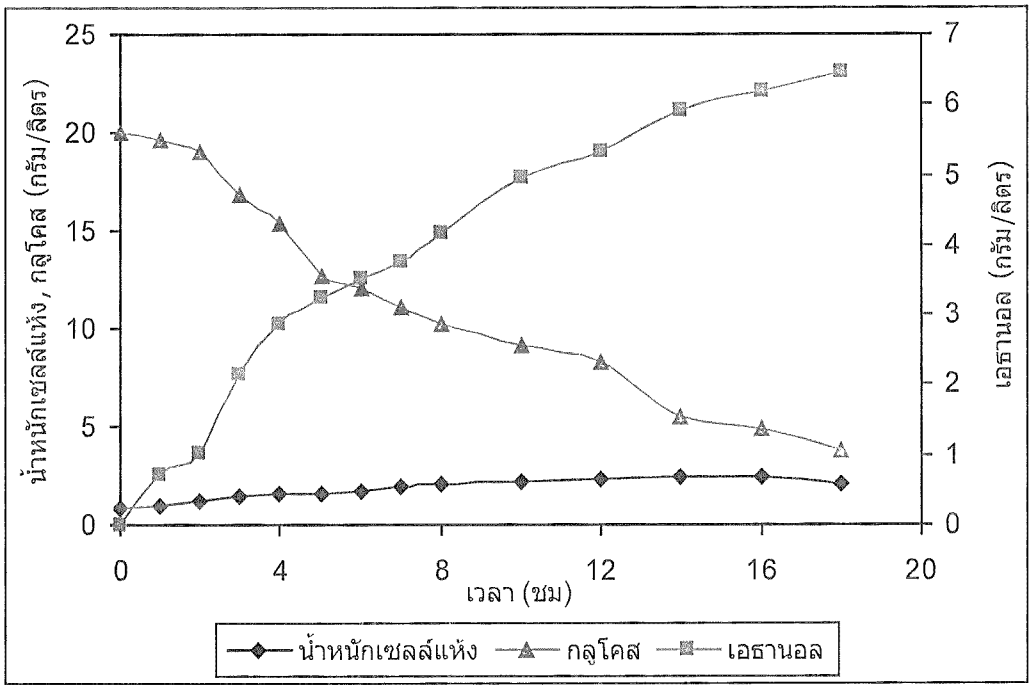
ผลการศึกษาสูตรอาหารและเชื้อยีสต์ที่ใช้น้ำตาลเฮกโซสในการผลิตเอทานอล

การศึกษาสูตรอาหารและเชื้อยีสต์ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตเอทานอลซึ่งมีเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 และ *S. diastaticus* 5547 โดยอาหารที่ใช้มี 2 สูตร ซึ่งผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 3-6 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) Yx/s (ผลได้ของเซลล์จากน้ำตาล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากน้ำตาล) และผลการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* 5048 และ *S. fibuligera* 2321 ดังแสดงในตารางที่ 4

การศึกษาสูตรอาหารเพื่อเป็นการนำสูตรอาหารที่เหมาะสมมาใช้กับการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่นำมาศึกษาซึ่งได้แก่เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 และ *S. diastaticus* 5547 ในน้ำตาลกลูโคสเพื่อเป็นการศึกษาเชื้อยีสต์ที่สามารถใช้สูตรอาหารที่เหมาะสมและนำไปผลิตเอทานอลให้ได้ปริมาณมาก ซึ่งจากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 และ *S. diastaticus* 5547 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้ง 2 สูตร มีค่า $Y_{x/s}$ ที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อพิจารณาค่า Yp/s รวมถึงปริมาณของเอทานอลสูงสุดที่ผลิตได้จากเชื้อ *S. cerevisiae* 5049 ในอาหารสูตรที่ 1 และ *S. diastaticus* 5547 ในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 เป็น 9.55 9.02 และ 9.20 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 12, 14-15) ขณะที่เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 ในอาหารสูตรที่ 2 ให้ค่า $Y_{p/s}$ และปริมาณของเอทานอลสูงสุดที่ผลิตได้เพียง 6.44 กรัม/ลิตร (ภาพที่ 13) ซึ่งเมื่อนำเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 และ *S. diastaticus* 5547 ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 จะมีการนำน้ำตาลไปใช้ในการผลิตเอทานอลช้ากว่าในสูตรอาหารที่ 1 ทั้งนี้เมื่อพิจารณาเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 ในสูตรอาหารที่ 2 เมื่อเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลืออยู่ยังคงสูงถึง 3.76 กรัม/ลิตร (ภาพที่ 13) ในขณะที่สูตรอาหารที่ 1 มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดต่ำลงในชั่วโมงที่ 8 และเหลือเพียง 0.11 กรัม/ลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมัก (ภาพที่ 3) ส่วนเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 ปริมาณน้ำตาลลดต่ำลงภายใน 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 14) ซึ่งปริมาณของน้ำตาลที่เหลืออยู่เพียง 0.11 กรัม/ลิตร ขณะที่เมื่อนำเชื้อยีสต์ดังกล่าวไปเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 ปริมาณน้ำตาลจะลดต่ำลงภายใน 16 ชั่วโมง (ภาพที่ 15) โดยปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลืออยู่เป็น 0.33 กรัม/ลิตร เมื่อพิจารณาจากค่า Q_E ของเชื้อยีสต์ทั้ง 2 ชนิด ในอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 ในอาหารสูตรที่ 2 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ต่ำที่สุด ขณะที่เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 ในสูตรอาหารที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดซึ่งสูงกว่าเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 ที่มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากัน และ *S. cerevisiae* 5049 ในสูตรอาหารที่ 2 ตามลำดับ ซึ่งหมายถึงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 ในสูตรอาหารที่ 1 มีความสามารถในการเจริญได้เร็วกว่าเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 และ *S. cerevisiae* 5049 ในอาหารสูตรที่ 2 ตามลำดับ



ภาพที่ 12 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* 5049 ในน้ำตาลกลูโคสโดยใช้อาหารสูตรที่ 1 มาจากตาราง ข.1

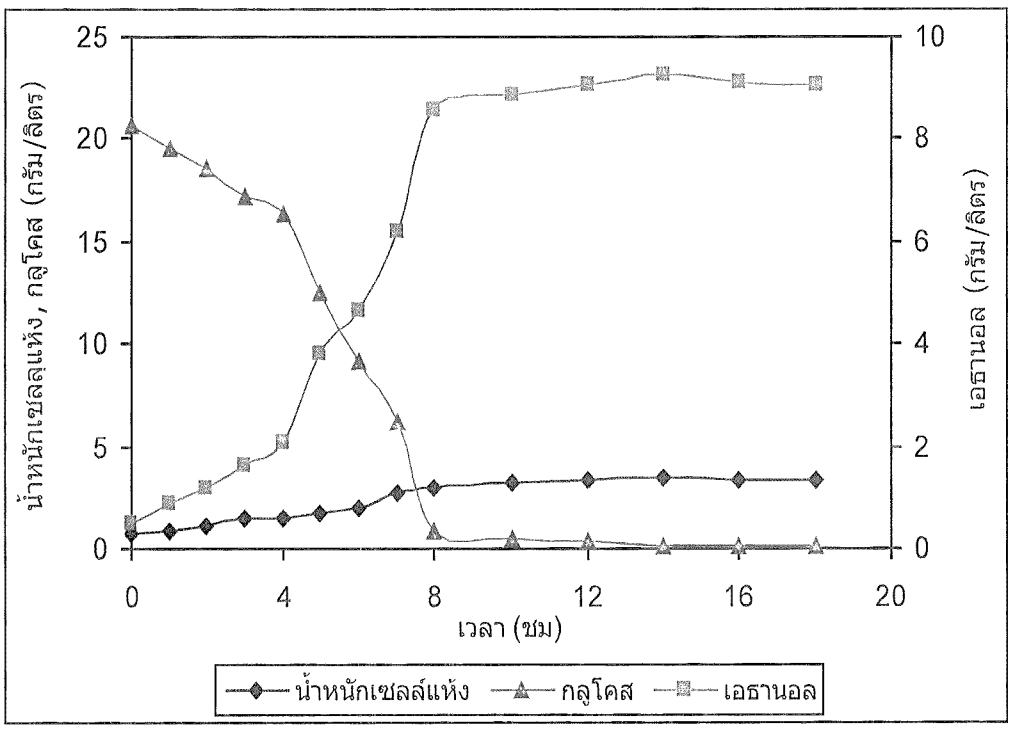


ภาพที่ 13 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* 5049 ในน้ำตาลกลูโคสโดยใช้อาหารสูตรที่ 2 มาจากตาราง ข.2

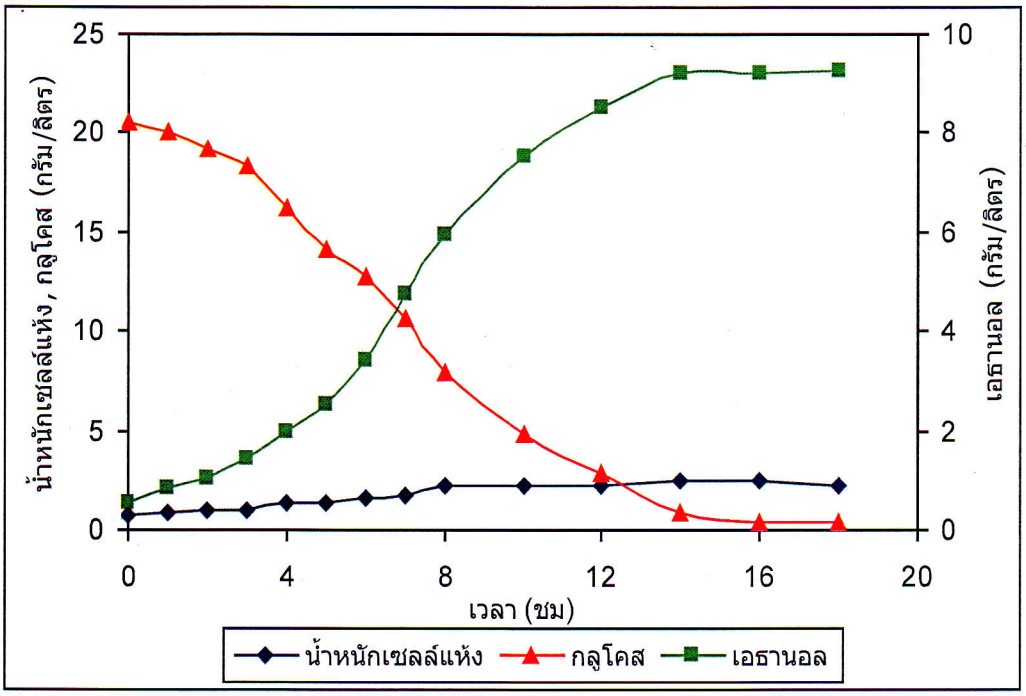
เนื่องจากเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049 ในอาหารสูตรที่ 1 และเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ในอาหารทั้ง 2 สูตร ให้ปริมาณเอทานอลที่หมักจากน้ำตาลกลูโคสสูงใกล้เคียงกันและเมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบของสารอาหารที่มีในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 สูตร พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 ที่มีการเพิ่มปริมาณของสารอาหาร $(NH_4)_2SO_4$ แต่ลดปริมาณของ KH_2PO_4, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และ Yeast extract ให้น้อยกว่าในสูตรอาหารที่ 1 และเมื่อนำสูตรอาหารที่ 2 ไปเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 พบว่าเชื้อยีสต์สามารถใช้สูตรอาหารดังกล่าวในการผลิตเอทานอลสูงใกล้เคียงกับอาหารสูตรที่ 1ซึ่งใช้ปริมาณสารอาหารที่มากกว่าดังนั้นจากผลการทดลองจึงทำการศึกษาสูตรอาหารที่ 2 และเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ที่ให้ค่า yield เป็น 0.44 กรัม/กรัม มาใช้ในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเฮกโซส ทั้งนี้เพื่อเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิตเอทานอล

การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังการหมักแบบ SHF จากเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์

จากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลแบบ SHF จากเชื้อยีสต์ ผลแสดงดังภาพที่ 6 พบว่าการใช้เชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ให้อัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.161 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ การใช้เชื้อยีสต์เดี่ยวสายพันธุ์ *S. fibuligera* 2321 ให้อัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.068 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังตารางที่ 4 จากการทดลอง จะเห็นได้ว่าการใช้เชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ในการผลิตเอทานอลแบบ SHF จะทำให้ได้อัตราการผลิตเอทานอลต่อชั่วโมงสูงกว่าการใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์อื่น



ภาพที่ 14 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. diastaticus* 5547 ในน้ำตาลกลูโคสโดยใช้อาหารสูตรที่ 1 มาจากตาราง ข.3



ภาพที่ 15 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. diastaticus* 5547 ในน้ำตาลกลูโคสโดยใช้อาหารสูตรที่ 2 มาจากตาราง ข.4

ผลจากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าอะไมโลไลติคยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ให้ผลผลิตเอทานอลได้สูงกว่ายีสต์ปกติและอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์อื่น *S. fibuligera* 2321 การคำนวณค่า $Y_{p/s}$ คำนวนจากปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดและย่อยด้วยเอนไซม์ คิดเป็น 8.47 กรัม/ลิตร

ตารางที่ 3 ค่าพารามิเตอร์จากการศึกษาสูตรอาหารทั้ง 2 สูตรและเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 5049, *S. cerevisiae* 5048 และ *S. diastaticus* 5547 ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตเอทานอล

อาหารสูตรที่	เชื้อยีสต์	Q_E	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$
1	*S. cerevisiae* 5049	0.55	0.11	0.43
2	*S. cerevisiae* 5049	0.19	0.11	0.35
1	*S. diastaticus* 5547	0.30	0.12	0.42
2	*S. diastaticus* 5547	0.30	0.09	0.44
1	*S. cerevisiae* 5048	0.45	0.15	0.41
2	*S. cerevisiae* 5048	0.47	0.12	0.35
1	*S. fibuligera* 2321	0.35	0.14	0.33
2	*S. fibuligera* 2321	0.39	0.12	0.35

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

$Y_{x/s}$ Cell mass per total sugar (g/g)

$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total sugar)$^{-1}$)

การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลัง

ภาพที่ 16 กากมันสำปะหลัง (a) และกากมันสำปะหลังบดละเอียด (b)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลสและ แป้งในกากมันสำปะหลัง

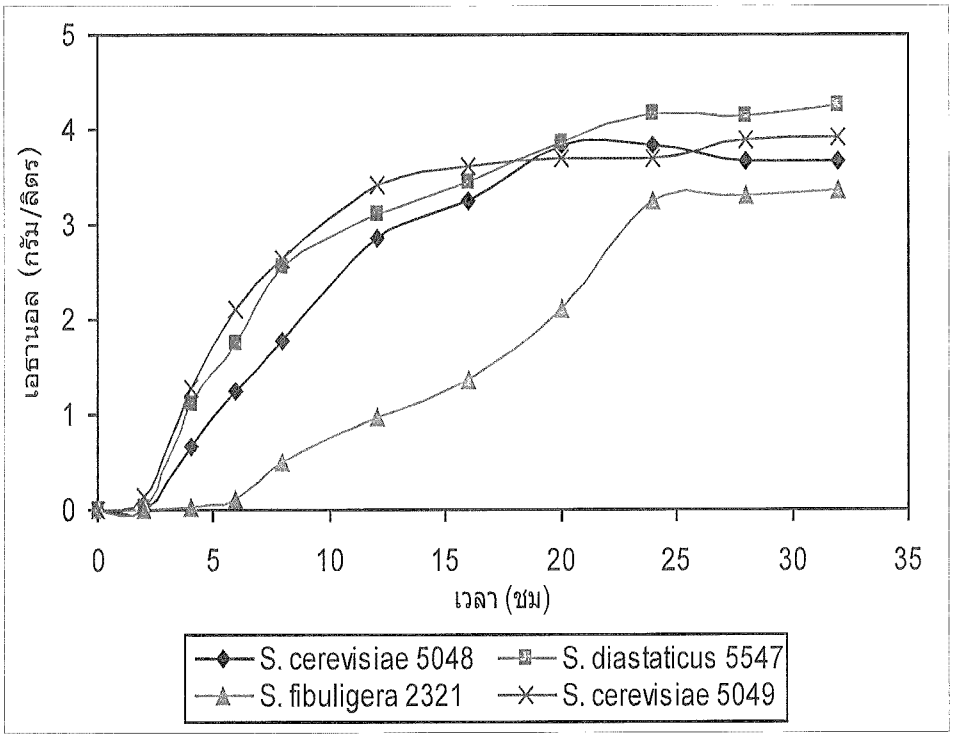
องค์ประกอบทางเคมี	(% โดยน้ำหนักแห้ง)
แป้ง	58.02 ± 3.20
เซลลูโลส	14.35 ± 2.26
เฮมิเซลลูโลส	7.41 ± 2.16
ลิกนิน	3.62 ± 1.27
ความชื้น	11.40 ± 0.15

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังแสดงในตารางที่ 4 องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังส่วนใหญ่เป็นประกอบด้วยแป้งดังนั้น ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างกากมันสำปะหลังสำหรับการหมักจะนำกากมันสำปะหลังมาบดด้วยเครื่องบดแห้งอย่างละเอียดคือ ultracentrifugal mill ผลของการบดแห้งจะได้ขนาดของเม็ดแป้งบด 45-637 ไมครอน การบดนี้เป็นการพรีทรีตเมนต์ทางกายภาพกากมันสำปะหลังวิธีหนึ่งโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายโครงสร้างของเม็ดแป้งและลิกโนเซลลูโลสที่ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการย่อยสลายโดยการปฏิกิริยากับเอนไซม์ให้เป็นน้ำตาล เพื่อใช้ในการหมักให้สูงขึ้น

การศึกษาการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังการหมักแบบ SHF ด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ

การหมักโดยวิธี SHF ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* 5048, *S. diastaticus* 5547, *S. fibuligera* 2321 และ *S. cerevisiae* 5049 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ ทำการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วย เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ทั้งหมด กลูโคส เอทานอลพบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้ในการหมักที่เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณลดลง แสดงดังภาพที่ 18 โดย *S. diastaticus* 5547 ผลิตปริมาณเอทานอลสูงสุดได้ เท่ากับ 4.26 กรัม/ลิตร C_E (g (g-biomass)$^{-1}$) หรือ C_E มีค่าเท่ากับ 0.284 และ $Y_{p/s}$ (g (g-total sugar)$^{-1}$) มีค่าเท่ากับ 0.503 ดังตารางที่ 5

ผลการศึกษานี้จึงแสดงว่า อะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. diastaticus* 5547 สามารถเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยระบบ SHF ได้สูงกว่าเชื้อยีสต์ปกติ 2 สายพันธุ์ และอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. fibuligera* 2321 ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน



ภาพที่ 17 การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังในการหมักแบบ SHF จากเชื้อยีสต์เดี่ยวสายพันธุ์ *S. cerevisiae* 5048, *S. diastaticus* 5547, *S. fibuligera* 2321 และ *S. cerevisiae* 5049 มาจากตาราง ข.5

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังการหมักแบบ SHF

Strain	C_E	P_{max}	Q_E	$Y_{p/s}$
S. cerevisiae 5048	0.245	3.67	0.275	0.433
S. diastaticus 5547	0.284	4.26	0.315	0.503
S. fibuligera 2321	0.225	3.37	0.185	0.398
S. cerevisiae 5049	0.261	3.92	0.405	0.463

C_E Ethanol yield per unit biomass (g (g-biomass)$^{-1}$)

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

P_{max} Maximum ethanol production (g/L)

$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total sugar)$^{-1}$)

จากผลการศึกษาแสดงว่าอะไมโลไลติคยีสต์ *S. diastaticus* 5547 สามารถเพิ่มผลผลิตได้สูงกว่ายีสต์ปกติ *S. cerevisiae* 5048 และ *S. cerevisiae* 5049 ในระบบการหมักแบบ SHF ซึ่งใช้แอนไซม์ผสมของ แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ซึ่งย่อยสลายกากมัน

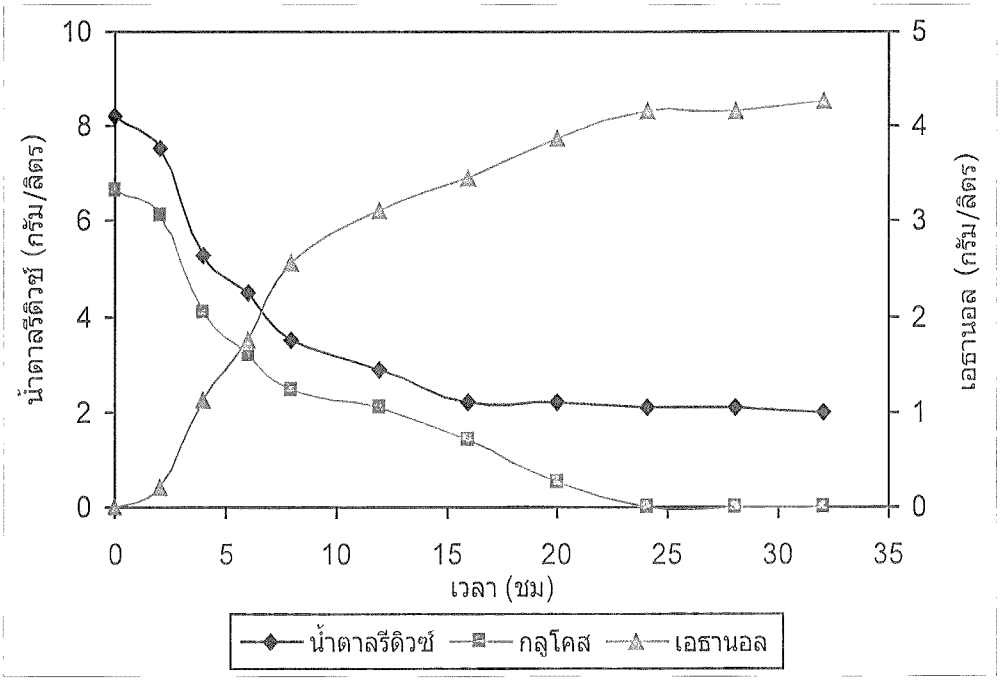
สำปะหลังจากการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และความร้อน แสดงว่า อะไมโลไลติคยีสต์ *S. diastaticus* 5547 มีเอนไซม์ที่เพิ่มประสิทธิภาพการย่อยแป้งในกากมันได้ สูงขึ้นจากเดิมแม้มีการเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส ในกากมันสำปะหลัง อย่างไรก็ดี *S. fibuligera* 2321 เป็นอะไมโลไลติคยีสต์อีกสายพันธุ์หนึ่งแม้จะมีผลการผลิตเอทานอลได้ใกล้เคียงกับ *S. cerevisiae* 5048 และ *S. cerevisiae* 5049 ซึ่งเป็นยีสต์สายพันธุ์ปกติเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ แต่ผลิตเอทานอลได้ต่ำกว่าเมื่อใช้กากมันสำปะหลังเป็นสารอาหารทั้งอาจเนื่องจากน้ำตาลที่เกิดจากการย่อยสลายกากมันอาจถูกใช้ไม่หมดหรือบางส่วนอาจไม่เหมาะต่อการเป็นสารอาหาร หรือสภาวะการเพาะเลี้ยงไม่เหมาะสมทำให้มีการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มอะไมเลสได้ต่ำ ทำให้ย่อยเป็นน้ำตาลสำหรับการเจริญได้ไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งเป็นยีสต์ปกติมีรายงานพบว่ามีคุณสมบัติในการผลิตเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของลิกโนเซลลูโลสได้สูงกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่น ดังนั้นการใช้ ว่าอะไมโลไลติคยีสต์สำหรับการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจึงต้องทำการศึกษา และหาสภาวการณ์เพาะเลี้ยงที่เหมาะ และชนิดของซับสเทรทหรือวัตถุดิบยังมีส่วนสำคัญต่อประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเช่นกัน

จากผลการศึกษาวิจัยนี้จึงแสดงว่า อะไมโลไลติคยีสต์ *S. diastaticus* 5547 สามารถเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยระบบ SHF ได้สูงกว่าเชื้อยีสต์ปกติ 2 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน

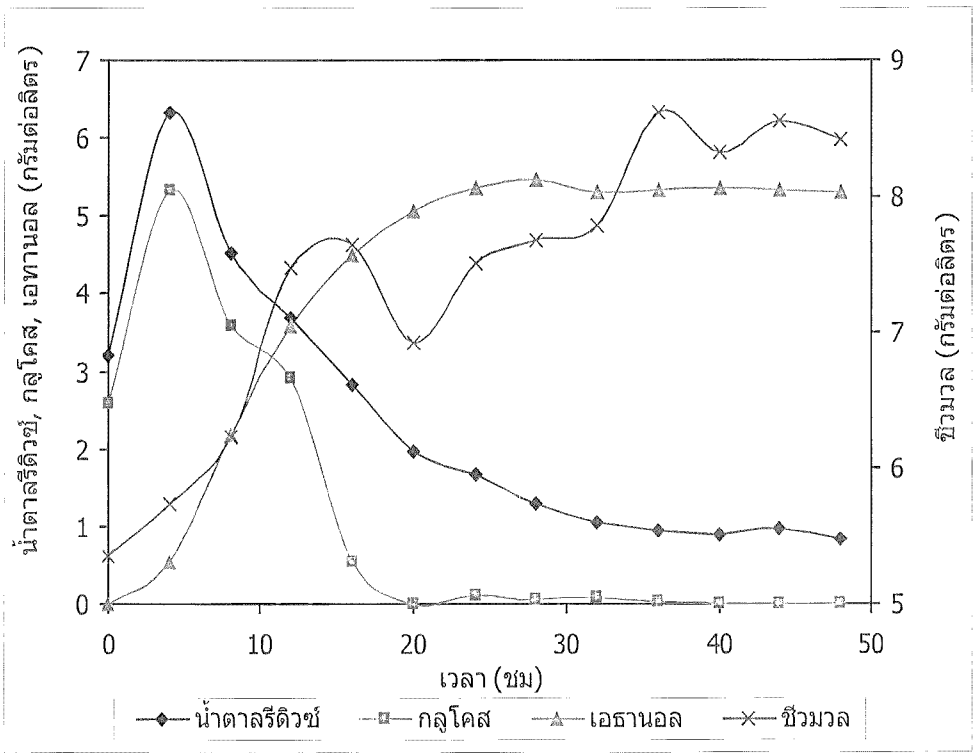
ดังนั้นในการศึกษาขั้นตอนต่อไปจะได้ศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบการหมักโดยการศึกษาเปรียบเทียบการหมักแบบ SHF และ SSF ซึ่งเป็นการหมักที่ทำให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมักเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลของระบบการหมักของอะไมโลไลติคยีสต์

การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังแบบ SHF และ SSF ด้วยเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์ *S. diastaticus* 5547

การหมักโดยวิธี SSF ด้วยเชื้อ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วย เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักเซลล์ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักที่เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นสามารถตรวจพบได้เพียงเล็กน้อย เนื่องจากระบบที่มีการทำวัตถุดิบให้เป็นน้ำตาลโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ร่วมกับการหมักเอทานอล จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลไม่คงที่ในระบบ ในขณะที่น้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณลดลงเมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เริ่มต้นในระบบการหมักแบบ SSF มีปริมาณน้อยกว่าระบบหมักแบบ SHF ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำหนักเซลล์พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้เวลาในการหมักเพิ่มขึ้น แสดงดังภาพที่ 19 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดได้เท่ากับ 3.94 กรัม/ลิตร และ C_E (g (g-biomass)$^{-1}$) มีค่าเท่ากับ 0.184



ภาพที่ 18 การหมักโดยวิธี SHF ด้วยเชื้อ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ที่ปรับสภาพด้วยกรด และย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และ เฮมิเซลลูเลส มาจากตาราง ข.6

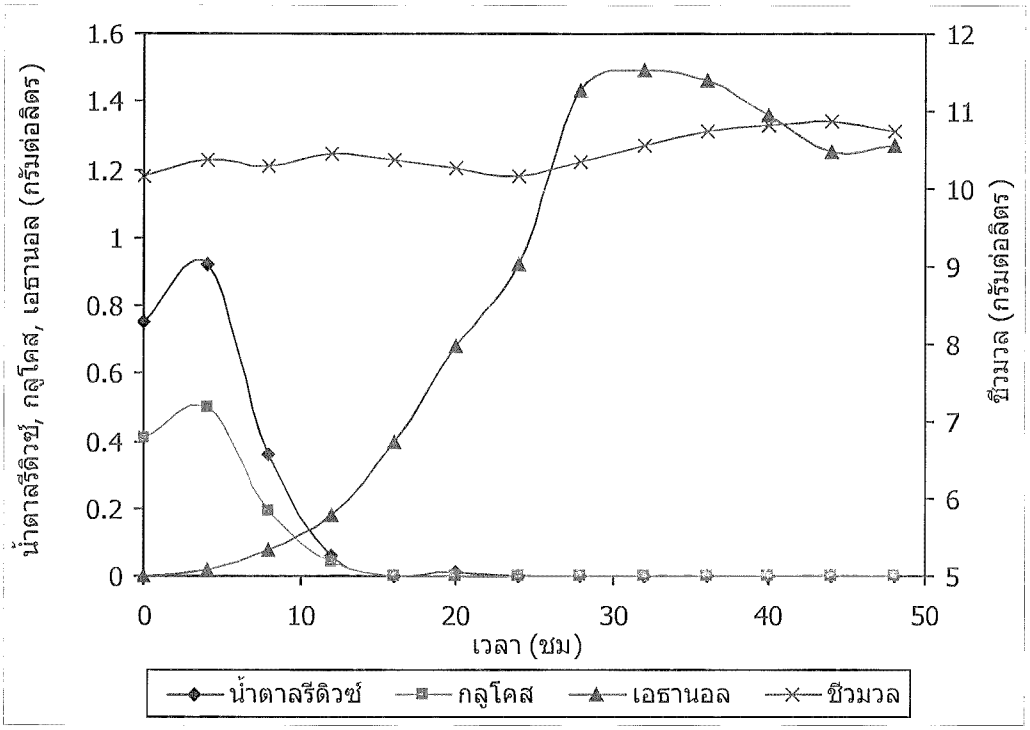


ภาพที่ 19 การหมักโดยวิธี SSF ด้วยเชื้อ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์เป็นสารอาหารด้วยการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และย่อยด้วยเอนไซม์เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส มาจากตาราง ข.7

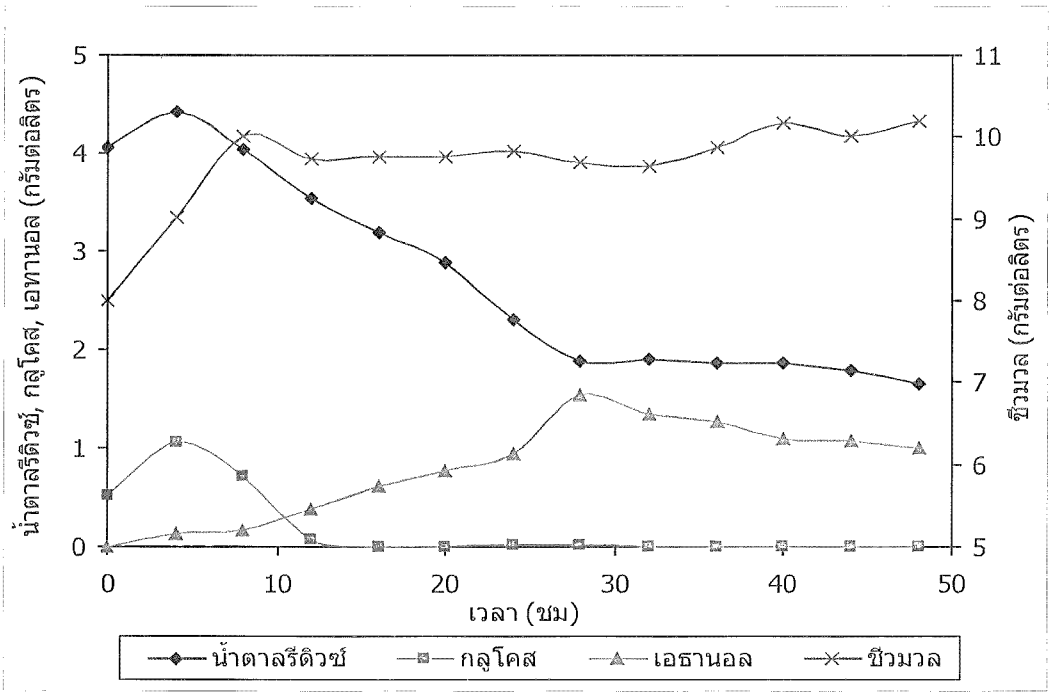
ผลการศึกษาพบว่าการหมักกากมันสำปะหลังโดยการหมักแบบ SHF เมื่อเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส ให้ปริมาณเอทานอล (4.26 กรัมต่อลิตร) ต่ำกว่าการหมักกากมันสำปะหลังโดยการหมักแบบ SSF เมื่อไม่เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส (5.47 กรัมต่อลิตร) เล็กน้อย แสดงว่าอะไมโลไลติคยีสต์ *S. diastaticus* 5547 ผลิตเอนไซม์ในกลุ่มอะไมเลสช่วยย่อยส่วนประกอบแป้งในกากมันสำปะหลัง และการใช้ระบบการหมักแบบ SSF ทำให้น้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณต่ำ และน้ำตาลที่เกิดขึ้นถูกใช้ในกระบวนการหมักจึงทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลให้สูงขึ้น

การศึกษาผลผลิตเอทานอลโดยใช้กากมันสำปะหลังซึ่งผ่านการพรีทรีตเมนท์ที่ต่างกันเป็นแหล่งอาหารของเชื้อยีสต์

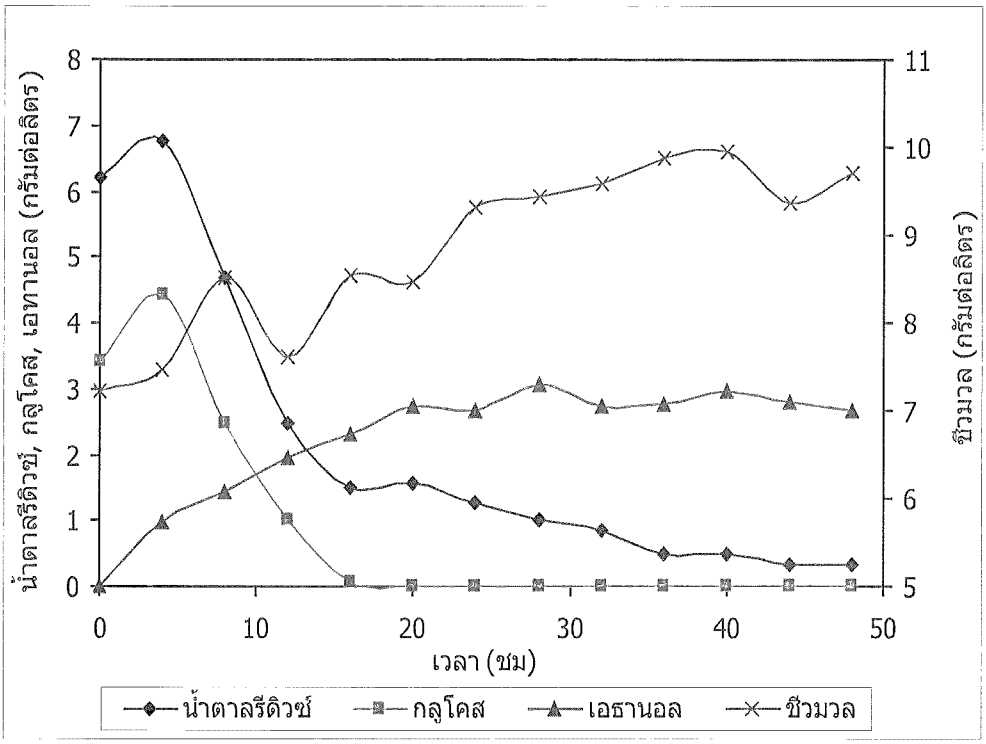
การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยกากมันสำปะหลัง ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงของการหมัก เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 1.49 1.54 และ 3.07 กรัมต่อลิตร ตามลำดับซึ่งผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 20-22 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 6



ภาพที่ 20 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมัก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.8



ภาพที่ 21 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตรมาจากตาราง ข.9

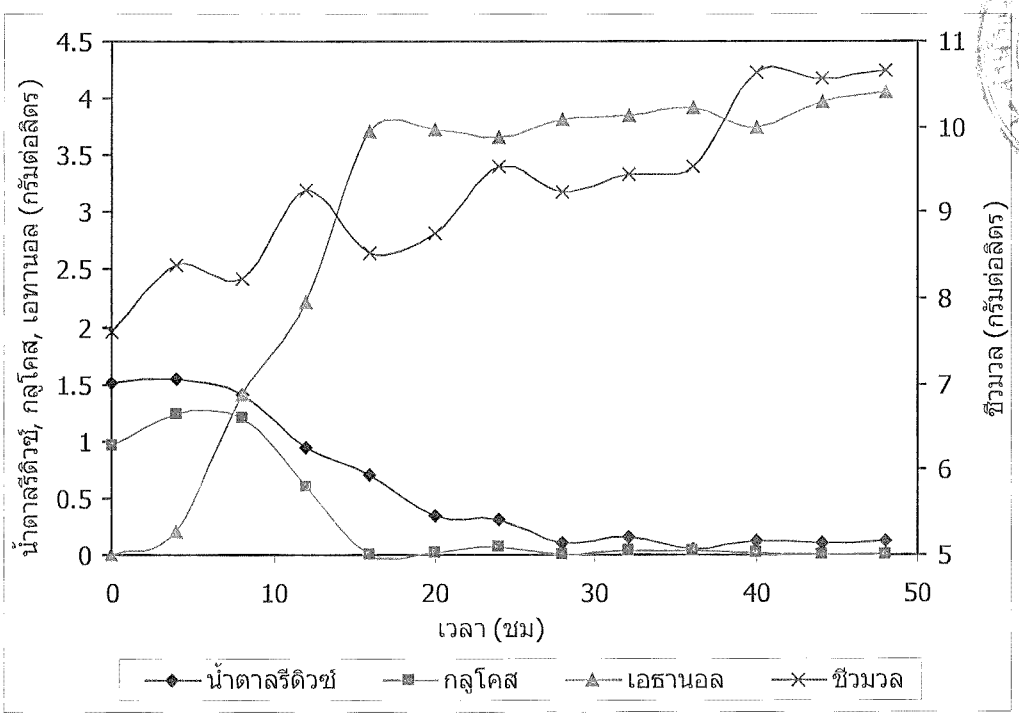


ภาพที่ 22 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ มาจากตาราง ข.10

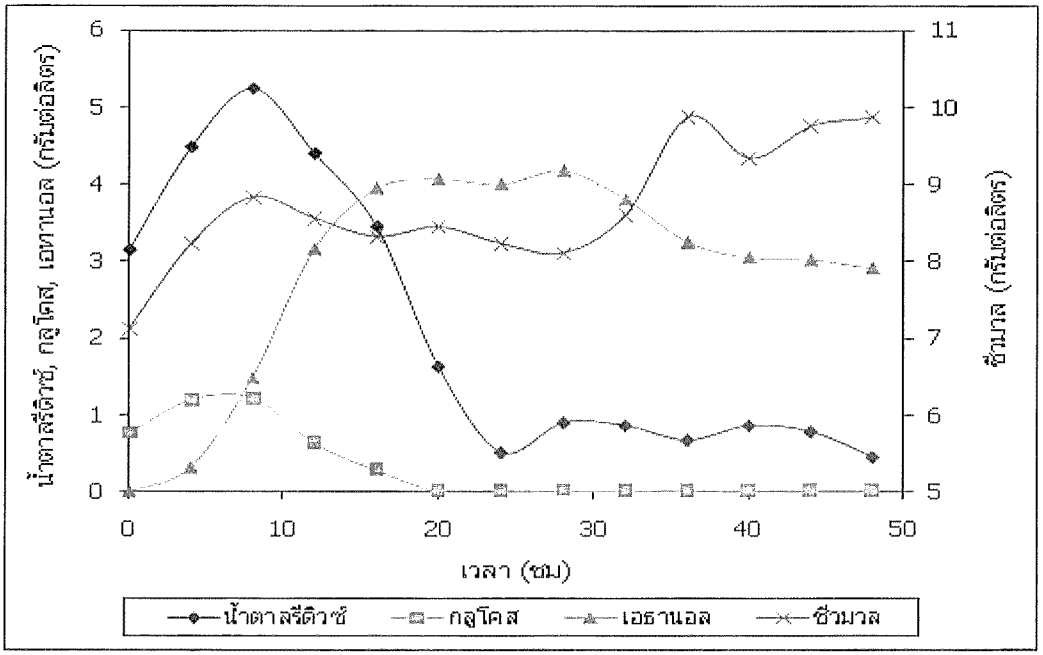
ผลการศึกษาโดยการพรีทรีตเมนต์ที่ต่างกันโดยใช้น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ และกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ต่อการหมักในระบบ SSF โดยไม่เติมเอนไซม์ แสดงว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการพรีทรีตเมนต์ที่ใช้น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารละลายด่างมีผลต่อการทำลายโครงสร้างของแป้งและลิกโนเซลลูโลสไม่มากนักซึ่งใกล้เคียงกับการใช้น้ำกลั่น หรือการใช้น้ำกลั่นมีข้อดีคือมีผลต่อการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์โดยใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ การที่กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์เนื่องจากกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำลายโครงสร้างของแป้งในกากมันสำปะหลัง และลิกโนเซลลูโลส ที่ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และมีทำให้เอนไซม์จากอะไมโลไลติคยีสต์ย่อยสลายแป้งได้มากขึ้น มีผลให้ได้ผลผลิตเอทาสูงขึ้น

การศึกษาผลการพรีทรีตเมนท์ต่อการผลิตเอทานอลจากการหมักโดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส

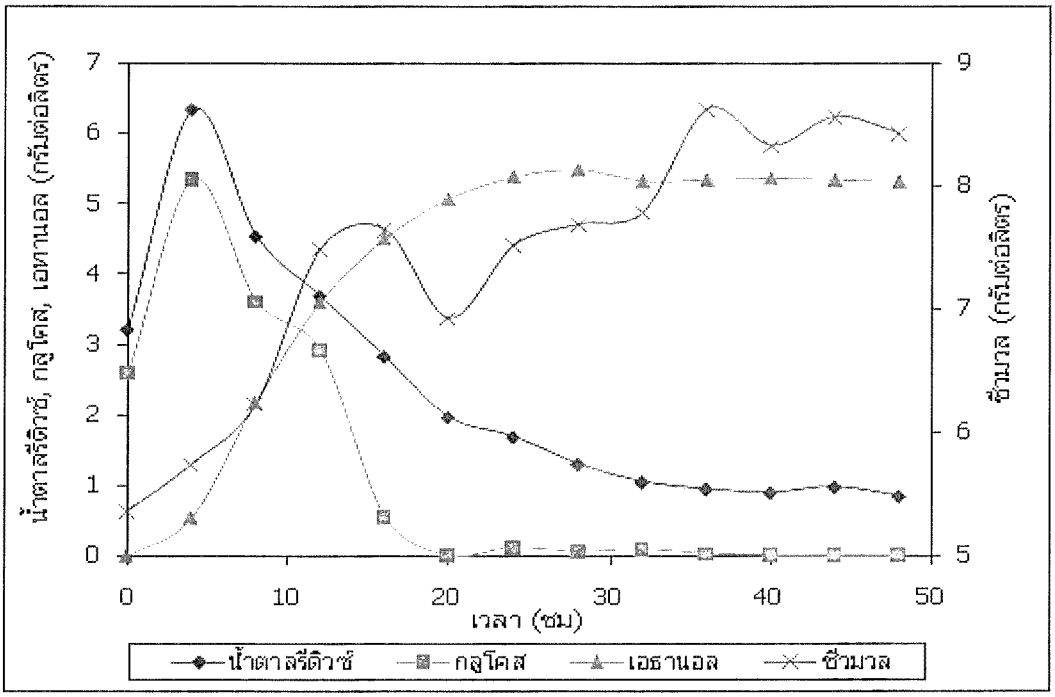
การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยกากมันสำปะหลัง ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วยน้ำกลั่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการ อบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีปรับ พีเอช 5.5 และเติมสารละลายเอนไซม์เฉพาะเซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุด คือ 4.05 4.10 และ 5.47 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 23-25 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 6



ภาพที่ 23 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.11



ภาพที่ 24 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์เป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.12



ภาพที่ 25 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.13

จากผลการศึกษาการหมักกากมันสำปะหลังโดยอะไมโลไลติคยีสต์เป็นการหมักในระบบ SSF ซึ่งเป็นการหมักแบบขั้นตอนเดียวในถังหมักเดียว

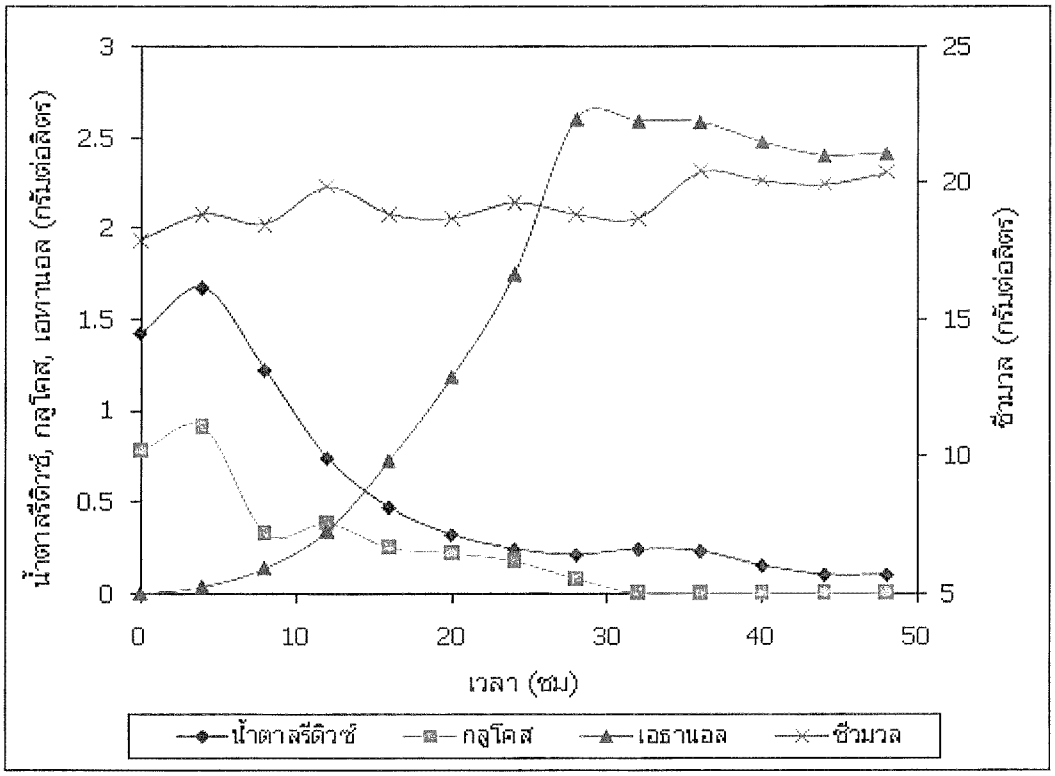
ผลการศึกษาโดยการพรีทรีตเมนต์ที่ต่างกันโดยใช้น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ และกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีต่อการหมักในระบบ SSF โดยเติมเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส แสดงว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการพรีทรีตเมนต์ที่ใช้น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารละลายด่างมีผลต่อการทำลายโครงสร้างของแป้งและลิกโนเซลลูโลสไม่มากนัก ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้น้ำกลั่น หรือการใช้น้ำกลั่นมีข้อดีคือมีผลต่อการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์โดยใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ การที่กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ เนื่องจากกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำลายโครงสร้างของแป้งในกากมันสำปะหลัง และลิกโนเซลลูโลส ที่ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และมีทำให้เอนไซม์จากอะไมโลไลติคยีสต์ย่อยสลายแป้งได้มากขึ้น และเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสที่เติมในอาหารหมักจะทำการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้เป็นน้ำตาลได้สูงขึ้น มีผลให้ได้ผลผลิตเอทาสูงขึ้น การใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ต่อการพรีทรีตเมนต์ กากมันสำปะหลังมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์คิดเป็น 14 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้น้ำ หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ ในการพรีทรีตเมนต์

ดังนั้นการพรีทรีตเมนต์จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ ผลการศึกษาพบว่าการพรีทรีตเมนต์ที่เหมาะสมได้แก่การใช้กรดซัลฟูริคความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียสภายใต้ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จะเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ในระบบ SSF ทั้งการหมักที่ไม่เติมเอนไซม์ และการหมักที่เติมเอนไซม์ ที่เติมเฉพาะเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส

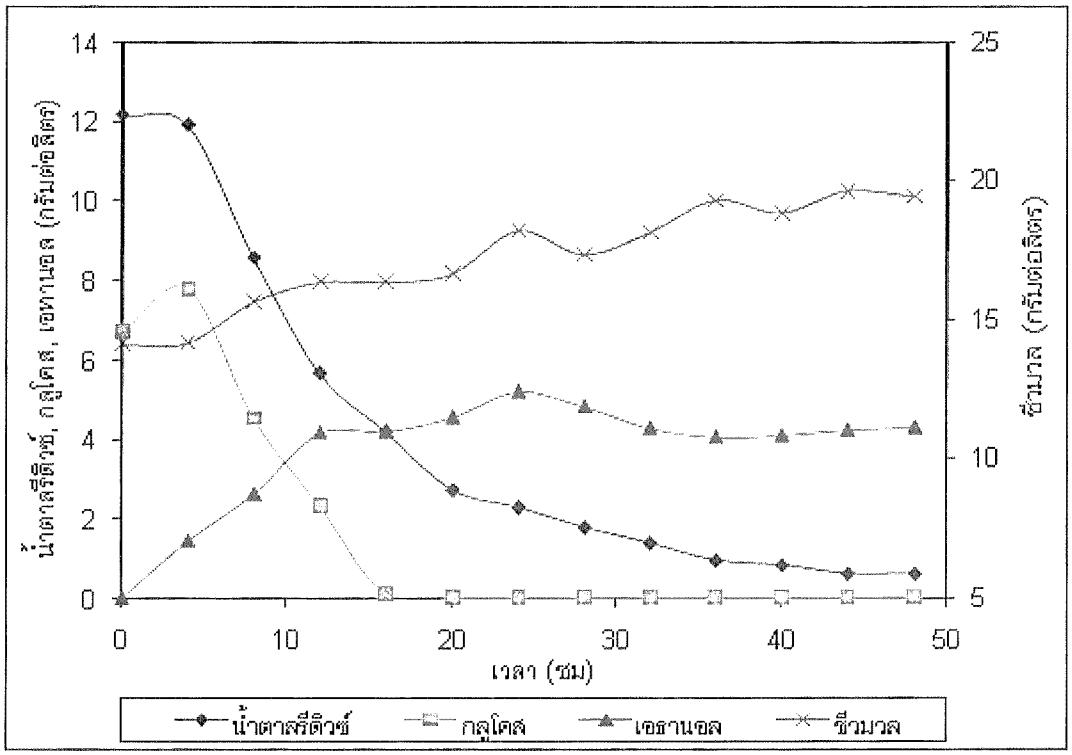
การพัฒนาและปรับปรุงในการนำกากมันสำปะหลังซึ่งมีส่วนประกอบของแป้งเป็นองค์ประกอบหลักมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลโดยใช้อะไมโลไลติคยีสต์จะสามารถทำได้ในขั้นตอนเดียวโดยการหมักแบบ SSF และลดปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบได้ในการศึกษาวิจัยจึงได้เพิ่มกำลังผลิตจากเดิม 100 มิลลิลิตรเป็น 5 ลิตร ในถังปฏิกรณ์เพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณการหมักและความเข้มข้นของกากมันสำปะหลังจาก 1.5 เปอร์เซ็นต์เป็น 3 เปอร์เซ็นต์ต่อประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลของอะไมโลไลติคยีสต์

