

กระบวนการหมักเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาสองขั้นตอนจากกากผลไม้เหลือทิ้งอุตสาหกรรม- เกษตรโดยใช้เอนไซม์ผสมที่ได้จากการหมักแข็งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเดียว

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อ (1) ศึกษาการผลิตผงครูดเอนไซม์ผสม RT-P3 จากการหมักแข็งกากกะทิ ด้วยจุลินทรีย์ผสมระหว่างไตรโคเดอร์มา รีสีอี RT-P1 และแซคคาโรมายซิส ซีรีวีซีอี RT-P2 ในอาหารเหลวที่พีเอชเท่ากับ 5 และอุณหภูมิ $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (2) การใช้ผงครูดเอนไซม์ผสม RT-P3 สำหรับการหมักเอทานอลกึ่ง-เหลวจากกากกะทิในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเดียว การผลิตเอนไซม์ผสม RT-P3 สดได้จากการหมักแข็งกากกะทิที่สภาวะเหมาะสม โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักกากกะทิต่อปริมาณอาหารเหลวเท่ากับ 1:3 มีค่าความชื้นเริ่มต้นประมาณร้อยละ 72-78 โดยน้ำหนัก ความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสมเริ่มต้นเท่ากับ 7.5×10^4 spore/mL และระยะเวลาหมัก 5 วัน พบว่า ความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสมสุดท้ายและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าสูงสุดเท่ากับ 9.50×10^6 spore/mL และ 25.62 g/L ตามลำดับ ได้ผลของกิจกรรมของแมนแนนเนส, ไซแลนเนส และเซลลูเลสสูงสุดเท่ากับ 0.45 IU/mL, 0.30 IU/mL และ 0.12 FPU/mL ตามลำดับ จากนั้นเอนไซม์ผสม RT-P3 สดหนัก 7 kg ซึ่งมีค่าความชื้นเริ่มต้นประมาณร้อยละ 73 โดยน้ำหนัก ถูกอบแห้งที่อุณหภูมิ $60-65^{\circ}\text{C}$ ในตู้อบแห้งต้นแบบ จนกระทั่งได้ผงครูดเอนไซม์ผสมหนัก 2 kg ที่ความชื้นสุดท้ายมีค่าประมาณร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก พบว่า น้ำตาลรีดิวซ์ กิจกรรมของแมนแนนเนส, ไซแลนเนส และเซลลูเลส มีค่าเท่ากับ 0.1, 0.63, 0.43 และ 2.17 g/gds ตามลำดับ ผงครูดเอนไซม์ผสม RT-P3 ถูกนำไปใช้ในการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะและกึ่งกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเดี่ยวขนาด 15 ลิตร ที่มีการเติมอากาศและกวนผสมวันละ 6 ชั่วโมงในกระบวนการ โดยใช้กากกะทิเท่ากับ 300 g ผงครูดเอนไซม์ผสมเท่ากับ 120 g และอาหารเหลวเท่ากับ 4500 mL ที่พีเอช 5 และอุณหภูมิห้อง (32°C) พบว่า เอทานอลที่ได้มีค่าสูงสุดเท่ากับ 33.0 และ 47.7 g