การศึกษาผลการพรีทรีตเมนท์ต่อการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยอะไมโลไลติคยีสต์ ในถังปฏิกรณ์ 5 ลิตร

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ลิตรและปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยกากมันสำปะหลัง ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงของการหมักและ เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 2.67 และ 5.21 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 26-27 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 6



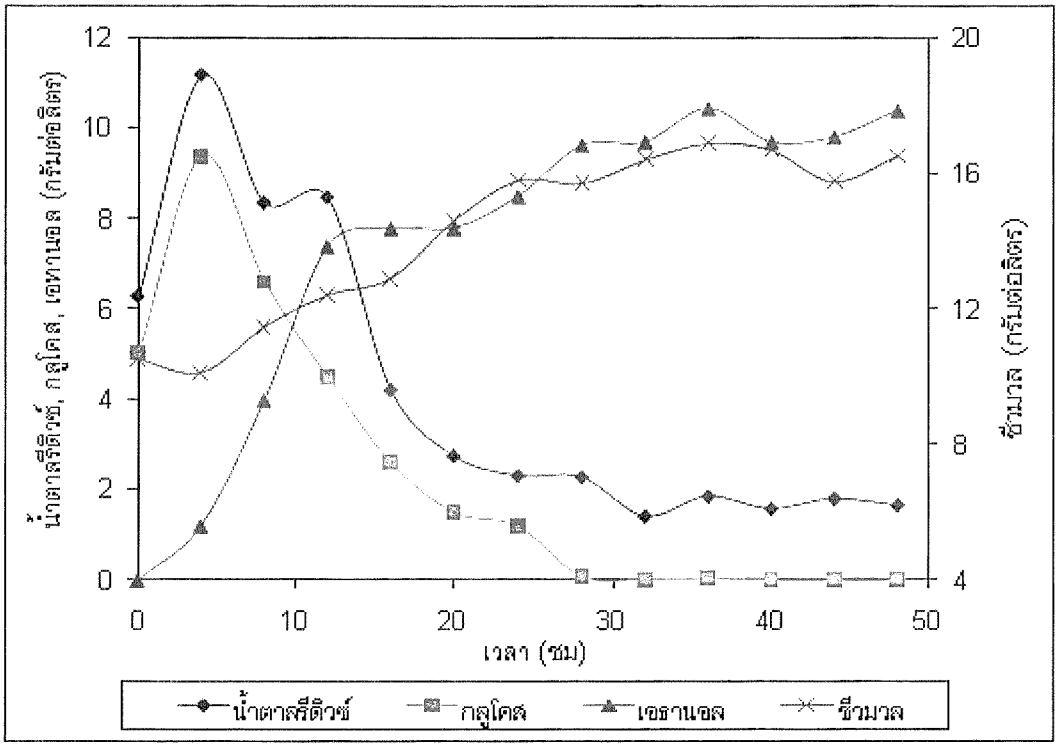
ภาพที่ 26 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมักปริมาตร 5 ลิตร มาจากตาราง ข.14



ภาพที่ 27 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ กากมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมักปริมาตร 5 ลิตร มาจากตาราง ข.15

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยกากมันสำปะหลัง ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางร่วมกับการ อบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีปรับ พีเอช 5.5 และเติมสารละลายเอนไซม์ เฉพาะเซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 10.45 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 28 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 6



ภาพที่ 28 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 5 ลิตร มาจากตาราง ข.16

จากผลการศึกษาการหมักกากมันสำปะหลังโดยอะไมโลไลติคยีสต์เป็นการหมักในระบบ SSF ซึ่งเป็นการหมักแบบขั้นตอนเดียวในถังหมักเดียว

จากผลการศึกษาพบว่าการเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 5 ลิตรในถังปฏิกรณ์ด้วยระบบการหมักแบบ SSF โดยใช้ความเข้มข้นกากมันสำปะหลังเป็น 3 เปอร์เซ็นต์อะไมโลไลติคยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูงโดยเมื่อปรับสภาพโดยด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์โดยน้ำกลั่น โดยไม่เติมเอนไซม์ และการเติมเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลสทำให้เพิ่มปริมาณการผลิตเอทานอลเช่นเดียวกับผลการทดลองการผลิตในขวดทดลอง 100 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะการทดลอง

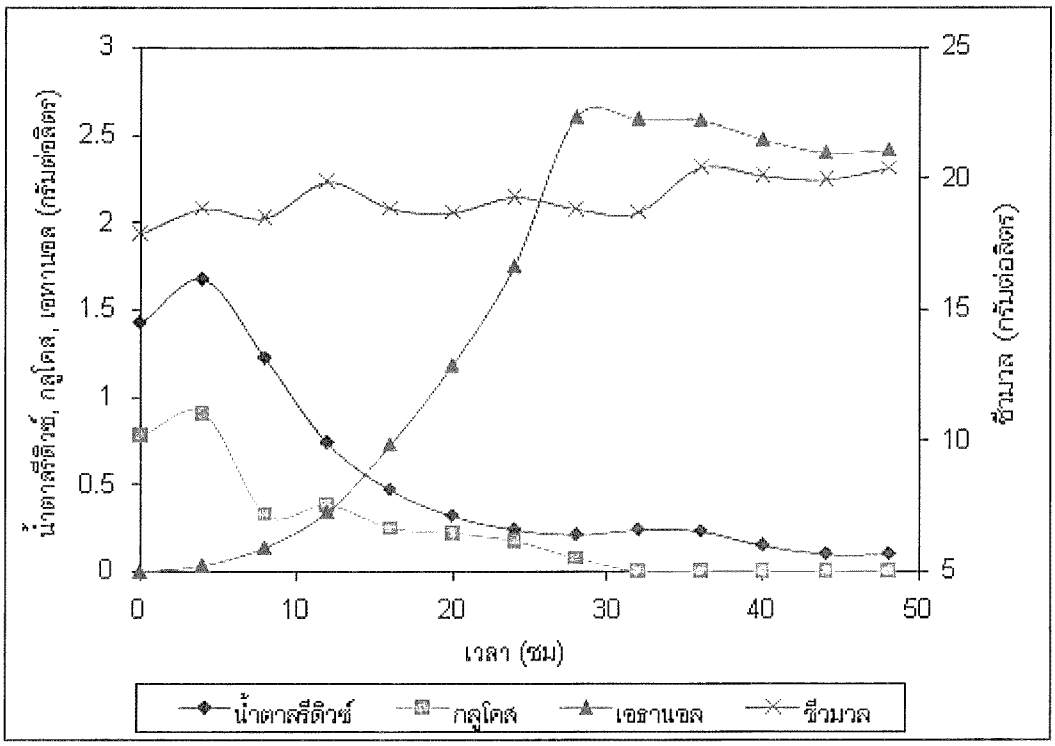
ผลการศึกษาแสดงว่าการเพิ่มปริมาตรการหมักเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์สามารถใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหารให้ผลการผลิตเอทานอลในปริมาณสูง

ดังนั้นเพื่อเป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพกระบวนการหมักเอทานอลจากกากมันสำปะหลังให้มีผลผลิตเอทานอลสูงขึ้นจึงทำการศึกษาโดยการเพิ่มปริมาตรการหมักจาก 5 ลิตรในถังปฏิกรณ์เป็นการหมัก 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์

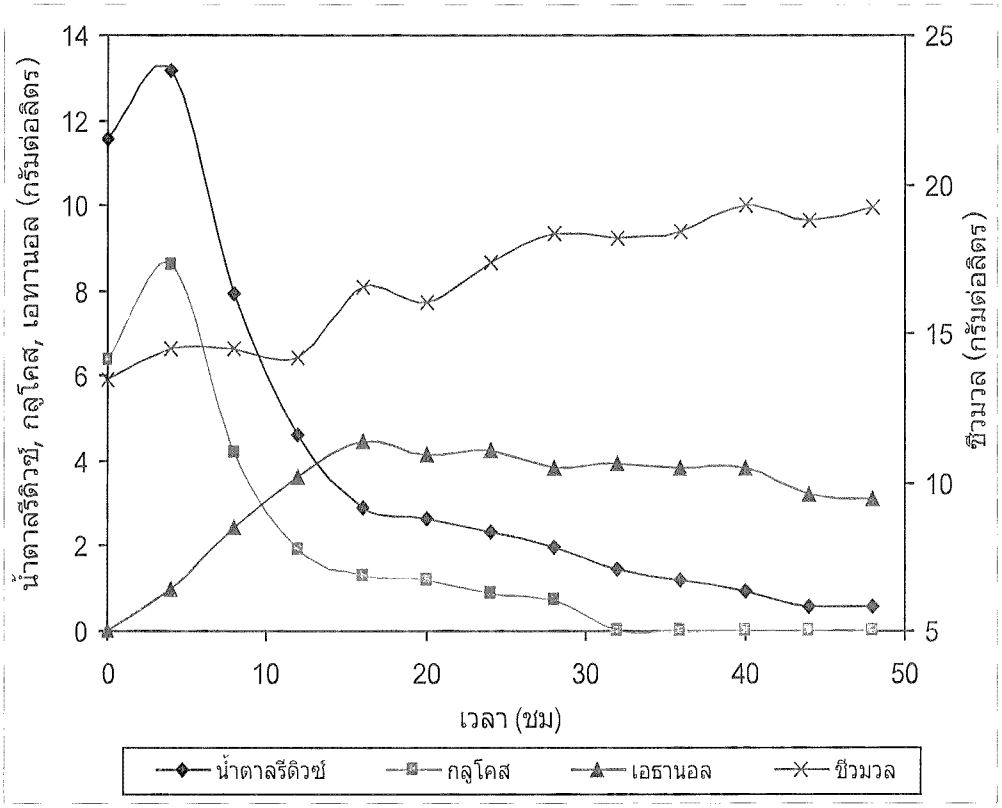
การศึกษาผลการพรีทรีตเมนท์ต่อการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยอะไมโลไลติคยีสต์ ในถังปฏิกรณ์ 70 ลิตร

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 70 ลิตรและปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยกากมันสำปะหลัง ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 2.48 และ 4.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 29-30 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 6



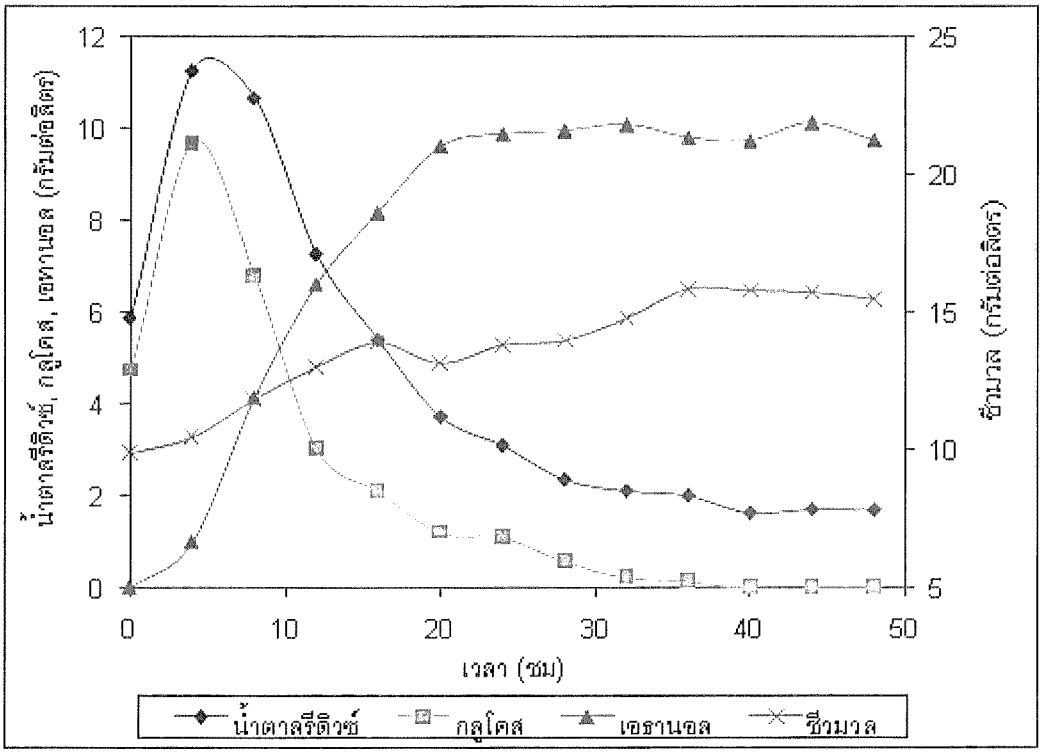
ภาพที่ 29 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลังปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.17



ภาพที่ 30 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลังปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในปริมาตรอาหาร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.18

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร70 ลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยกากมันสำปะหลัง กรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการ อบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีปรับ พีเอช 5.5 และเติมสารละลายเอนไซม์ เฉพาะเซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 9.91 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 31 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 6



ภาพที่ 31 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กากมันสำปะหลังปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.19

จากผลการศึกษาการหมักกากมันสำปะหลังโดยอะไมโลไลติคยีสต์เป็นการหมักในระบบ SSF ซึ่งเป็นการหมักแบบขั้นตอนเดียวในถังหมักเดียว

จากผลการศึกษาพบว่าการเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์โดยใช้ความเข้มข้นกากมันสำปะหลังเป็น 3 เปอร์เซ็นต์อะไมโลไลติคยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูงโดยเมื่อปรับสภาพโดยด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีเปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์โดยน้ำกลั่น โดยไม่เติมเอนไซม์ และการเติมเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลสทำให้เพิ่มปริมาณการผลิตเอทานอลเช่นเดียวกับผลการทดลองการผลิตในขวดทดลอง 100 มิลลิลิตร และการหมักในถังปฏิกรณ์ 5 ลิตรภายใต้สภาวะการทดลอง

ผลการศึกษาแสดงว่าการเพิ่มปริมาตรการหมักเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์สามารถใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหารให้ผลการผลิตเอทานอลในปริมาณสูง

ดังนั้นจากผลการศึกษาการปรับปรุงประสิทธิภาพกระบวนการหมักเอทานอลจากกากมันสำปะหลังให้มีผลผลิตสูงขึ้นสามารถเพิ่มผลผลิตเอทานอลในปริมาตรการหมัก 70 ลิตร ในถังปฏิกรณ์

จากการศึกษานี้จึงแสดงว่าการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์จากกากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบมีความเป็นไปได้ในการนำไปประยุกต์การผลิตในโรงงานต้นแบบหรือระดับอุตสาหกรรมได้โดยสามารถลดต้นทุนการผลิตจากการใช้วัตถุดิบและการใช้เอนไซม์

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยการพรีทรีตเมนต์โดยน้ำกลั่น ด่างความเข้มข้น 0.025 เปอร์เซ็นต์ และ กรดซัลฟูริก 0.1 โมลาร์ภายใต้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วอุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตรถึง 70 ลิตร

Pretreament	Enzyme	DM* (%)	Batch volume	C_E	P_{max}	Q_E	$Y_{p/s}$
Water	-	1.5	100 mL	0.10	1.49	0.07	0.12
Diluted alkaline	-	1.5	100 mL	0.10	1.54	0.10	0.12
Diluted acid	-	1.5	100 mL	0.20	3.07	0.11	0.24
Water	Cellulase, Hemicellulase	1.5	100 mL	0.27	4.05	0.29	0.32
Diluted alkaline	Cellulase, Hemicellulase	1.5	100 mL	0.27	4.1	0.36	0.32
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	1.5	100 mL	0.36	5.47	0.38	0.43
Water	-	3	5 lit	0.09	2.67	0.11	0.10
Diluted acid	-	3	5 lit	0.17	5.21	0.34	0.20
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	5 lit	0.35	10.45	0.78	0.41
Water	-	3	70 lit	0.08	2.44	0.12	0.10
Diluted acid	-	3	70 lit	0.14	4.25	0.33	0.17
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 lit	0.33	9.91	0.70	0.39

*Dry matter

C_E Ethanol yield per unit biomass (g (g-biomass)$^{-1}$)

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

P_{max} Maximum ethanol production (g/L)

$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total carbohydrate)$^{-1}$)

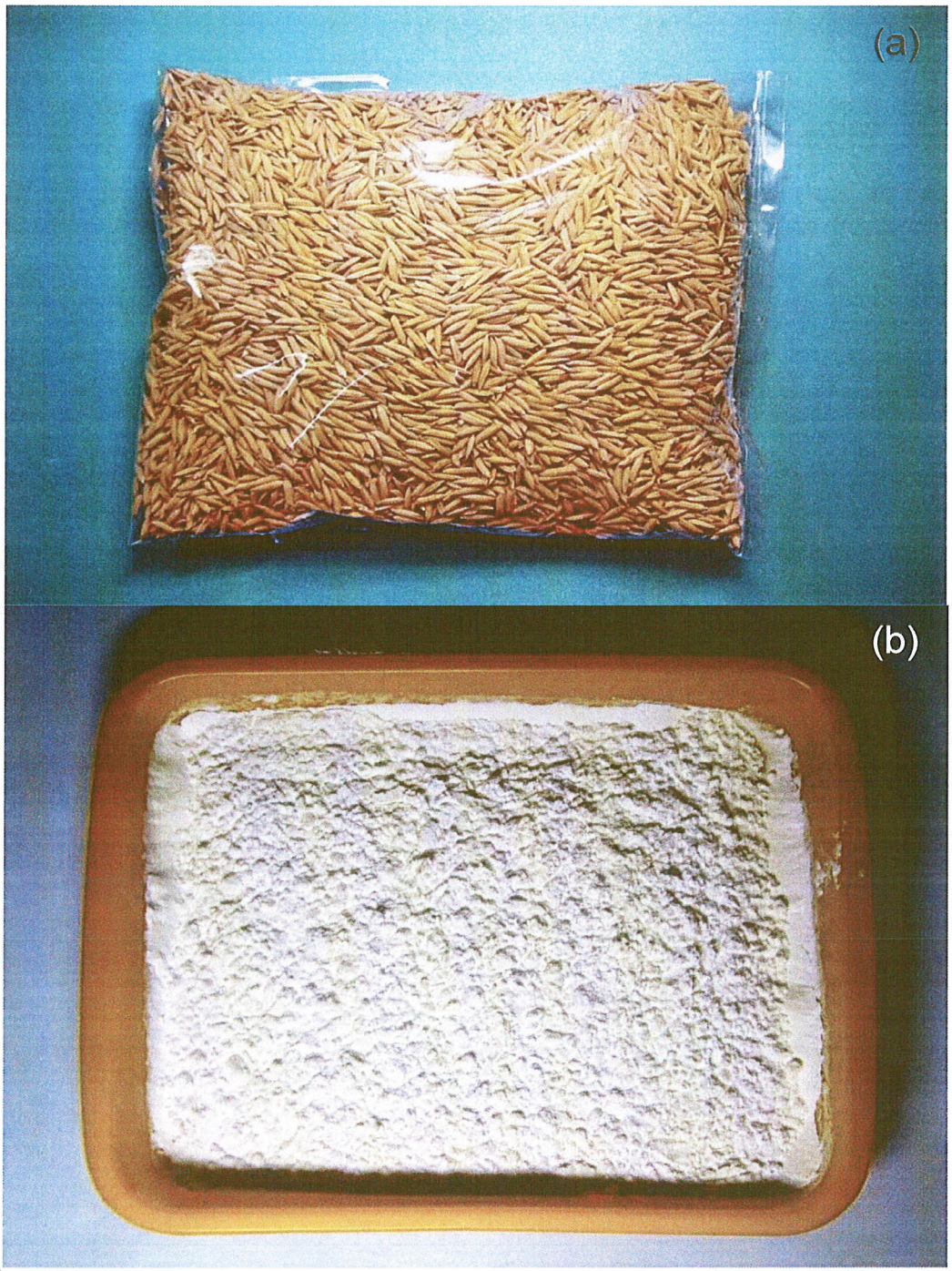
จากตารางที่ 6 การพรีทรีตเมนต์โดยกรดซัลฟูริก 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที การเพิ่มปริมาตรการผลิตส่งผลต่อสัมประสิทธิการผลิตเอทานอลเล็กน้อย จากการผลิตในปริมาตร 100 มิลลิลิตร 5 ลิตร และ 70 ลิตร ในระบบการหมักแบบขั้นตอนเดียวแบบ SSF โดยอะไมโลไลติคยีสต์ เมื่อเติมเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส (หรือเฮมิเซลลูเลส) ได้สัมประสิทธิการผลิตคิดเป็น 0.43, 0.41 และ 0.39 ตามลำดับ ดังนั้นเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยการเพิ่มความเข้มข้นกากมันสำปะหลังจาก 1.5 เปอร์เซ็นต์เป็น 3 ปอร์เซ็นต์ และเพิ่มปริมาตรจาก 100 มิลลิลิตร เป็น 70 ลิตร ยังคงให้ผลผลิตเอทานอลที่สูงในระบบการหมักขั้นตอนเดียวซึ่งใช้ระยะเวลาที่สั้นและลดขั้นตอนการหมัก ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นเป็น 3 เปอร์เซ็นต์และการเพิ่มปริมาตร 70 ลิตรจึงยังให้ผลผลิตเอทานอลปริมาณสูง การหมักในความเข้มข้นที่สูงกว่า 3 เปอร์เซ็นต์และการเพิ่มในปริมาตรมากกว่า 70 ลิตรอาจต้องทำการศึกษาต่อปัจจัยต่างๆเพิ่มขึ้นเพื่อให้ระบบการหมักที่จะยังคงให้ผลผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ในปริมาณสูง เนื่องจากสภาวะทางกายภาพและทางเคมีที่แตกต่างกันในถังปฏิกรณ์ การควบคุมระบบการหมัก รูปทรงปริมาตรของถังปฏิกรณ์รวมถึงความเข้มข้นของสารอาหารปริมาณความเข้มข้นของเชื้อยีสต์ จะมีผลต่อการผลิตเอทานอล รวมถึงการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น

โดยการใช้วัตถุดิบกากมันสำปะหลังการพรีทรีตเมนต์โดยกรดซัลฟูริก 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที การเพิ่มปริมาตรการผลิตส่งผลต่อสัมประสิทธิการผลิตเอทานอลเล็กน้อย จากการผลิตในปริมาตร 100 มิลลิลิตร 5 ลิตร และ 70 ลิตร ในระบบการหมักแบบขั้นตอนเดียวแบบ SSF เมื่อไม่เติมเอนไซม์ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการพรีทรีตเมนต์โดยน้ำกลั่นแต่ต่ำกว่าเมื่อเติมเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส (หรือเฮมิเซลลูเลส) ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าระบบการหมักแบบขั้นตอนเดียวแบบ SSF เชื้ออะไมโลไลติคยีสต์ผลิตเอนไซม์ย่อยองค์ประกอบของแป้งในกากมันสำปะหลังได้เป็นน้ำตาลสำหรับการผลิตเอทานอลได้ อย่างไรก็ดี เอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสมีส่วนในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยการช่วยย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสในกากมันสำปะหลังทำให้โครงสร้างของแป้งถูกทำลายและสามารถทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ย่อยแป้งจากการเจริญของอะไมโลไลติคยีสต์ในระบบการหมักทำให้ได้ผลผลิตเอทานอลที่สูงขึ้น การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลและลดต้นทุนการผลิตโดยใช้กากมันสำปะหลังโดยการหมักของอะไมโลไลติคยีสต์จึงอาจทำได้โดย 2 วิธีการคือ (1) การหมักแบบ SSF โดยไม่เติมเอนไซม์จะลดต้นทุนเอนไซม์ เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส (หรือเฮมิเซลลูเลส) และ (2) การหมักแบบ SSF โดยการเติมเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส (หรือเฮมิเซลลูเลส) จะเพิ่มผลผลิตเอทานอลใช้สูงขึ้นเพื่อทดแทนต้นทุนการใช้เอนไซม์ได้

โดยการใช้วัตถุดิบกากมันสำปะหลังการพรีทรีตเมนต์โดยน้ำกลั่น ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที การเพิ่มปริมาตรการผลิตส่งผลต่อสัมประสิทธิการผลิตเอทานอลเล็กน้อย จากการผลิตในปริมาตร 100 มิลลิลิตร 5 ลิตร

และ 70 ลิตร ในระบบการหมักแบบขั้นตอนเดียวแบบ SSF เมื่อไม่เติมเอนไซม์ วิธีการนี้ให้ผลผลิตเอทานอลได้มีข้อดีที่จะลดขั้นตอนการใช้กรดและการพรีทรีตเมนต์เป็นกลาง การใช้กรดอาจมีผลต่อถังปฏิกรณ์ขนาดใหญ่ที่เป็นโลหะ ผลการศึกษานี้แสดงว่าอะไมโลไลติคยีสต์ในระบบการหมักสามารถผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังได้โดยไม่ต้องเติมสารละลายกรดและเอนไซม์

การศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการหมักโดยการใช้เมล็ดข้าวบดเป็นแหล่งอาหาร



ภาพที่ 32 เมล็ดข้าว (a) และเมล็ดข้าวบดละเอียด (b)

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีเมล็ดข้าวสาร

องค์ประกอบทางเคมี	(% โดยน้ำหนักแห้ง)
คาร์โบไฮเดรต	84.26 ± 5.12
โปรตีน	5.02 ± 1.43
ไขมัน	0.22 ± 0.17
เถ้า	0.54 ± 0.21
ความชื้น	14.20 ± 0.23

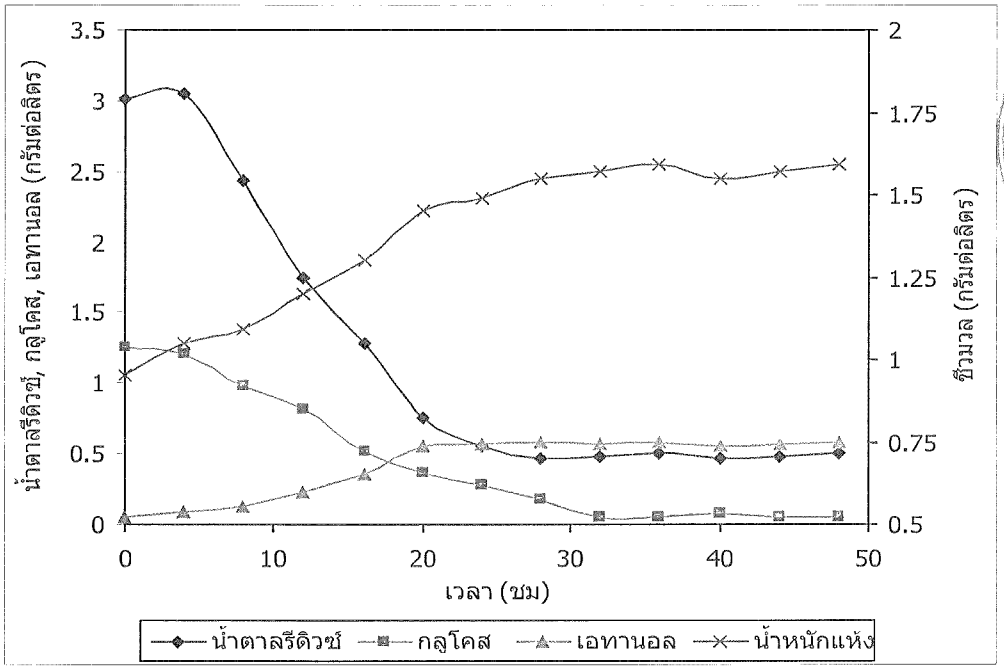
ในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบจะนำข้าวมาบดด้วยเครื่องบดแห้งอย่างละเอียดคือ ultracentrifugal mill ผลของการบดแห้งจะได้ขนาดของเม็ดแป้งบด 45-637 ไมครอน การบดนี้เป็นการพรีทรีตเมนต์ทางกายภาพวิธีหนึ่งโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายโครงสร้างของเม็ดแป้ง เพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ให้เป็นน้ำตาล เพื่อเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากการหมักให้สูงขึ้น

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวสารแสดงในตารางที่ 7 องค์ประกอบของเมล็ดข้าวสารส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งประกอบด้วยแป้ง ดังนั้นในการศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์เพื่อศึกษาและเพิ่มประสิทธิภาพผลผลิตเอทานอลจากเมล็ดข้าวให้สูงขึ้นและเป็นการลดต้นทุนการผลิตเอทานอลอีกทางหนึ่ง

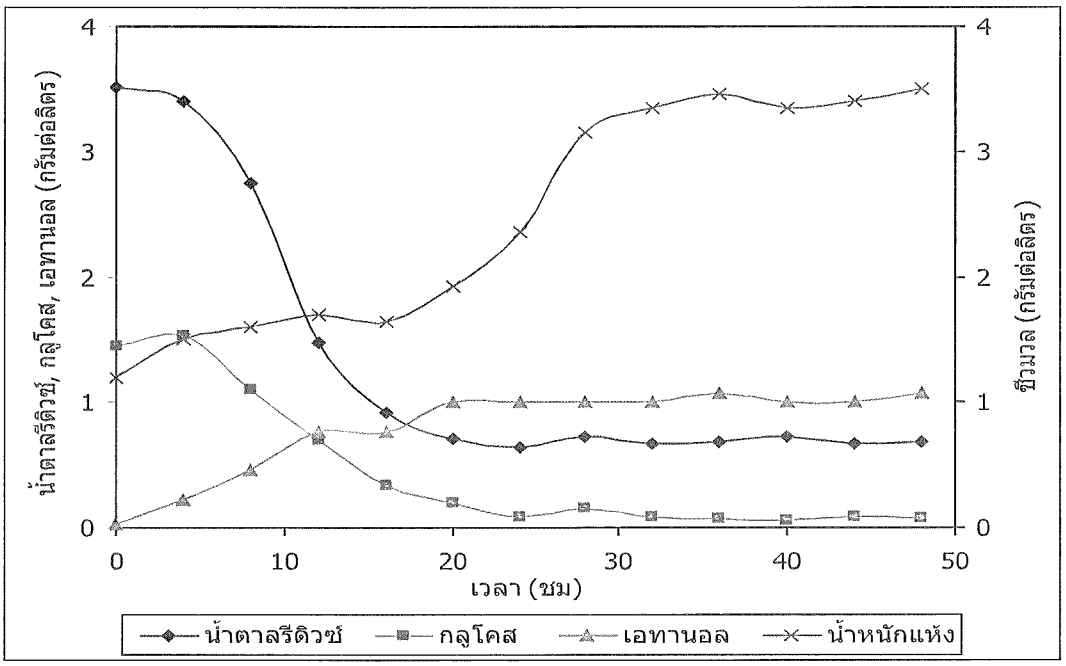
การศึกษาผลปริมาณความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบดต่อการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์

การหมักโดยเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบด 0.125-0.5 เปอร์เซ็นต์ ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยเมล็ดข้าวบดถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 0.54 1.07 และ 1.87 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 33-35

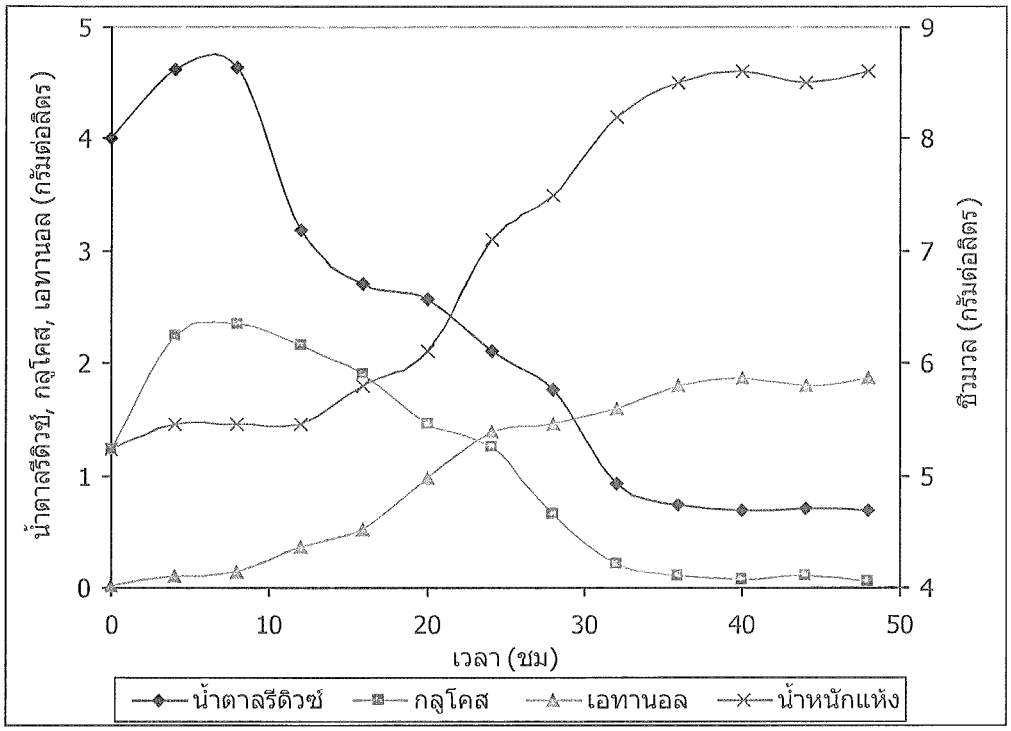
นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 8



ภาพที่ 33 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบด 0.125 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.20



ภาพที่ 34 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบด 0.25 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.21



ภาพที่ 35 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบดปริมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข. 22

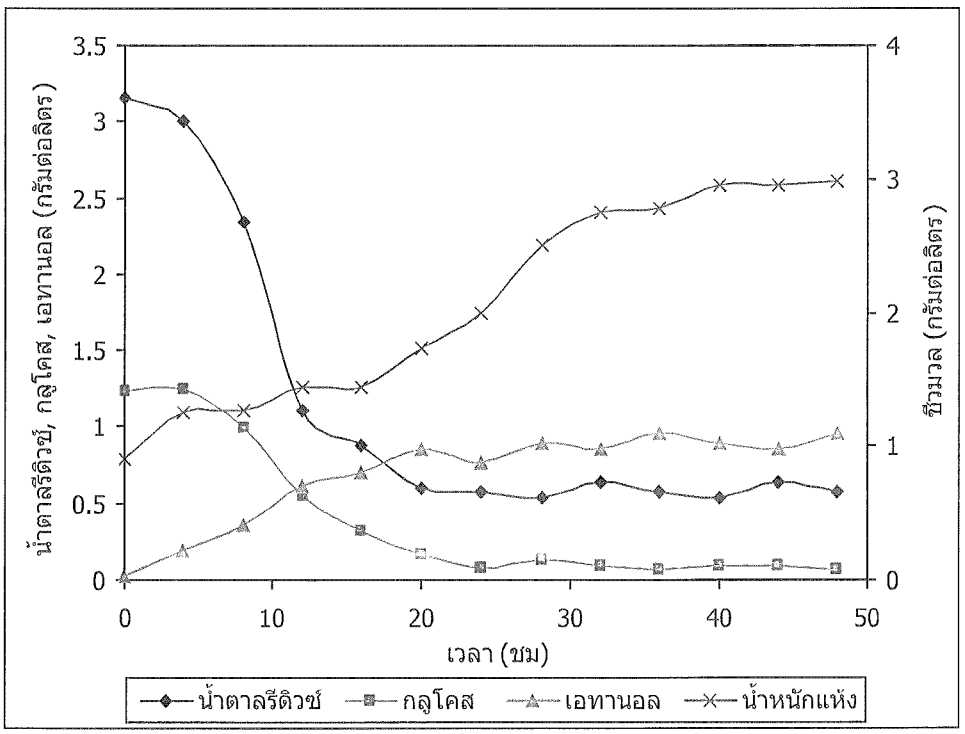
การเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นจาก 0.125-0.5 เปอร์เซ็นต์ ของเมล็ดข้าวบดในปริมาตร 100 มิลลิลิตรแสดงว่าการเพิ่มปริมาณเอทานอลเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบดแสดงว่าอะไมโลไลติคยีสต์ผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งข้าวบดเป็นน้ำตาลและถูกใช้เป็นสารอาหารและการผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูงภายใต้สภาวะการทดลอง

ดังนั้นจึงได้พัฒนาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจาก 100 มิลลิลิตรเป็น 5 ลิตรและ 70 ลิตร เนื่องจากความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบด 0.25 เปอร์เซ็นต์ ให้สัมประสิทธิการผลิตต่อหน่วยน้ำหนักแป้งข้าว ($Y_{p/s}$) (ตารางที่ 9) สูงกว่าความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบด 0.5 เปอร์เซ็นต์ จึงใช้ความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบด 0.25 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการเพิ่มปริมาตรการผลิตเอทานอลต่อสัมประสิทธิการผลิตต่อหน่วยน้ำหนักแป้ง

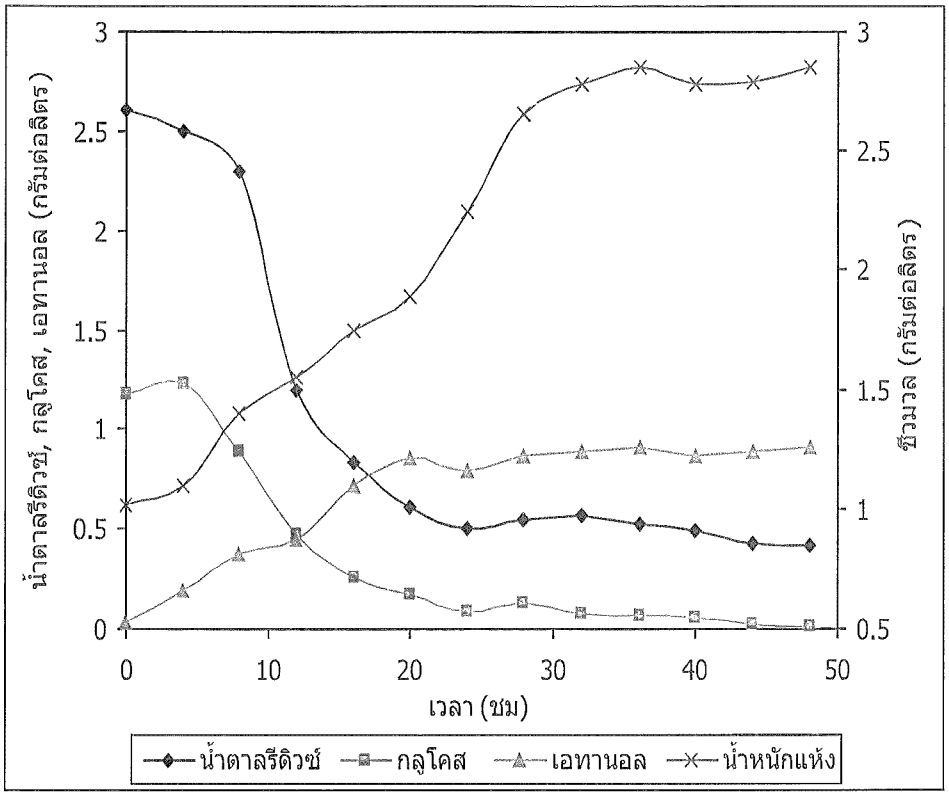
การศึกษาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากเมล็ดข้าวบด โดยอะไมโลไลติคยีสต์ ในถังปฏิกรณ์ 5 ลิตร และ 70 ลิตร

การหมักโดยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบด 0.25 เปอร์เซ็นต์ ในการหมักปริมาตร 5 ลิตรและ 70 ลิตร โดยเมล็ดข้าวบดถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจางร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 0.95 และ 0.90 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 36-37 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบด เป็น 1.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์มวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 5.02 และ 5.59 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 38-39

นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 8



ภาพที่ 36 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบดปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 5 ลิตร มาจากตาราง ข.23



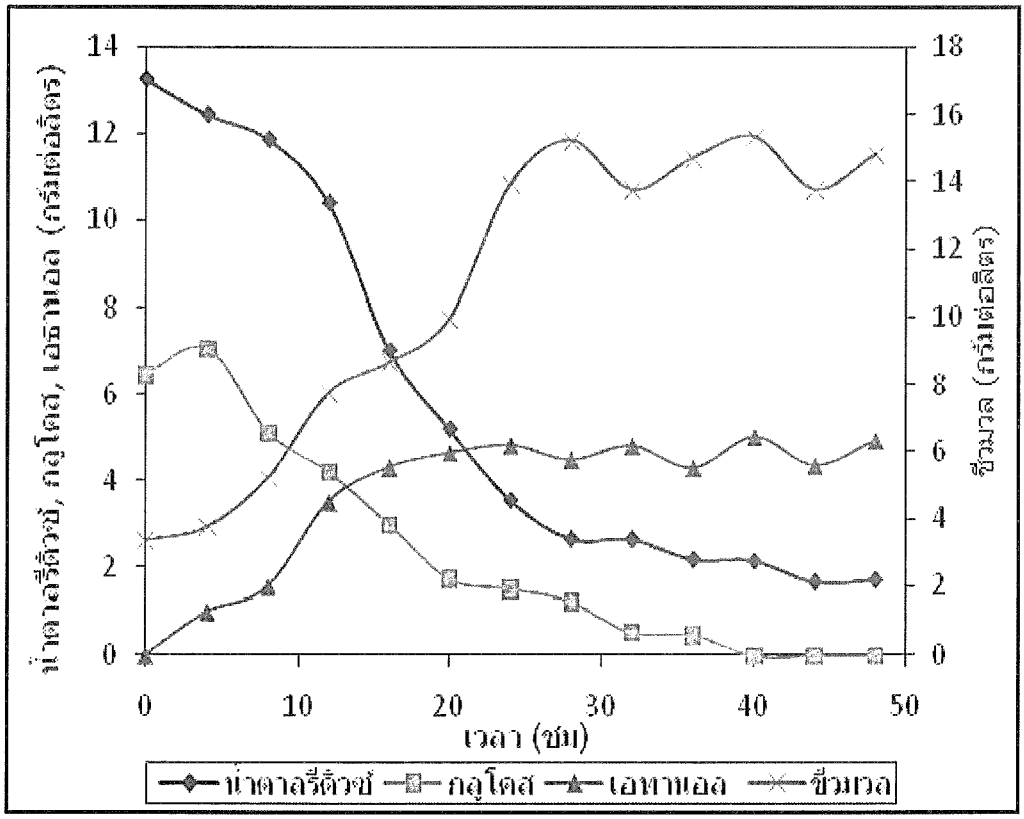
ภาพที่ 37 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบดปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.24

จากผลการทดลองการศึกษาเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาตรการผลิตเอทานอลเมื่อใช้เมล็ดข้าวบดความเข้มข้นเท่ากัน คือ 0.25 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเพิ่มปริมาตรการผลิตเป็น 70 ลิตรให้ผลผลิตความเข้มข้นของเอทานอล 0.90 กรัมต่อลิตรได้ใกล้เคียงกับการผลิตเอทานอลปริมาตร 5 ลิตร ซึ่งให้ผลผลิตความเข้มข้นของเอทานอล 0.95 กรัมต่อลิตร

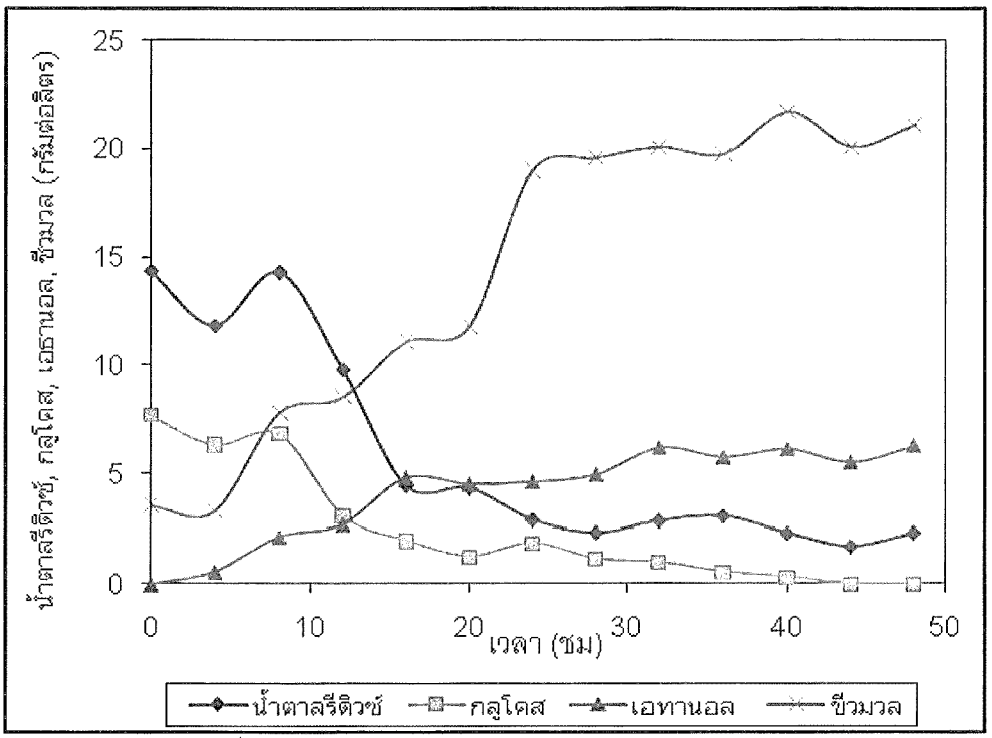
ดังนั้นการศึกษานี้แสดงว่าการเพิ่มปริมาตรการผลิตเอทานอลโดยใช้เมล็ดข้าวบดเป็นแหล่งอาหารจากการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์สามารถเพิ่มปริมาตรเอทานอลได้ถึง 70 ลิตรในความเข้มข้นเอทานอลสูงเท่ากับการหมักปริมาตร 5 ลิตร ภายใต้ระบบการหมักในการศึกษาทดลอง

ในการศึกษาต่อไปจึงได้ศึกษาผลของการเพิ่มความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบดจาก 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็น 1.5 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์ในปริมาตรการหมัก 70 ลิตรโดยอะไมโลไลติคยีสต์ต่อความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้

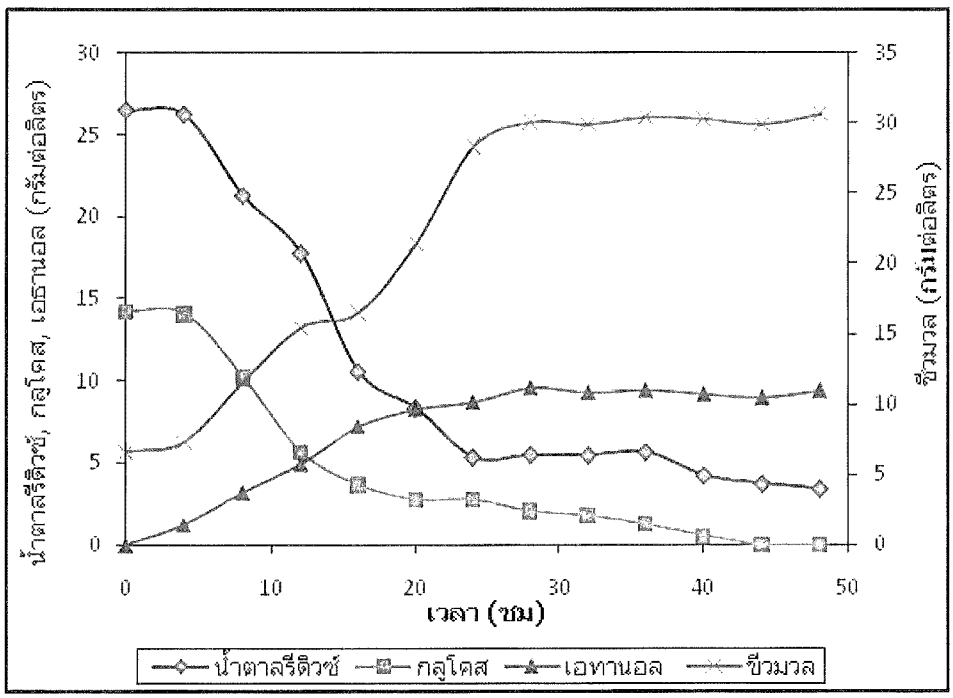
การศึกษาผลของความเข้มข้นเมล็ดข้าวบดต่อการผลิตเอทานอลอะไมโลไลติคยีสต์ปริมาตรการผลิต 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์



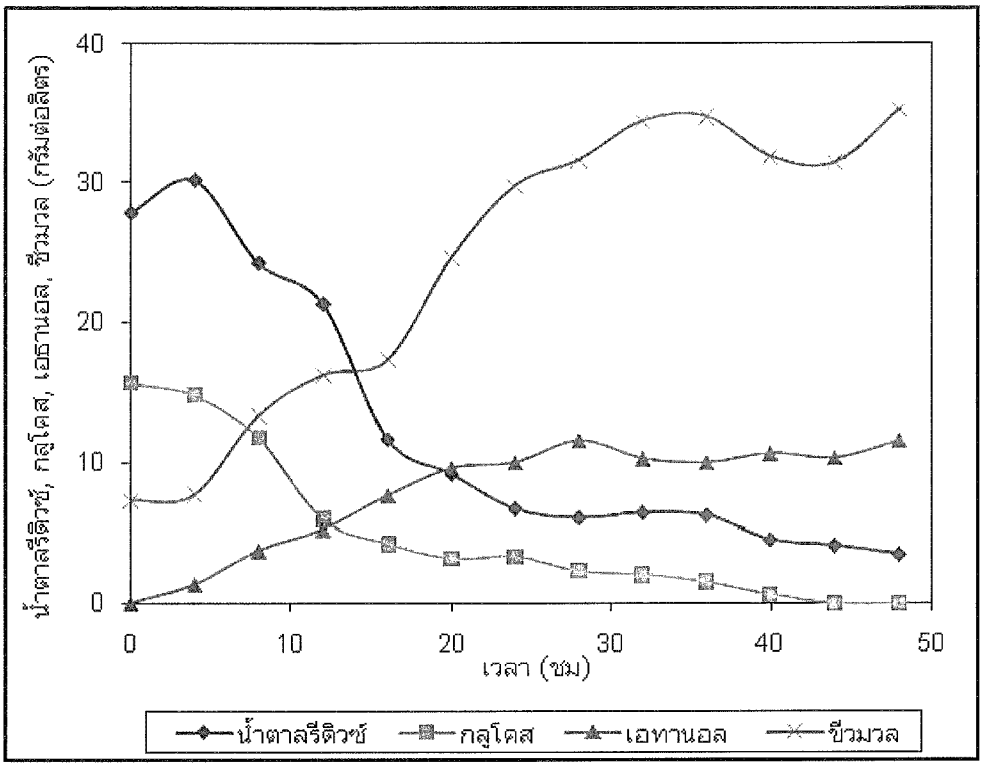
ภาพที่ 38 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบดปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.25



ภาพที่ 39 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบดปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.26



ภาพที่ 40 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบดปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.27



ภาพที่ 41 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เมล็ดข้าวบดปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยเติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.28

การเพิ่มความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบดจาก 0.25 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 37) เป็น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 38) และ 3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 40) ปริมาตรการผลิตเอทานอล 70 ลิตร สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้สูงกว่าเดิม 5.57 เท่าและ10.62 เท่า ตามลำดับเมื่อทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดเจือจาง ปริมาตรการผลิตเอทานอล 70 ลิตร ดังนั้นการใช้เมล็ดข้าวบดจึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลให้มีความเข้มข้นสูงขึ้นได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเมล็ดข้าวบดเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสัมประสิทธิการผลิต ($Y_{p/s}$) (ตารางที่ 9) ลดลง 0.88 เท่า ตามลำดับ การพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกลั่นไม่เติมเอนไซม์ (ภาพที่ 37)ให้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้กรดเจือจางทำการพรีทรีตเมนต์ และการเติมเอนไซม์ให้ผลผลิตเอทนอลสูงสุด โดยความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 11.50 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 41 และ ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 การศึกษาเปรียบเทียบการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากเมล็ดข้าวบดโดยอะไมโลไลติคยีสต์ในระบบการหมักแบบขั้นตอนเดียวโดยไม่เติมเอนไซม์ โดยเมล็ดข้าวบดที่ทำการพรีทรีตเมนต์โดยภายใต้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วอุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตรถึง 70 ลิตร

Pretreatment	Enzyme	DM* (%)	Batch volume	C_E	P_{max}	Q_E	$Y_{p/s}$
Diluted acid	-	0.125	100 mL	0.43	0.54	0.04	0.51
Diluted acid	-	0.25	100 mL	0.43	1.07	0.07	0.50
Diluted acid	-	0.5	100 mL	0.37	1.87	0.11	0.44
Diluted acid	-	0.25	5 L	0.38	0.95	0.06	0.45
Diluted acid	-	0.25	70 L	0.36	0.90	0.06	0.42
Diluted acid	-	1.5	70 L	0.33	5.02	0.49	0.39
Distilled water	-	3.0	70 L	0.21	6.30	0.27	0.24
Diluted acid	-	3.0	70 L	0.32	9.56	0.49	0.37
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3.0	70 L	0.38	11.50	0.49	0.44

*Dry matter

C_E Ethanol yield per unit biomass (g (g-biomass)$^{-1}$)

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

P_{max} Maximum ethanol production (g/L)

$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total carbohydrate)$^{-1}$)

จากตารางที่ 8 การเปรียบเทียบความเข้มข้นเมล็ดข้าวบดความเข้มข้นจาก 0.125-0.5 เปอร์เซ็นต์ในปริมาตรการผลิต 100 มิลลิลิตรโดยอะไมโลไลติคยีสต์ ให้ผลผลิตเอทานอลเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดข้าวบดความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก 0.125 เปอร์เซ็นต์ ถึง 0.5 เปอร์เซ็นต์โดย สัมประสิทธิการผลิตต่อหน่วยน้ำหนักวัตถุดิบและสัมประสิทธิการผลิตต่อหน่วยน้ำหนักคาร์โบไฮเดรตมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่าอะไมโลไลติคยีสต์สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและผลิตเอทานอลได้โดยไม่ต้องเติมเอนไซม์ในการย่อยแป้ง

เมื่อเพิ่มปริมาตรเป็น 5 ลิตร และ 70 ลิตรโดยใช้ความเข้มข้นเมล็ดข้าวบดเป็น 0.25 เปอร์เซ็นต์ ให้ความเข้มข้นของผลผลิตเอทานอลใกล้เคียงกันโดยสัมประสิทธิการผลิตลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร การเพิ่มปริมาตรการผลิตเอทานอลเป็น 70 ลิตรและเพิ่ม

ความเข้มข้นเมล็ดข้าวบดเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ จะเพิ่มความเข้มข้นการผลิตเอทานอลได้สูงขึ้นดังนั้นจะเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้ ข้อดีของการใช้เมล็ดข้าวบดได้แก่เป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักมีส่วนของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสน้อย ดังนั้นการผลิตเป็นน้ำตาลจึงไม่ต้องใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส จึงเป็นการลดต้นทุนในขณะที่การผลิตเอทานอลปริมาตร 70 ลิตร โดยใช้ความเข้มข้นเมล็ดข้าวบดเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ มีสัมประสิทธิการผลิตคิดเป็น 72 เปอร์เซ็นต์ในทางทฤษฎี

ดังนั้นจากผลการศึกษานี้แสดงว่าเมล็ดข้าวสามารถใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ได้ โดยสามารถเพิ่มความเข้มข้นได้สูงและผลิตได้ในปริมาตรสูงอย่างน้อย 70 ลิตรโดยไม่เติมเอมไซม์ในการย่อยในระบบการหมัก

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังในการผลิตเอทานอลโดยเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์พบว่าการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สำหรับการพรีทรีตเมนต์ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการอบด้วยไอน้ำอย่างเดียว และการอบด้วยไอน้ำร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ ในการศึกษาได้เติมเอนไซม์เซลลูเลส และเอนไซม์เฮมิเซลลูเลสเพื่อเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลพบว่าทำให้เพิ่มผลผลิตเอทานอลสูงขึ้น ดังนั้นจากการทดลองอะไมโลไลติคยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูง ในการเพิ่มปริมาตรการหมักจึงได้ศึกษาทดลองในถังปฏิกรณ์แบบกวนด้วยใบพัด โดยปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ลิตร และความเข้มข้นเพิ่มเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ผลการศึกษาพบว่าให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าทั้งในถังปฏิกรณ์ที่ไม่เติมเอนไซม์และถังปฏิกรณ์ที่เติมเอนไซม์ โดยมีผลประสิทธิภาพการผลิต (Yp/s) ใกล้เคียงกับปริมาตรการหมัก 100 มิลลิลิตร ในการเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์การหมักปริมาตร 200 ลิตร ให้ผลผลิตเอทานอลลดลงคิดเป็น 90-95 เปอร์เซ็นต์ของการหมักในปริมาตร 5 ลิตร และ 100 มิลลิลิตร อาจเนื่องจากปริมาตรอาหารหมักที่มีเพิ่มขึ้นและสภาวะการหมักมีความแตกต่างกัน การเพิ่มผลผลิตเอทานอลในการผลิตในปริมาตร 70 ลิตร จึงอาจพัฒนาการพรีทรีตเมนต์และสภาวะการหมักให้เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตต่อไป

การพรีทรีตเมนต์เป็นขั้นตอนที่มีส่วนในการทำให้สารอาหารมีการสลายตัวเพื่อให้เอนไซม์สามารถทำปฏิกิริยาเป็นน้ำตาลได้สูงขึ้น จากผลการศึกษาการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกเจือจางจะเพิ่มการลลายตัวเป็นน้ำตาลของวัตถุดิบที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักดังนั้นในการศึกษาการใช้เมล็ดข้าวบดเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลจึงได้พรีทรีเมนต์ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในสภาวะที่เหมาะสม เนื่องจากเมล็ดข้าวมีความหนืดค่อนข้างสูงการเตรียมความเข้มข้นสูงมีผลต่อความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อดังนั้นในการศึกษาได้เปรียบเทียบความเข้มข้นของเมล็ดข้าวบด 0.125-0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ให้ผลผลิตเอทานอลใกล้เคียงกับที่ความเข้มข้น 0.125 เปอร์เซ็นต์ ในการศึกษาการเพิ่มปริมาตรอาหารเป็น 5 ลิตร และ 70 ลิตรจึงให้ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการศึกษาพบว่าปริมาตรการหมัก 5 ลิตรให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร ส่วนการหมักปริมาตร 70 ลิตรให้ผลผลิตคิดเป็น 82.35 เปอร์เซ็นต์ของการหมักปริมาตร 100

มิลลิลิตร ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยใช้เมล็ดข้าวบดเป็นวัตถุดิบจึงต้องพัฒนาการพรีทรีตเมนต์และสภาวะการหมักให้เหมาะสมต่อไป

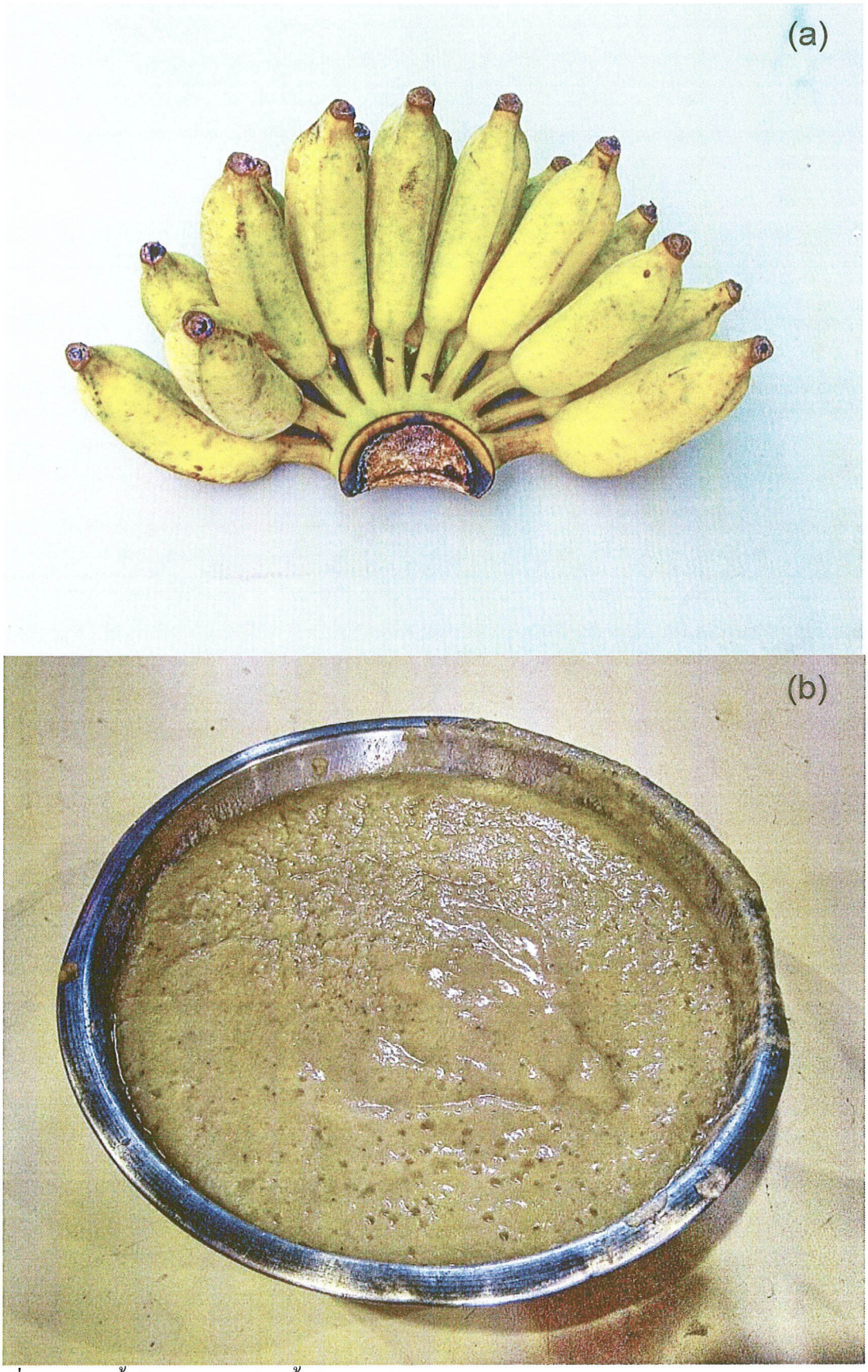
การผลิตเอทานอลจากเมล็ดข้าวบดโดยใช้เชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้การพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริก ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงกว่ากากมันสำปะหลัง การหมักเมล็ดข้าวบดให้ค่า C_E (theoretical yield based on total biomass) รวมถึงค่า Yp/s (theoretical yield based on total carbohydrate) ทั้งนี้เพราะปริมาณองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตและแป้งในกากมันสำปะหลังน้อยกว่าในเมล็ดข้าวบดและ ซึ่ง ค่า theoretical yield based on total carbohydrate คำนวณจาก 100 x (ความเข้มข้นเอทานอล x 0.9)/(ความเข้มข้นคาร์โบไฮเดรต x 0.51) การศึกษาผลการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Maneeboon (2008) ได้ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลัง ในการเพาะเลี้ยงแบบ solid state โดยเมื่อหมักกากมัน 22.9 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเชื้อเดี่ยวสายพันธุ์ *R. oryzae* TISTR 3523 ได้ค่า C_E เท่ากับ 0.17 กรัมต่อกรัมชีวมวล

การเติมเอนไซม์ทำให้เพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยแสดงให้เห็นว่าการเติมเอนไซม์ช่วยลดเพิ่มการย่อยสลายองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตส่วนที่ไม่ใช้แป้งและเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยแป้งในกากมันสำปะหลังโดยอะไมโลไลติคยีสต์ให้ได้ผลผลิตเอทานอลสูงขึ้นในระหว่างการหมัก

ในการผลิตเอทานอลโดยการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลสในระบบ SHF โดยใช้ยีสต์ปกติและ อะไมโลไลติคยีสต์แสดงให้เห็นว่าอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. diastaticus* 5547 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่ายีสต์ปกติและอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. fibuligera* 2321 จึงนำเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. diastaticus* 5547 มาทำการเพาะเลี้ยงในกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยไม่เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การผลิตเอทานอลโดย *S. diastaticus* 5547 ในระบบ SHF ซึ่งทำการย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลก่อนโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ให้ผลผลิตเอทานอลได้ใกล้เคียงกับการผลิตเอทานอลโดย *S. diastaticus* 5547 ในระบบ SSF ซึ่งไม่ได้เติมแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส แสดงการย่อยแป้งในกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดสจาก *S. diastaticus* 5547 ทำให้ไม่ต้องเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดสจากภายนอกลงในกากมันสำปะหลังเพื่อย่อยแป้ง ดังนั้นอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. diastaticus* 5547 จึงมีความเหมาะสำหรับการนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลัง และผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก

การผลิตเอทานอลโดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้า

ภาพที่ 42 เปลือกกล้วยน้ำว้า (a) และเปลือกกล้วยน้ำว้าบดละเอียด (b)



ภาพที่ 43 กล้วยน้ำว้า (a) และกล้วยน้ำว้าบดละเอียด (b)

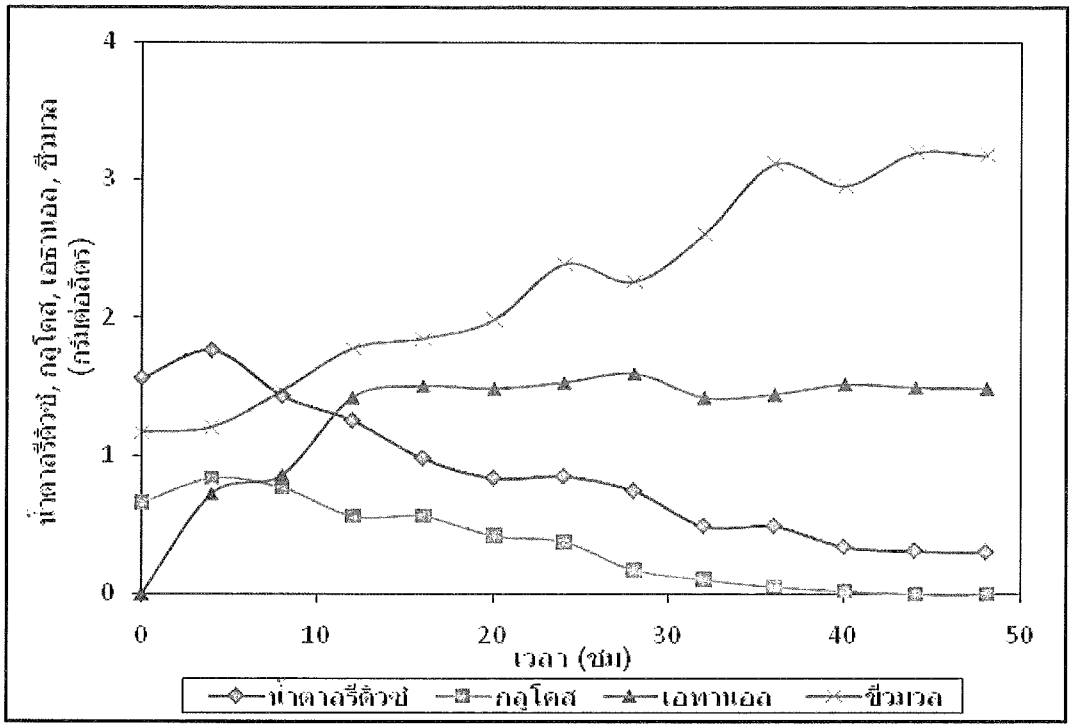
ตารางที่ 9 องค์ประกอบ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลสและ แป้งในเปลือกกล้วยและผลกล้วย

Constituents	% of wet weight		
	เปลือกกล้วย	ผลกล้วย	กล้วยทั้งผล
TSs	14.53–17.12	19.43-21.74	22.72-25.64
Moisture	82.47-86.21	72.24-78.49	81.42-87.23
Organic components (%TSs)			
Hemicellulose	12.57 ± 1.41	-	3.43 ± 1.26
Cellulose	15.48 ± 0.24	-	4.17 ± 0.34
Lignin	11.48 ± 1.67	2.14 ± 0.63	5.22 ± 0.62
Crude protein	6.41 ± 0.43	3.36 ± 0.28	4.74 ± 0.27
Starch	32.75 ± 0.21	59.34 ± 0.52	47.35 ± 0.16

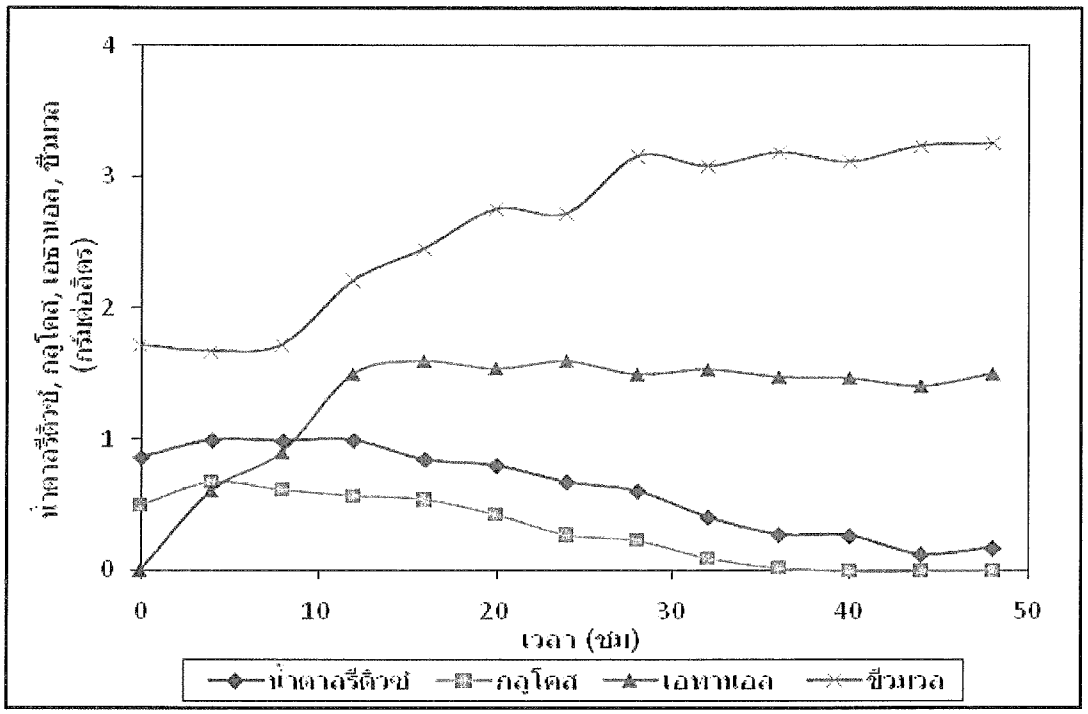
ผลการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของเปลือกกล้วย ผลกล้วย และผลกล้วยทั้งผลดังแสดงในตารางที่ 9 เปลือกกล้วย ผลกล้วย และผลกล้วยทั้งผลมีแป้งเป็นส่วนใหญ่ เปลือกกล้วย มีองค์ประกอบด้วยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส รองลงมาจากแป้ง ในผลกล้วยทั้งผลมีองค์ประกอบเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษานำกล้วยน้ำว้ามาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์

การศึกษาผลการพรีทรีตเมนต์เปลือกกล้วยน้ำว้าเป็นแหล่งอาหารต่อการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์

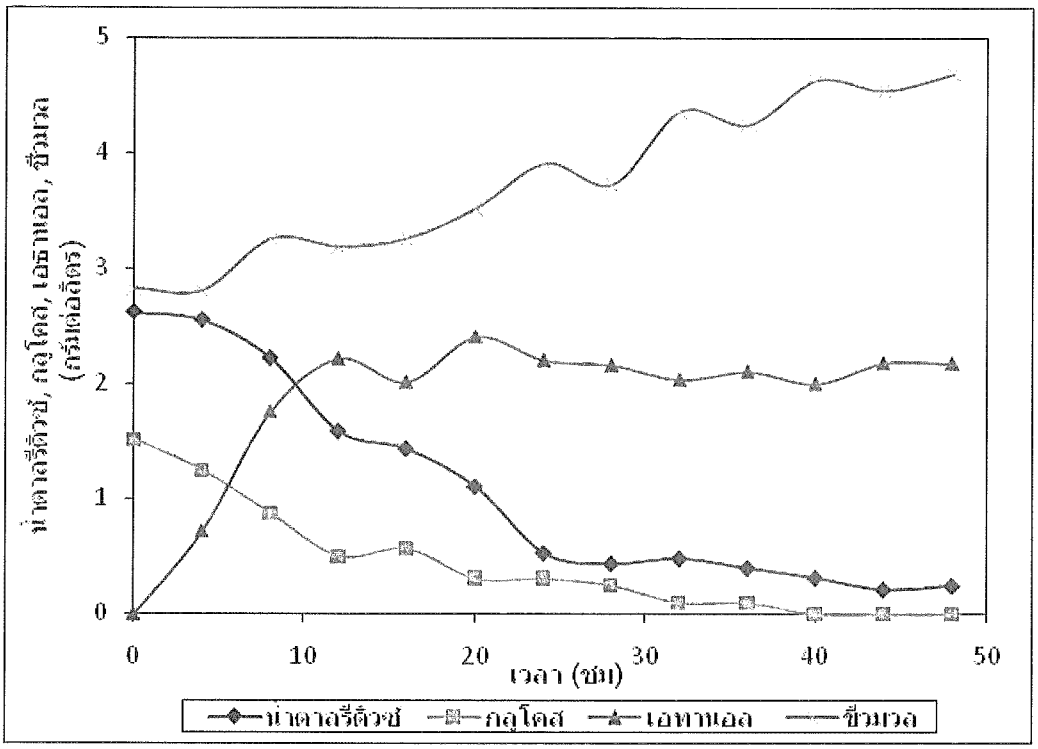
การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยเปลือกกล้วยน้ำว้า ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับพีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงของการหมัก เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 1.59 1.54 และ 2.40 กรัมต่อลิตร ตามลำดับซึ่งผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 44-46 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 10



ภาพที่ 44 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหาร โดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมัก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.29



ภาพที่ 45 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์เป็นสารอาหาร โดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.30



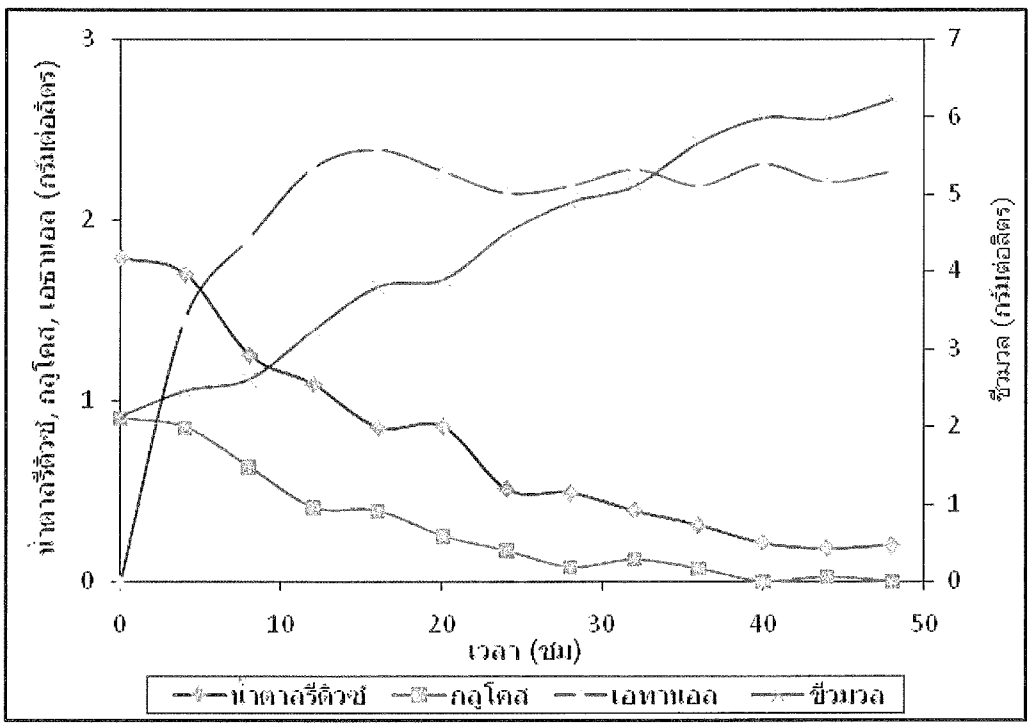
ภาพที่ 46 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ มาจากตาราง ข.31

ผลการพรีทรีตเมนต์เปลือกกล้วยน้ำว้าโดยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำเป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ได้เพิ่มผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการพรีทรีเมนต์ด้วยน้ำกลั่นและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการหมักยังคงมีน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ จึงอาจมีแป้งหรือส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกใช้ในการผลิตเอทานอลในอาหารหมักตามแสดงในรูปที่ 44-46 การใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จึงเป็นการพรีทรีตเมนต์ที่เหมาะสมสำหรับเปลือกกล้วยน้ำว้าเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอล

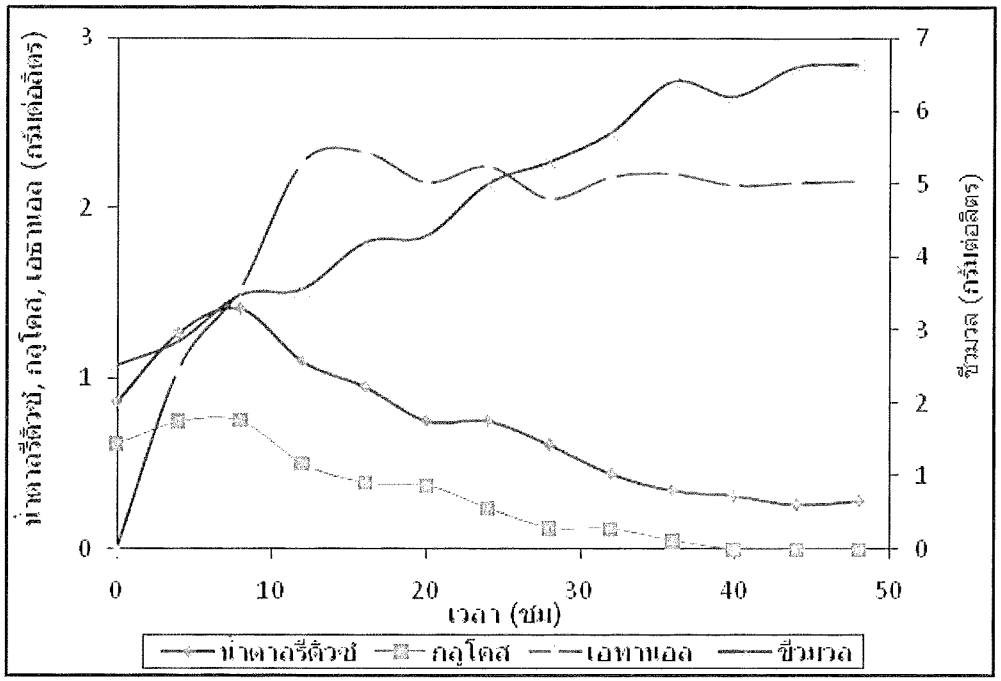
จากผลการศึกษาทดลองจึงได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการพรีทรีตเมนต์โดยใช้น้ำกลั่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ และกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาใช้เป็นอาหารโดยเติมเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส และทำการหมักแบบ SSF สำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์

การศึกษาผลการพรีทรีตเมนต์เปลือกกล้วยน้ำว้าเป็นแหล่งอาหารต่อการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยเติมเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส

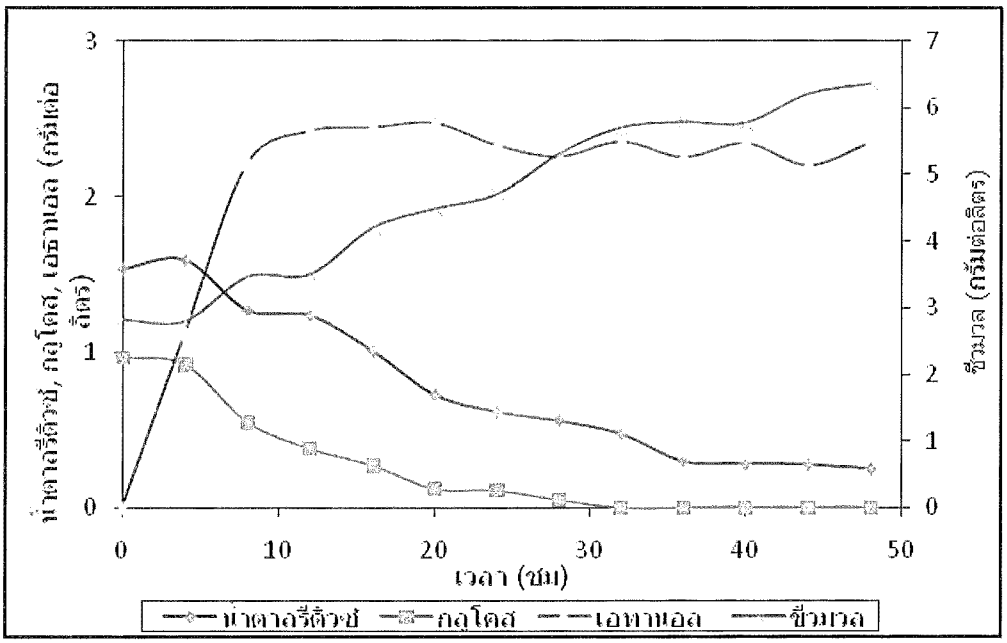
การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยเปลือกกล้วยน้ำว้า ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วยน้ำกลั่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ และกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการ อบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีปรับ พีเอช 5.5 และเติมสารละลายเอนไซม์ เฉพาะเซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 2.39 2.32 และ 2.47 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 47-49 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 10



ภาพที่ 47 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.32



ภาพที่ 48 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์เป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.33

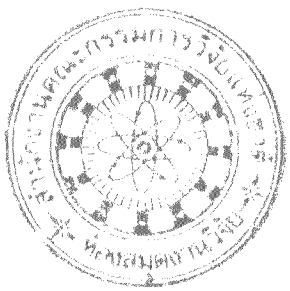


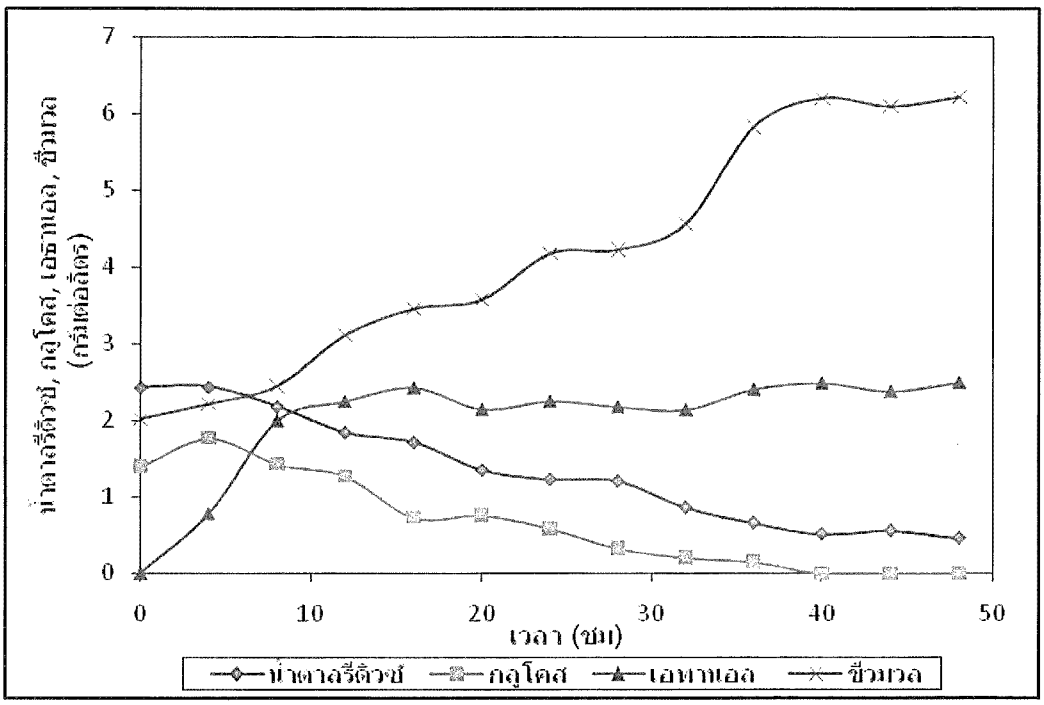
ภาพที่ 49 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาจากตาราง ข.34

ผลการพรีทรีตเมนต์เปลือกกล้วยน้ำว้าโดยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำเป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอลโดยเติมเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส โดยอะไมโลไลติคยีสต์ในการหมักแบบ SSF ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการพรีทรีเมนต์ด้วยน้ำกลั่นและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ จากผลการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จึงเป็นการพรีทรีตเมนต์ที่เหมาะสมสำหรับเปลือกกล้วยน้ำว้าเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอล และการเติมเอนไซม์มีผลให้เพิ่มผลผลิตเอทานอลได้สูงขึ้น

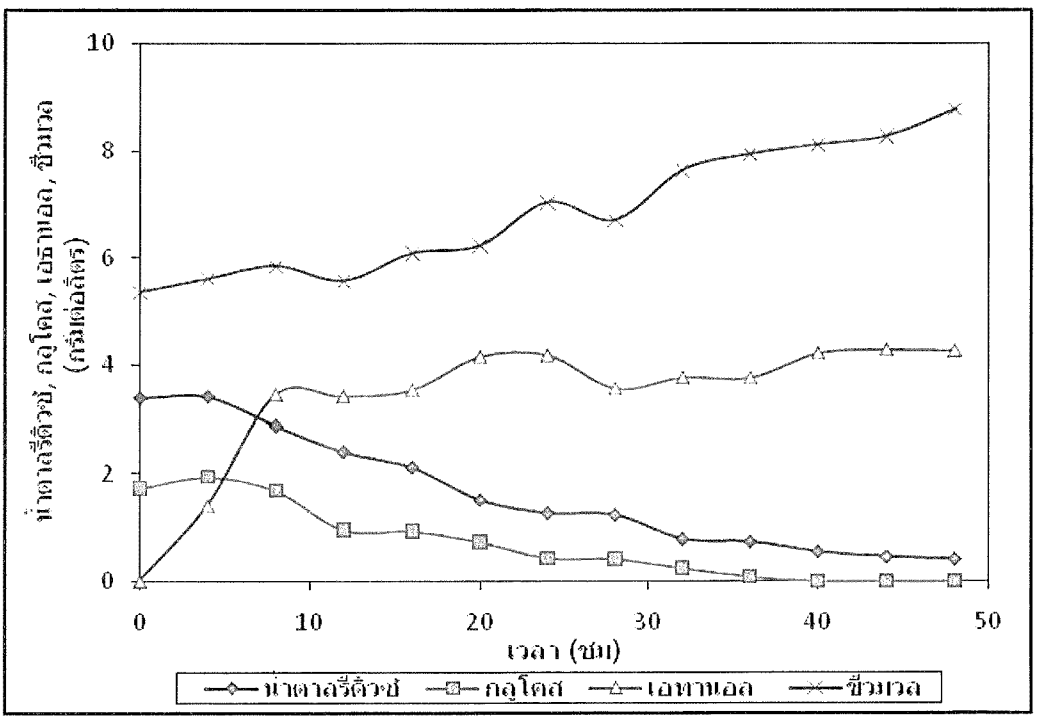
การศึกษาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยอะไมโลไลติคยีสต์ ในการหมักแบบ SSF ในถังปฏิกรณ์ 5 ลิตร

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้า 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ลิตรและปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยเปลือกกล้วยน้ำว้า ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงของการหมักและเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 2.48 และ 4.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 50-51 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 10





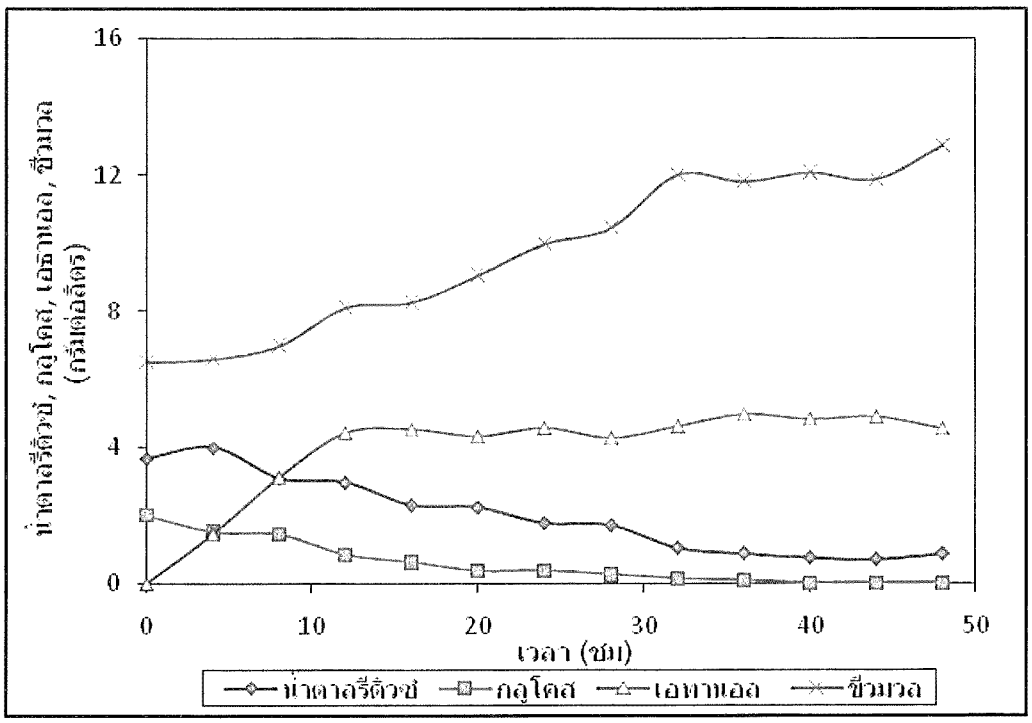
ภาพที่ 50 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 3 เปอร์เซ็นต์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมักปริมาตร 5 ลิตร มาจากตาราง ข.35



ภาพที่ 51 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 3 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ในการหมักปริมาตร 5 ลิตร มาจากตาราง ข.36

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้า 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยเปลือกกล้วยน้ำว้า ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางร่วมกับการ อบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีปรับ พีเอช 5.5 และเติมสารละลายเอนไซม์ เฉพาะเซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 4.94 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 41 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 10



ภาพที่ 52 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ เปลือกกล้วยน้ำว้า 3 เปอร์เซ็นต์ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยเติมเฉพาะเอนไซม์ เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 5 ลิตร มาจากตาราง ข.37

การศึกษาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยพิ่มความข้มข้นของเปลือกกล้วยน้ำว้าเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 5 ลิตร โดยการพรีทรีตเมนต์โดย น้ำกลั่น (ภาพที่ 50) เปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์(ภาพที่ 51) ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาเป็นแหล่ง

อาหารสำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ ผลการทดลองแสดงว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้น้ำกลั่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารละลายกรดทำลายโครงสร้างแป้งและลิกโนเซลลูโลส เมื่อทำการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ทำให้ผลิตเอทานอลสูงขึ้น

ส่วนการหมักแบบ SSF โดยเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส (ภาพที่ 52) ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการไม่เติมเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ช่วยย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลส ทำให้มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น

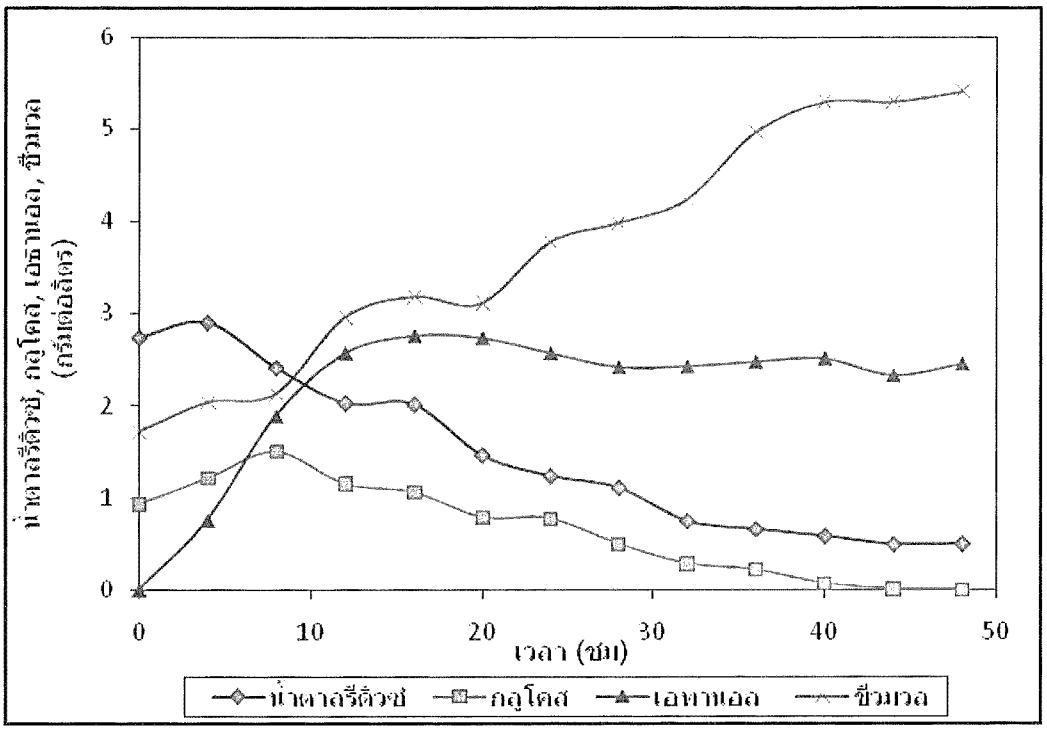
ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยการหมักในปริมาตร 5 ลิตรในถังปฏิกรณ์ สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเปลือกกล้วยน้ำว้าได้อย่างน้อย 3 เปอร์เซ็นต์โดยการพรีทรีเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และการเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส มีส่วนในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลในกระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์

จากผลการศึกษาทดลองจึงได้ทำการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากเปลือกกล้วยน้ำว้า โดยการเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์ โดยอะไมโลไลติคยีสต์ในระบบที่เติมเอนไซม์และไม่เติมเอนไซม์

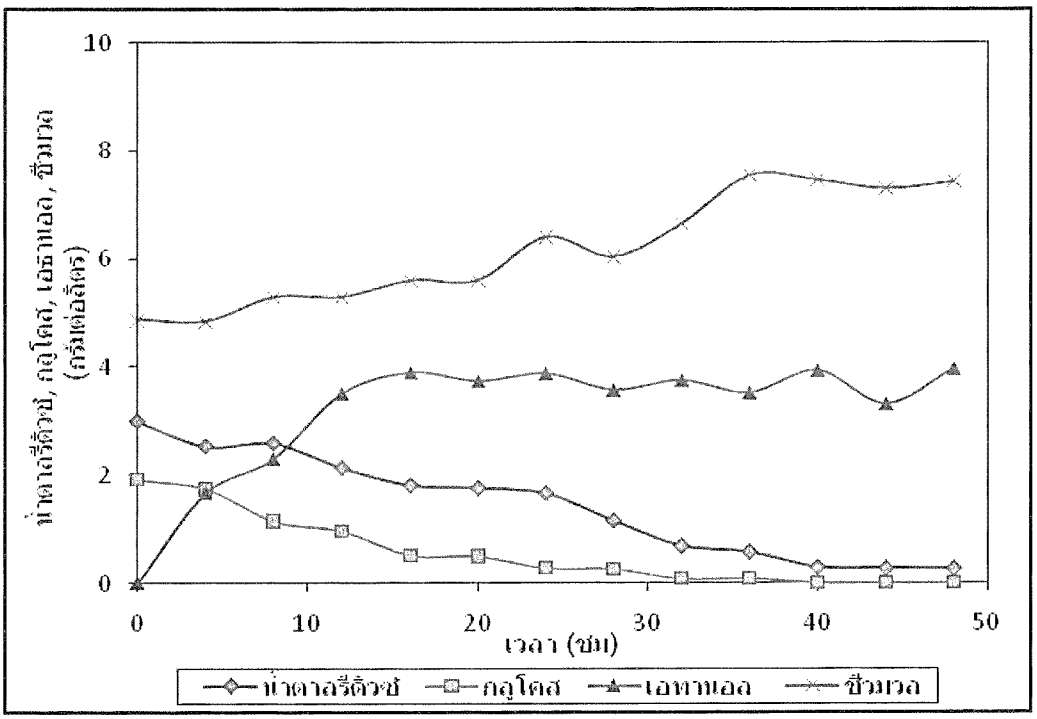
การศึกษาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยอะไมโลไลติคยีสต์ ในการหมักแบบ SSF ในถังปฏิกรณ์ 70 ลิตร

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้า 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 70 ลิตรและปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยเปลือกกล้วยน้ำว้า ถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 2.75 และ 3.96 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 53-54 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 10



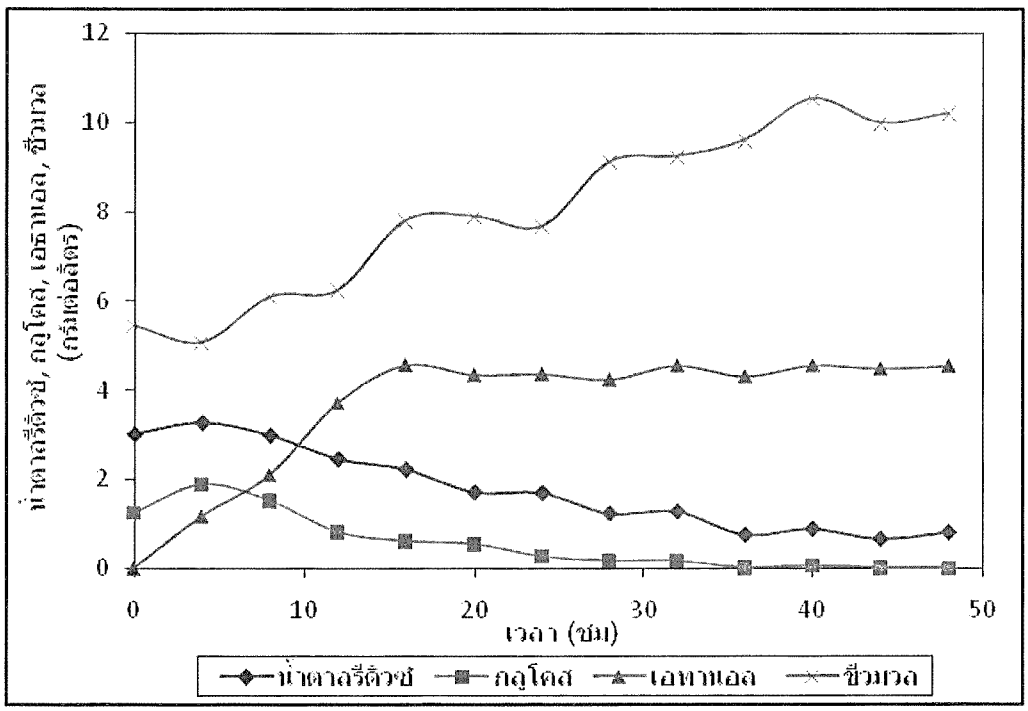
ภาพที่ 53 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้าปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.38



ภาพที่ 54 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้าปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในปริมาตรอาหาร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.39

การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้า 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 70 ลิตร และปริมาณสารอาหารอื่นๆ โดยเปลือกกล้วยน้ำว้า กรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการ อบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีปรับ พีเอช 5.5 และเติมสารละลายเอนไซม์ เฉพาะเซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 4.55 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 44 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 10



ภาพที่ 55 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้เปลือกกล้วยน้ำว้าปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหาร โดยเติมเฉพาะเอนไซม์เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลสในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.40

การศึกษาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยเพิ่มความเข้มข้นของเปลือกกล้วยน้ำว้าเป็น 3 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 70 ลิตรโดยการพรีทรีตเมนต์โดย น้ำกลั่น (ภาพที่ 53) เปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ภาพที่ 54) ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาเป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ ผลการ

ทดลองแสดงว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้น้ำกลั่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารละลายกรดทำลายโครงสร้างแป้งและลิกโนเซลลูโลส เมื่อทำการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ทำให้ผลิตเอทานอลสูงขึ้น

ส่วนการหมักแบบ SSF โดยเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส (ภาพที่ 55) ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการไม่เติมเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ช่วยย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลส ทำให้มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น

ดังนั้นเปลือกกล้วยน้ำว้าสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลได้การเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากโดยการหมักในปริมาตร 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์ โดยเพิ่มความเข้มข้นของได้อย่างน้อย 3 เปอร์เซ็นต์ การพรีทรีเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์มีส่วนในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดย กระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ และการเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลสจะเพิ่มผลผลิตเอทานอลเปลือกกล้วยน้ำว้าในกระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์

ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยการหมักในปริมาตร 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์ สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเปลือกกล้วยน้ำว้าได้อย่างน้อย 3 เปอร์เซ็นต์โดยการพรีทรีเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และการเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส มีส่วนในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลในกระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์

ตารางที่ 10 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยการพรีทรีตเมนต์โดยน้ำกลั่นด่างความเข้มข้น 0.025 เปอร์เซ็นต์ และ กรดซัลฟูริก 0.1 โมลาร์ภายใต้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วอุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตรถึง 70 ลิตร

Pretreament	Enzyme	DM* (%)	Batch volume	C_E	P_{max}	Q_E	$Y_{p/s}$
Water	-	1.5	100 mL	0.11	1.59	0.14	0.17
Diluted alkaline	-	1.5	100 mL	0.10	1.54	0.15	0.17
Diluted acid	-	1.5	100 mL	0.16	2.40	0.26	0.26
Water	Cellulase, Hemicellulase	1.5	100 mL	0.16	2.39	0.36	0.26
Diluted alkaline	Cellulase, Hemicellulase	1.5	100 mL	0.16	2.32	0.26	0.26
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	1.5	100 mL	0.17	2.47	0.27	0.27
Water	-	3	5 L	0.08	2.48	0.30	0.14
Diluted acid	-	3	5 L	0.14	4.25	0.51	0.23
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	5 L	0.17	4.94	0.42	0.27
Water	-	3	70 L	0.09	2.75	0.28	0.15
Diluted acid	-	3	70 L	0.12	3.96	0.30	0.22
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 L	0.15	4.55	0.40	0.25

*Dry matter

C_E Ethanol yield per unit biomass (g (g-biomass)$^{-1}$)

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

P_{max} Maximum ethanol production (g/L)

$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total carbohydrate)$^{-1}$)

ผลการศึกษาการใช้เปลือกกล้วยน้ำว้าในการผลิตเอทานอลโดยเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์พบว่าการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สำหรับการพรีทรีตเมนต์ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการอบด้วยไอน้ำอย่างเดียว และการอบด้วยไอน้ำร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.025 เปอร์เซ็นต์ ในการศึกษาได้เติมเอนไซม์เซลลูเลส และเอนไซม์เฮมิเซลลูเลสเพื่อเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลพบว่าทำให้เพิ่มผลผลิตเอทานอลสูงขึ้น ดังนั้นจากการทดลองอะไมโลไลติคยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูง ในการเพิ่มปริมาตรการหมักจึงได้ศึกษาทดลองในถังปฏิกรณ์แบบกวนด้วยใบพัด โดยปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ลิตร และความเข้มข้นเพิ่มเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ผลการศึกษาพบว่าให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าทั้งในถังปฏิกรณ์ที่ไม่เติมเอนไซม์และถังปฏิกรณ์ที่เติมเอนไซม์ โดยมีผลประสิทธิภาพการผลิต (Yp/s) ใกล้เคียงกับปริมาตรการหมัก 100 มิลลิลิตร ในการเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์การหมักปริมาตร 200 ลิตร ให้ผลผลิตเอทานอลลดลงคิดเป็น 90-95 เปอร์เซ็นต์ของการหมักในปริมาตร 5 ลิตร และ 100 มิลลิลิตร อาจเนื่องจากปริมาตรอาหารหมักที่มีเพิ่มขึ้นและสภาวะการหมักมีความแตกต่างกัน การเพิ่มผลผลิตเอทานอลในการผลิตในปริมาตร 70 ลิตรจึงอาจพัฒนาการพรีทรีตเมนต์และสภาวะการหมักให้เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตต่อไป

การพรีทรีตเมนต์เป็นขั้นตอนที่มีส่วนในการทำให้สารอาหารมีการสลายตัวเพื่อให้เอนไซม์สามารถทำปฏิกิริยาเป็นน้ำตาลได้สูงขึ้น จากผลการศึกษาการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกเจือจางจะเพิ่มการลลายตัวเป็นน้ำตาลของวัตถุดิบที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักดังนั้นในการศึกษาการใช้ผลกล้วยน้ำว้าบดเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลจึงได้พรีทรีเมนต์ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในสภาวะที่เหมาะสม เนื่องจากเมล็ดข้าวมีความหนืดค่อนข้างสูงการเตรียมความเข้มข้นสูงมีผลต่อความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อดังนั้นในการศึกษาได้เปรียบเทียบความเข้มข้นของผลกล้วยน้ำว้าบด 0.125-0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ให้ผลผลิตเอทานอลใกล้เคียงกับที่ความเข้มข้น 0.125 เปอร์เซ็นต์ ในการศึกษาการเพิ่มปริมาตรอาหารเป็น 5 ลิตร และ 70 ลิตรจึงให้ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการศึกษาพบว่าปริมาตรการหมัก 5 ลิตรให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร ส่วนการหมักปริมาตร 70 ลิตรให้ผลผลิตคิดเป็น 82.35 เปอร์เซ็นต์ของการหมักปริมาตร 100 มิลลิลิตร ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยใช้ผลเปลือกกล้วยน้ำว้าบดเป็นวัตถุดิบจึงต้องพัฒนาการพรีทรีตเมนต์และสภาวะการหมักให้เหมาะสม

จากผลการศึกษาแสดงว่าเปลือกกล้วยน้ำว้าสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบการผลิตเอทานอลได้โดยการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนเอนไซม์ได้และจากการศึกษาการพรีทรีตเมนต์แสดงว่าการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เป็นปัจจัยหนึ่งที่เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่ต้องเติมเอนไซม์ การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสามารถทำได้โดยการเพิ่มความเข้มข้นของเปลือกกล้วยน้ำว้า ได้อย่างน้อย 3 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 70 ลิตร โดยสัมประสิทธิการผลิตมีค่าใกล้เคียงกับการผลิตที่

ความเข้มข้นต่ำและการผลิตในปริมาตรต่ำ การเพิ่มสัมประสิทธิการผลิตอาจทำได้โดยการพัฒนากระบวนการพรีทรีตเมนต์ การย่อยสลายเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ และพัฒนาระบบการหมักซึ่งมีความเป็นไปได้ในการเพิ่มสัมประสิทธิการผลิต ดังนั้นเปลือกกล้วยน้ำว้าจึงเป็นวัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลในปริมาณสูงได้โดยการหมักด้วยอะไมโลไลติคยีสต์

การผลิตเอทานอลโดยการหมักจากกล้วยน้ำว้าเป็นแหล่งอาหาร

การผลิตเอทานอลจากผลกล้วยน้ำว้าบดโดยใช้เชื้อเดี่ยว *S. diastaticus* 5547 โดยใช้การพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริก ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงกว่าเปลือกกล้วยน้ำว้า การหมักผลกล้วยน้ำว้าบดให้ค่า C_E (theoretical yield based on total biomass) รวมถึงค่า Yp/s (theoretical yield based on total carbohydrate) ทั้งนี้เพราะปริมาณองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตและแป้งในเปลือกกล้วยน้ำว้าน้อยกว่าในผลกล้วยน้ำว้าบดและ ซึ่ง ค่า theoretical yield based on total carbohydrate คำนวณจาก 100 x (ความเข้มข้นเอทานอล x 0.9)/(ความเข้มข้นคาร์โบไฮเดรต x 0.51) การศึกษาผลการผลิตเอทานอลจากเปลือกกล้วยน้ำว้ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Maneeboon (2008) ได้ศึกษาการย่อยเปลือกกล้วยน้ำว้า ในการเพาะเลี้ยงแบบ solid state โดยเมื่อหมักกากมัน 22.9 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเชื้อเดี่ยวสายพันธุ์ *R. oryzae* TISTR 3523 ได้ค่า C_E เท่ากับ 0.17 กรัมต่อกรัมชีวมวล

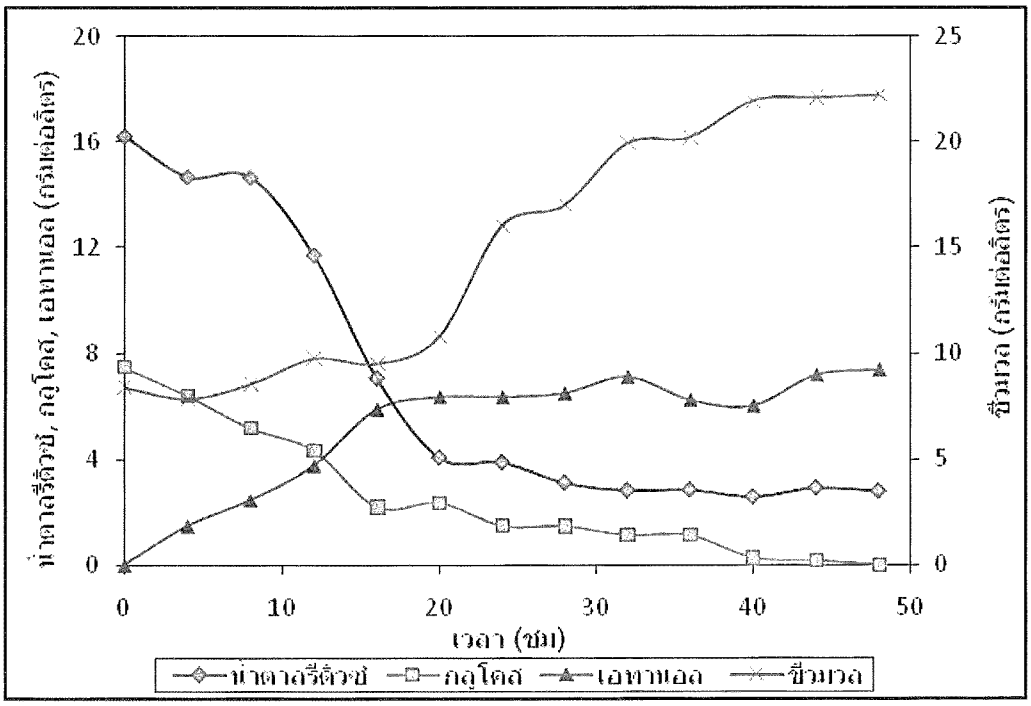
การเติมเอนไซม์ทำให้เพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยแสดงให้เห็นว่าการเติมเอนไซม์ช่วยลดเพิ่มการย่อยสลายองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตส่วนที่ไม่ใช้แป้งและเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยแป้งในเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยอะไมโลไลติคยีสต์ให้ได้ผลผลิตเอทานอลสูงขึ้นในระหว่างการหมัก

ในการผลิตเอทานอลโดยการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลสในระบบ SHF โดยใช้ยีสต์ปกติและ อะไมโลไลติคยีสต์แสดงให้เห็นว่าอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. diastaticus* 5547 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่ายีสต์ปกติและอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. fibuligera* 2321 จึงนำเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S. diastaticus* 5547 มาทำการเพาะเลี้ยงในเปลือกกล้วยน้ำว้าเพื่อผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยไม่เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดสได้ผลดังภาพที่ 7 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การผลิตเอทานอลโดย *S. diastaticus* 5547 ในระบบ SHF ซึ่งทำการย่อยเปลือกกล้วยน้ำว้าให้เป็นน้ำตาลก่อนโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ให้ผลผลิตเอทานอลได้ใกล้เคียงกับการผลิตเอทานอลโดย *S. diastaticus* 5547 ในระบบ SSF ซึ่งไม่ได้เติมแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส แสดงการย่อยแป้งในเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดสจาก *S. diastaticus* 5547 ทำให้ไม่ต้องเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดสจากภายนอกลงในเปลือกกล้วยน้ำว้าเพื่อย่อยแป้ง ดังนั้นอะไมโลไลติคยีสต์สายพันธุ์ *S.*

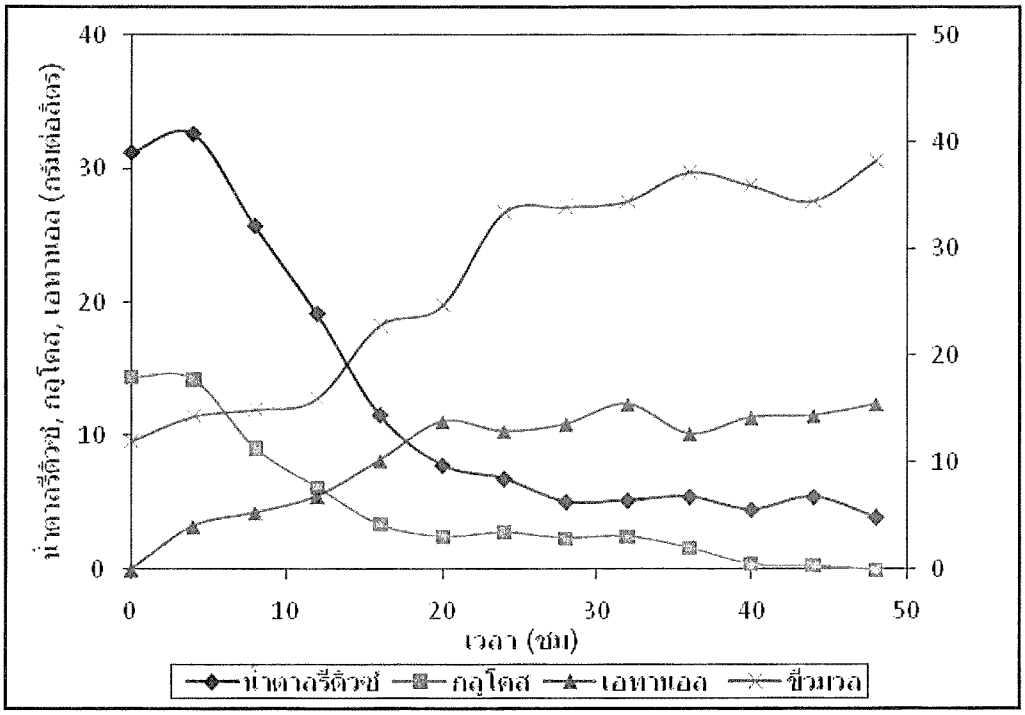
diastaticus 5547 จึงมีความเหมาะสำหรับการนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลจากเปลือกกล้วยน้ำว้า และผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักต่อไป

การหมักโดยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ผลกล้วยน้ำว้าบด 3 เปอร์เซ็นต์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร โดยผลกล้วยน้ำว้าบดถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ และเติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 7.34, 11.54 และ12.79 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 56-58

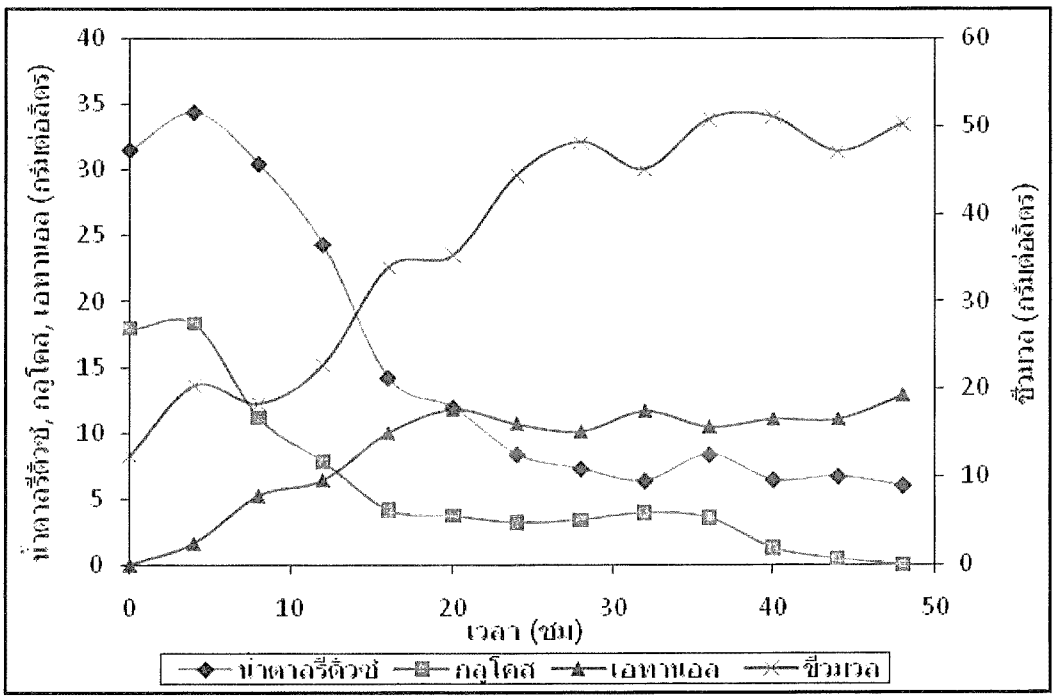
นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 11



ภาพที่ 56 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ผลกล้วยน้ำว้าบดปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.41



ภาพที่ 57 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ผลกล้วยน้ำว้าบดปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.42



ภาพที่ 58 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้ผลกล้วยน้ำว้าบดปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยเติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.43

จากผลการศึกษาการใช้เปลือกกล้วยน้ำว้าเป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอลในปริมาตร 70 ลิตรจึงนำมาใช้ในการศึกษาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดยเพิ่มความเข้มข้นของผลกล้วยน้ำว้าเป็น 3 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มปริมาตรการหมักเป็น 70 ลิตรโดยการพรีทรีตเมนต์โดย น้ำกลั่น (ภาพที่ 56) เปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ภาพที่ 57) ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาเป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ ผลการทดลองแสดงว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้น้ำกลั่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารละลายกรดทำลายโครงสร้างแป้ง เมื่อทำการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ทำให้ผลิตเอทานอลสูงขึ้น

ส่วนการหมักแบบ SSF โดยเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส (ภาพที่ 58) ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการไม่เติมเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส เพิ่มการย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลส ทำให้มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างไรก็ดีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นไม่มากนัก

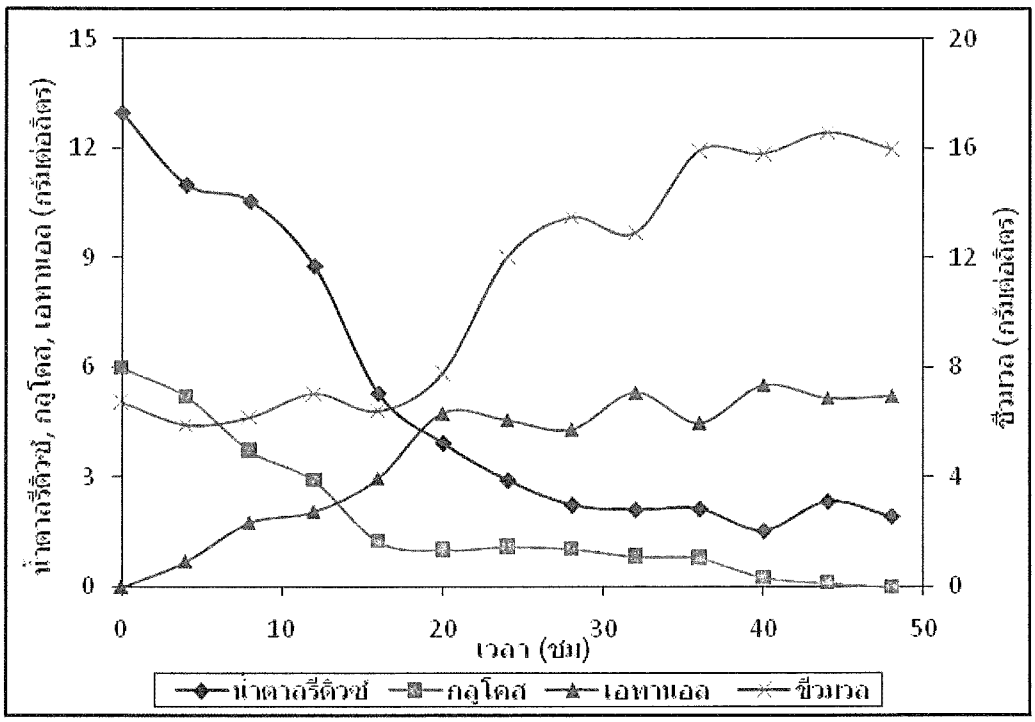
จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าผลกล้วยน้ำว้าสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลได้การเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากโดยการหมักในปริมาตร 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์ โดยเพิ่มความเข้มข้นของได้อย่างน้อย 3 เปอร์เซ็นต์ การพรีทรีเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์มีส่วนในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดย กระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ และการเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส จะเพิ่มผลผลิตเอทานอลผลกล้วยน้ำว้าในกระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์เล็กน้อย

ดังนั้นการใช้ผลกล้วยน้ำว้าเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลจึงสามารถทำได้โดยการพรีทรีตเมนต์ผลกล้วยด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ซึ่งจะให้ผลผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูง จึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์อีกทางหนึ่ง

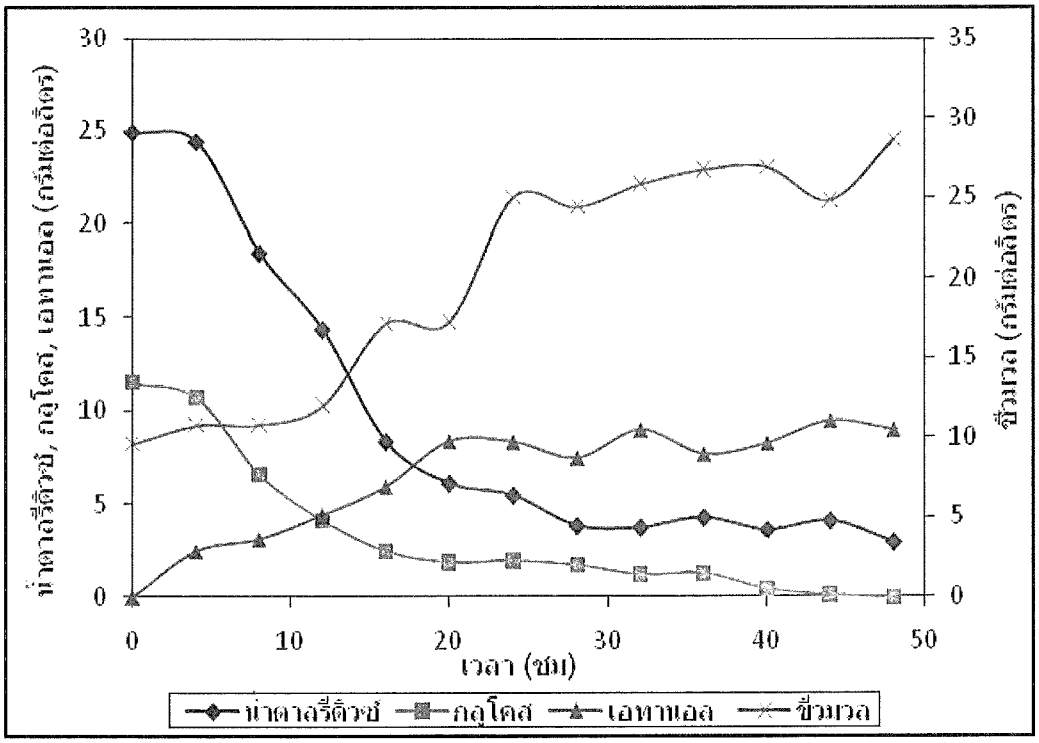
การผลิตเอทานอลโดยการหมักจากกล้วยน้ำว้าทั้งผลเป็นแหล่งอาหาร

การหมักโดยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กล้วยน้ำว้าทั้งผล 3 เปอร์เซ็นต์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร โดยผลกล้วยน้ำว้าบดถูกพรีทรีตเมนท์ด้วย น้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกเจือจาง ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปรับ พีเอช 5.5 โดยไม่เติมเอนไซม์ และเติมเอนไซม์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง ของการหมักและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กลูโคส เอทานอล และน้ำหนักชีวมวล พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสูงสุดคือ 5.50, 9.41 และ10.46 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 59-61

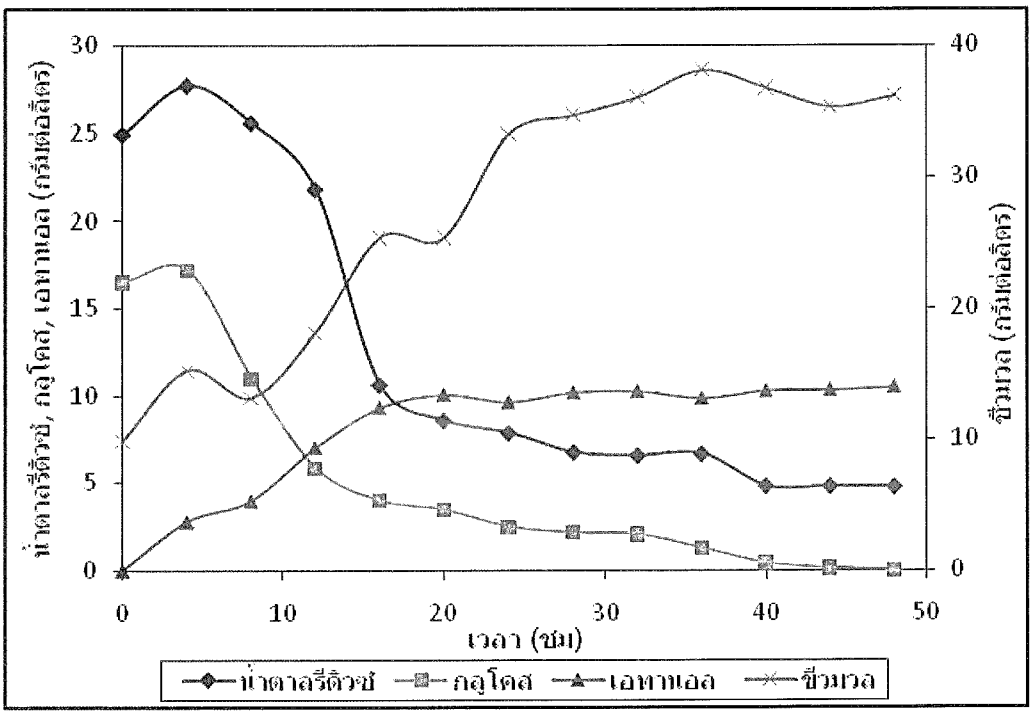
นำผลที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ Q_E (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) C_E (ผลได้ของเอทานอลจากชีวมวล) Yp/s (ผลได้ของเอทานอลจากคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด) และผลการเพาะเลี้ยง *S. diastaticus* 5547 ดังแสดงในตารางที่ 11



ภาพที่ 59 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กล้วยน้ำว้าทั้งผลปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำเป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.44



ภาพที่ 60 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กล้วยน้ำว้าทั้งผลปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยไม่เติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.45



ภาพที่ 61 การหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. diastaticus* 5547 โดยใช้กล้วยน้ำว้าทั้งผลปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการพรีทรีตเมนท์โดยการอบด้วยไอน้ำและกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารอาหารโดยเติมเอนไซม์ ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร มาจากตาราง ข.46

จากผลการศึกษาการใช้กล้วยน้ำว้าทั้งผลเป็นแหล่งอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยศึกษาการหมักในปริมาตร 70 ลิตรและเพิ่มความเข้มข้นของผลกล้วยน้ำว้าเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยการพรีทรีตเมนต์โดย น้ำกลั่น (ภาพที่ 48) เปรียบเทียบกับการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ภาพที่ 60) ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาเป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ ผลการทดลองแสดงว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้น้ำกลั่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารละลายกรดทำลายโครงสร้างแป้ง เมื่อทำการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ทำให้ผลิตเอทานอลสูงขึ้น

ส่วนการหมักแบบ SSF โดยเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส (ภาพที่ 61)ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการไม่เติมเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส เพิ่มการย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลส ทำให้มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างไรก็ดีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นไม่มากนัก

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าผลกล้วยน้ำว้าทั้งผลสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลได้การเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากโดยการหมักในปริมาตร 70 ลิตรในถังปฏิกรณ์ โดยเพิ่มความเข้มข้นของได้อย่างน้อย 3 เปอร์เซ็นต์ การพรีทรีเมนต์ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์มีส่วนในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลโดย กระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ และการเติมเอนไซม์ เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส จะเพิ่มผลผลิตเอทานอลผลกล้วยน้ำว้าในกระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์เล็กน้อย

ดังนั้นการใช้ผลกล้วยน้ำว้าทั้งผลเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลจึงสามารถทำได้โดยการพรีทรีตเมนต์ผลกล้วยด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร่วมกับการอบด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ซึ่งจะให้ผลผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูง และลดต้นทุนเอนไซม์ การใช้ผลกล้วยน้ำว้าทั้งผลมีข้อดีคือสามารถนำเปลือกกล้วยน้ำว้าซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบของการผลิตเอทานอลได้ และยังเป็นการลดวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งเป็นการรักษาสภาวะแวดล้อม นอกจากนี้ผลผลิตเอทานอลมีปริมาณใกล้เคียงกับการใช้เฉพาะผลกล้วยน้ำว้า ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์อีกทางหนึ่ง

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากผลกล้วยน้ำว้าและกล้วยน้ำว้าทั้งผลโดยการพรีทรีตเมนต์โดยน้ำกลั่น และ กรดซัลฟูริก 0.1 โมลาร์ภายใต้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในการหมักปริมาตร 70 ลิตร

Pretreament	Enzyme	DM* (%)	Batch volume	C_E	P_{max}	Q_E	$Y_{p/s}$
ผลกล้วยน้ำว้า Water	-	3	70 lit	0.25	7.34	0.28	0.28
Diluted acid	-	3	70 lit	0.38	11.54	0.67	0.44
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 lit	0.43	12.79	0.71	0.49
กล้วยน้ำว้าทั้งผล Water	-	3	70 lit	0.18	5.50	0.34	0.24
Diluted acid	-	3	70 lit	0.31	9.41	0.49	0.42
Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 lit	0.35	10.46	0.65	0.47

*Dry matter

C_E Ethanol yield per unit biomass (g (g-biomass)$^{-1}$)

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

P_{max} Maximum ethanol production (g/L)

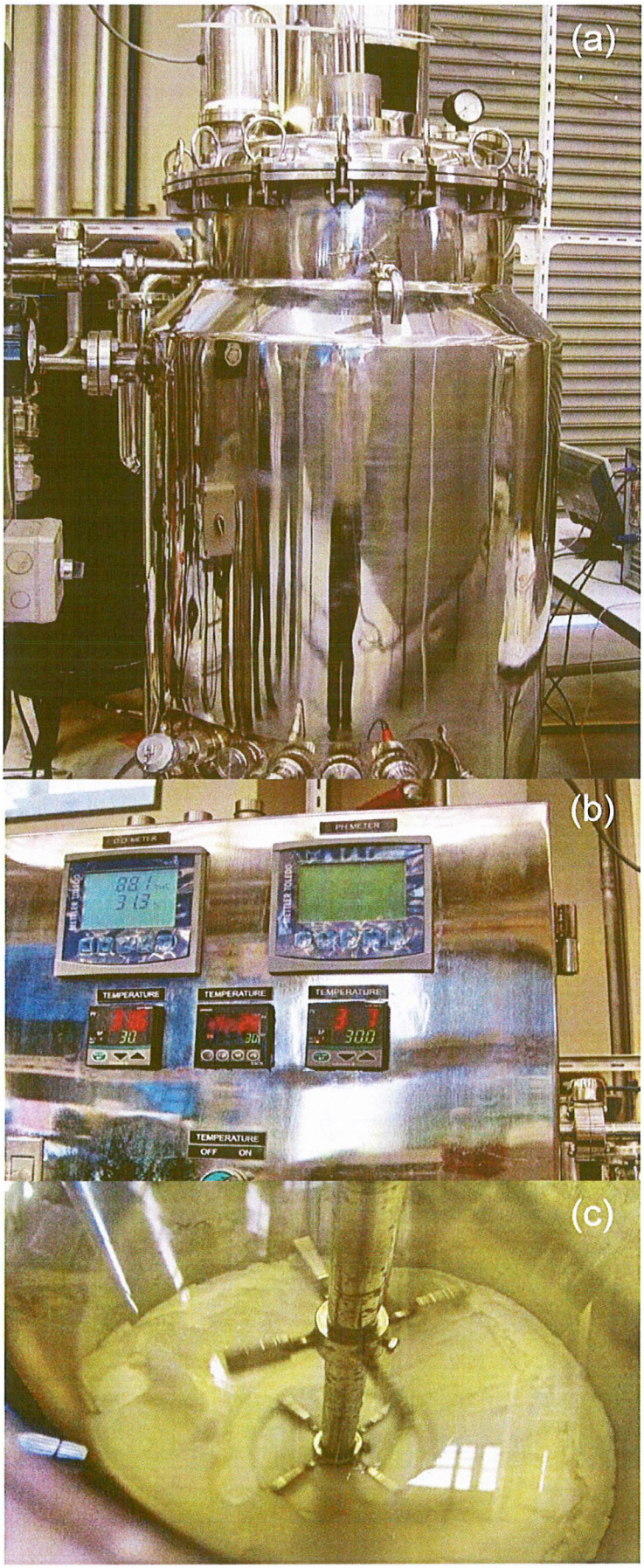
$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total carbohydrate)$^{-1}$)

จากผลการทดลองตารางที่ 12 แสดงว่าการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์เมื่อผลกล้วยน้ำว้าได้ทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกลั่นมีสัมประสิทธิการผลิตเท่ากับ 54.9 เปอร์เซ็นต์ในทางทฤษฎีและเมื่อทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สามารถให้ผลผลิตเอทานอลได้คิดเป็นสัมประสิทธิการผลิต 86.2 เปอร์เซ็นต์ในทางทฤษฎี แสดงว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกลั่น และกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์มีผลต่อโครงสร้างแป้งกล้วยน้ำว้าเพื่อการผลิตเอทานอลในปริมาณสูงเนื่องจากการเติมเอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเอนไซม์ นอกจากนี้ใช้น้ำกลั่นในการพรีทรีตเมนต์มีข้อดีในด้านการลดขั้นตอนการใช้กรดและการทำให้เป็นกลางและลดผลจากการใช้กรดในถังปฏิกรณ์ และอะไมโลไลติคยีสต์สามารถให้ผลผลิตเอทานอลได้โดยไม่เติมเอนไซม์

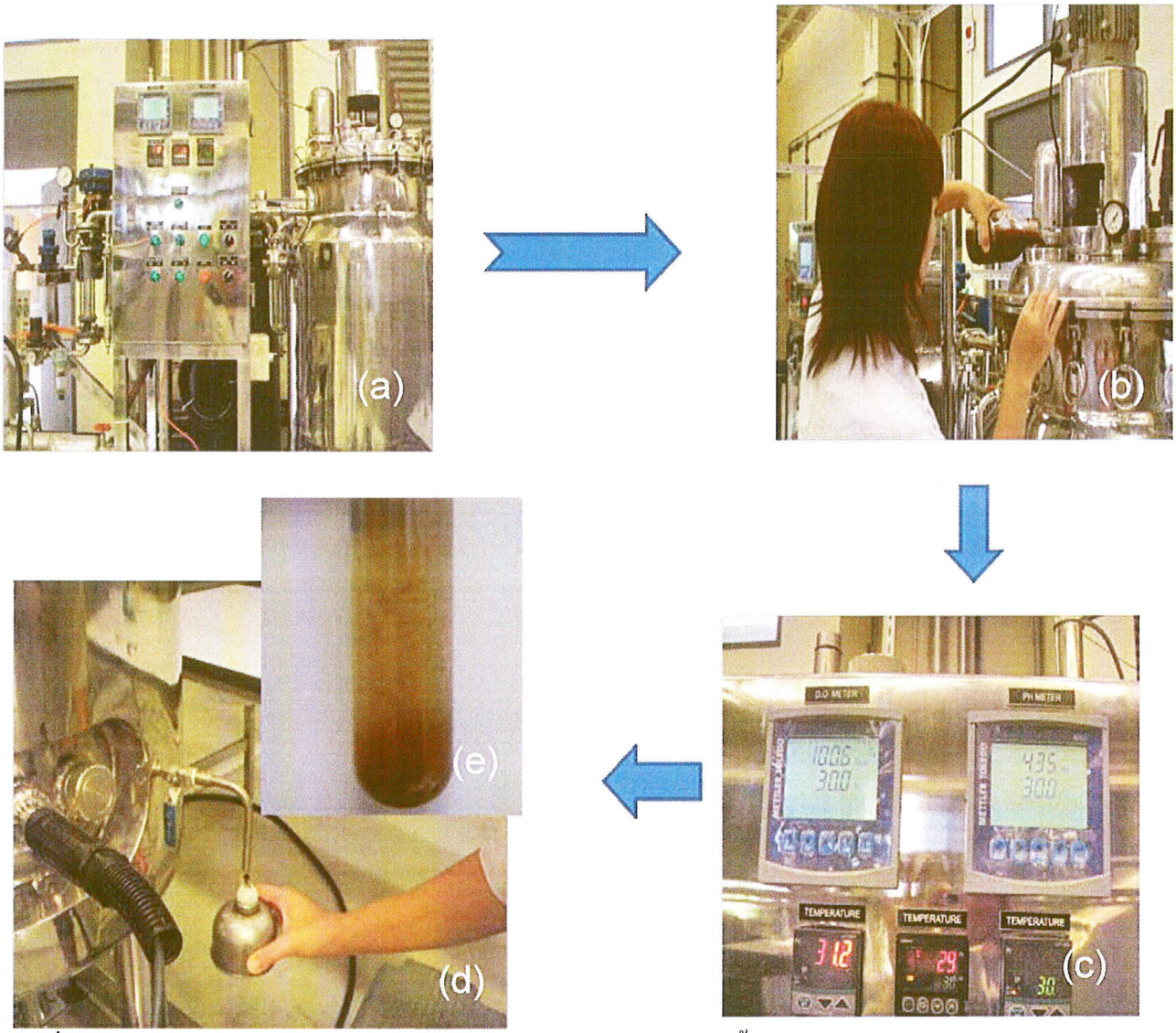
ส่วนผลการผลิตเอทานอลโดยกล้วยน้ำว้าทั้งผลให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้ผลกล้วยน้ำว้า จึงแสดงว่าอัตราส่วนเปลือกกล้วยน้ำว้าซึ่งมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักมีผลต่อการผลิตเอทานอลโดยอะ

ไมโลไลติคยีสต์เพียงเล็กน้อย ซึ่งจะเป็นผลดีเมื่อนำกลับน้ำว้าทั้งผลเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักด้วยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์ ในระดับอุตสาหกรรม หรือโรงงาน เนื่องจากจะลดต้นทุนการแยกเปลือกกล้วยน้ำว้า และมีผลพลอยได้จากการนำเปลือกกล้วยน้ำว้าเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ นอกจากนี้ยังลดงบประมาณการขจัดเปลือกกล้วยน้ำว้าซึ่งเกิดการเน่าเสียอย่างรวดเร็ว อาจเป็นแหล่งเพาะเชื้อโรค และมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม

ภาพที่ 62 การหมักผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักในถังปฏิกรณ์ 5 ลิตร



ภาพที่ 63 ถังปฏิกรณ์ 200 ลิตร (a), (b) การหมักผลผลิตทางการเกษตรปริมาณ 70 ลิตร (c) ในถังปฏิกรณ์



ภาพที่ 64 แสดงการหมักในถังปฏิกรณ์ขนาด 200 ลิตร (a) การเติมต้นเชื้ออะไมโลไลติคยีสต์ (b) แผงควบคุมการหมัก (c) การเก็บตัวอย่างน้ำหมักจากถังปฏิกรณ์ (d) ตัวอย่างน้ำหมักจากถังปฏิกรณ์หลังการบ่ม (e)

การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรโดยการหมักของอะไมโลไลติคยีสต์

การศึกษาเปรียบเทียบผลการพรีทรีตเมนต์ต่อผลผลิตเอทานอล

จากตารางที่ 12 แสดงผลการพรีทรีตเมนต์ด้วยกรดเจือจางทำให้ได้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นโดยผลกล้วยน้ำว้าให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าวัตถุดิบอื่น โดยให้ผลผลิตสูงกว่าการไม่ใช้กรดเจือจางคิดเป็น 36.40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกล้วยน้ำว้าทั้งผล เมล็ดข้าวบด กากมันสำปะหลังและเปลือกกล้วยน้ำว้า ให้ผลผลิตเอทานอลรองลงมาตามลำดับ และการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ เมื่อปรับสภาพด้วยกรดเจือจางให้ผลผลิตสูงกว่าการพรีทรีตเมนต์โดยไม่ใช้กรดเจือจางเท่ากับ 41.55, 34.10, 42.59 และ 30.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นการพรีทรีตเมนต์จึงมีส่วนสำคัญต่อการผลิตเอทานอล

ตารางที่ 12 การเปรียบเทียบผลการพรีทรีตเมนต์ต่อผลผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรต่างๆ จากการหมักโดยอะไมไลติคยีสต์ปริมาตรการหมัก 70 ลิตร

Pretreament	Enzyme	DM* (%)	Batch volume	C_E	P_{max}	Q_E	$Y_{p/s}$
ผลกล้วยน้ำว้า							
Water	-	3	70 L	0.25	7.34	0.28	0.28
Diluted acid	-	3	70 L	0.38	11.54	0.67	0.44
เมล็ดข้าวบด							
Distilled water	-	3	70 L	0.21	6.30	0.27	0.24
Diluted acid	-	3	70 L	0.32	9.56	0.49	0.37
กล้วยน้ำว้าทั้งผล							
Water	-	3	70 L	0.18	5.50	0.34	0.24
Diluted acid	-	3	70 L	0.31	9.41	0.49	0.42
กากมันสำปะหลัง							
Water	-	3	70 L	0.08	2.44	0.12	0.10
Diluted acid	-	3	70 L	0.14	4.25	0.33	0.17
เปลือกกล้วยน้ำว้า							
Water	-	3	70 L	0.09	2.75	0.28	0.15
Diluted acid	-	3	70 L	0.12	3.96	0.30	0.22

*Dry matter

C_E Ethanol yield per unit biomass (g (g-biomass)$^{-1}$)

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

P_{max} Maximum ethanol production (g/L)

$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total carbohydrate)$^{-1}$)

การศึกษาเปรียบเทียบผลการเติมเอนไซม์ต่อผลผลิตเอทานอล

ผลการเติมเอนไซม์ต่อผลผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรต่างๆ จากการหมักโดยอะไมโลติคยีสต์เมื่อเติมเอนไซม์ในปริมาตรการหมัก 70 ลิตร

Pretreament	Enzyme	DM* (%)	Batch volume	C_E	P_{max}	Q_E	$Y_{p/s}$
ผลกล้วยน้ำว้า Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 L	0.43	12.79	0.71	0.49
เมล็ดข้าวบด Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 L	0.38	11.50	0.49	0.44
กล้วยน้ำว้าทั้งผล Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 L	0.35	10.46	0.65	0.47
กากมันสำปะหลัง Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 L	0.33	9.91	0.70	0.39
เปลือกกล้วยน้ำว้า Diluted acid	Cellulase, Hemicellulase	3	70 L	0.15	4.55	0.40	0.25

*Dry matter

C_E Ethanol yield per unit biomass (g (g-biomass)$^{-1}$)

Q_E Ethanol production rate (g/L/hour)

P_{max} Maximum ethanol production (g/L)

$Y_{p/s}$ Product (ethanol) yield coefficient (g (g-total carbohydrate)$^{-1}$)

การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากแหล่งต่างๆ โดยอะไมโลไลติคยีสต์แสดงว่าการใช้ผลกล้วยให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดเมื่อใช้เอนไซม์ ผลผลิตเอทานอลจากผลกล้วยน้ำว้าเมื่อไม่เติมเอนไซม์ให้ผลผลิตต่ำกว่าเมื่อเติมเอนไซม์คิดเป็น 9.44 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าการใช้ผลกล้วยน้ำว้ามีความเหมาะสมสำหรับการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์โดยไม่เติมเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งอื่นจึงมีความเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลโดยอะไมโลไลติคยีสต์ การใช้เมล็ดข้าวบด ผลกล้วยทั้งผล กากมันสำปะหลัง และเปลือกกล้วยน้ำว้า ให้ผลผลิตเอทานอลรองลงมาตามลำดับ เมื่อไม่เติมเอนไซม์ให้ผลผลิตต่ำกว่าเมื่อเติมเอนไซม์คิดเป็น 16.87, 10.04, 57.11 และ 12.97 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

การใช้กล้วยน้ำว้าทั้งผลมีข้อดีเนื่องจากไม่ต้องแยกส่วนเปลือกและยังสามารถใช้ส่วนเปลือกเป็นแหล่งผลิตเอทานอลได้ เป็นการลดขั้นตอนและเป็นการนำส่วนเหลือทิ้งมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอล เมล็ดข้าวบดให้ผลผลิตเอทานอลในปริมาณสูงโดยการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์รองจากผลกล้วยน้ำว้า โดยการเติมเอนไซม์มีผลให้เพิ่มผลผลิต 16.87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตจากกากมันสำปะหลัง การเติมเอนไซม์ช่วยเพิ่มผลผลิต 57.11 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากในกากมันสำปะหลังมีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส จากการศึกษานี้แสดงว่าการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ให้ผลผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูงในผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักโดยเฉพาะผลกล้วยน้ำว้าโดยไม่เติมเอนไซม์อะไมเลส ทำให้สามารถลดต้นทุนการผลิตและขั้นตอนการผลิตได้

ดังนั้นการผลิตเอทานอลในปริมาณสูงโดยอะไมโลไลติคยีสต์จึงขึ้นกับการพรีทรีตเมนต์และชนิดของซับสเตรทที่เหมาะสม นอกจากนี้การพัฒนาการใช้ถังปฏิกรณ์และปริมาตรการหมัก 70 ลิตร เป็นการจำลองแบบโรงงานต้นแบบได้ โดยอาจพัฒนาการเพิ่มปริมาตรการหมักและพัฒนาระบบการหมักในปริมาณสูงต่อไป

การศึกษาต้นทุนการผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก

เมื่อคำนวณต้นทุนแปรผันทั้งหมดได้ดังนี้

ต้นทุนผันแปร (Variable cost)

ต้นทุนผันแปร ประกอบด้วย ค่าสารเคมี ค่าน้ำ

- แอมโมเนียมซัลเฟต ราคาขายเท่ากับ 140 บาทต่อกิโลกรัม (0.14 บาทต่อกรัม) ปริมาณที่ใช้ 0.25 กรัม/ลิตร

ดังนั้นค่าแอมโมเนียมซัลเฟต = 0.14 x 0.25

= 0.035 บาท/ลิตร

- โพแทสเซียมฟอสเฟต ราคาขายเท่ากับ 169 บาทต่อกิโลกรัม (0.169 บาทต่อกรัม) ปริมาณที่ใช้ 0.1 กรัม/ลิตร

ดังนั้นค่าโพแทสเซียมฟอสเฟต = 0.169 x 0.1

= 0.0169 บาท/ลิตร

- แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ราคาขายเท่ากับ 35 บาทต่อกิโลกรัม (0.035 บาทต่อกรัม) ปริมาณที่ใช้ 0.125 กรัม/ลิตร

ดังนั้นค่าแมกนีเซียมซัลเฟต = 0.035 x 0.125

= 0.0044 บาท/ลิตร

- ยีสต์สกัด ราคาขายเท่ากับ 1,500 บาทต่อกิโลกรัม (0.15 บาทต่อกรัม) ปริมาณที่ใช้ 0.125 กรัม/ลิตร

ดังนั้นค่ายีสต์สกัด = 0.15 x 0.125

= 0.0188 บาท/ลิตร

- เซลลูเลสราคาอยู่ที่ 1,000 บาทต่อกิโลยูนิต (1บาท/ยูนิต) ปริมาณที่ใช้ 0.025ยูนิต/ลิตร

ดังนั้นค่าเซลลูเลส = 1 x 0.04

= 0.04 บาท/ลิตร

- เฮมิเซลลูเลส ราคาขายเท่ากับ 1,250 บาทต่อกิโลยูนิต (1.25 บาท/ยูนิต) ปริมาณที่ใช้ 0.02 ยูนิต/ลิตร

ดังนั้นค่าเฮมิเซลลูเลส = 1.25 x 0.02

= 0.025 บาท/ลิตร

- ค่าน้ำ ที่ใช้ในกระบวนการผลิตทั้งหมดโดยคิด 5 บาทต่อลูกบาศก์เมตร (0.005 บาท/ลิตร) โดยใช้น้ำ ในการเตรียมอาหาร 1.0 ลิตร

ดังนั้นค่าน้ำ = 0.01 x 1

= 0.01 บาท/ลิตร

ตัวอย่างกากมันสำปะหลัง ให้ผลผลิตเอทานอล 4.25 กรัม/ลิตร เมื่อไม่เติมเอนไซม์และ 9.91 กรัม/ลิตร เมื่อเติมเอนไซม์

ดังนั้นรวมต้นทุนผันแปร เท่ากับ 0.0851 บาท/4.25 กรัมเอทานอล เมื่อไม่เติมเอนไซม์และ 0.1501บาท/9.91กรัม เมื่อเติมเอนไซม์

ความถ่วงจำเพาะเอทานอล เท่ากับ 0.789 กรัม/มิลลิลิตร ต้นทุนผันแปร เท่ากับ 0.0851 บาท/ 0.0054ลิตร และ 0.1501บาท/0.0126 ลิตร ดังนั้นคิดเป็นต้นทุนผันแปรเท่ากับ 15.7985 บาท/ลิตร และ 11.9604 บาท/ลิตร เมื่อไม่เติมเอนไซม์และเติมเอนไซม์ ตามลำดับ

ตารางที่ 14 ต้นทุนการผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักจากผลการหมักโดยอะไมโลไลติคยีสต์ในปริมาตร 70 ลิตร ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ทำการพรีทรีตเมนต์โดยกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ร่วมกับไอน้ำที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที

วัตถุดิบ	เอนไซม์	เอทานอล (กรัม/ลิตร)	ต้นทุนผันแปร (บาท/ลิตร)	ต้นทุนผันแปรรวมราคาวัตถุดิบ (บาท/ลิตร)
กากมันสำปะหลัง	-	4.25	15.7986	15.7986
กากมันสำปะหลัง	เซลลูเลส, เฮมิเซลลูเลส	9.91	11.9504	11.9504
เมล็ดข้าวบด	-	9.56	7.0234	7.5234
เมล็ดข้าวบด	เซลลูเลส, เฮมิเซลลูเลส	11.50	10.2982	10.7982
เปลือกกล้วยน้ำว้า	-	3.96	16.9555	16.9555
เปลือกกล้วยน้ำว้า	เซลลูเลส, เฮมิเซลลูเลส	4.55	26.0283	26.0283
ผลกล้วยน้ำว้า	-	11.54	5.8184	6.3184
ผลกล้วยน้ำว้า	เซลลูเลส, เฮมิเซลลูเลส	12.79	9.2595	9.7595
กล้วยน้ำว้าทั้งผล	-	9.41	7.1354	7.5854
กล้วยน้ำว้าทั้งผล	เซลลูเลส, เฮมิเซลลูเลส	10.46	11.3221	11.7721

ราคาเอทานอลในท้องตลาดเท่ากับ 18.59 บาท/ลิตร จากการศึกษาจะเห็นว่าเอทานอลมีต้นทุนสูงกว่าราคาเอทานอลในท้องตลาดเฉพาะเปลือกกล้วยน้ำว้า ส่วนวัตถุดิบอื่นมีต้นทุนผันแปรต่ำกว่าราคาเอทานอลในท้องตลาด อย่างไรก็ดีต้นทุนเอทานอลขึ้นกับปริมาณผลผลิตเอทานอล ซึ่งการที่ผลผลิตเอทานอลจะสูงขึ้นเป็นผลมาจาก

1. วัตถุดิบที่ใช้มีความเหมาะสมและต้นทุนต่ำ
2. ในขั้นตอนการหมักขึ้นกับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพให้ผลผลิตเอทานอลได้สูง
3. ระบบการหมักที่เหมาะสมจะเพิ่มผลผลิต และลดระยะเวลาการหมัก

ดังนั้นการพัฒนาการใช้ผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักจะสามารถเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะลดต้นทุนการผลิตได้โดย การพัฒนาและปรับปรุงกระบวนการผลิตและระบบการหมักจะมีส่วนในการเพิ่มผลผลิตเอทานอลได้อย่างมาก โดยการเพิ่มความเข้มข้นวัตถุดิบที่เหมาะสมจะได้ความผลผลิตเอทานอลสูงขึ้นลดแรงงานและพลังงานในระบบ การสึกหรอและการบำรุงรักษาเครื่องและอุปกรณ์ต่างๆ การเพิ่มผลผลิตเอทานอลอีกวิธีหนึ่งคือการพัฒนาระบบการหมักเป็นแบบ fed-batch นอกจากนี้การใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสามารถเพิ่มผลผลิตเอทานอลได้เช่นกัน ดังนั้นการพัฒนาขั้นตอนและกระบวนการหมักจะทำให้ลดต้นทุนผลผลิตทางการเกษตรที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีต้นทุนที่สามารถแข่งขันในด้านการตลาดได้ อย่างไรก็ดีเมื่อผลผลิตทางการเกษตรมีปริมาณล้นตลาดหรือราคาตกต่ำจะเป็นทางหนึ่งในการพยุงราคาผลผลิตทางการเกษตรของประเทศเพื่อการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มอันเป็นข้อได้เปรียบของผลผลิตทางการเกษตรของประเทศประการหนึ่ง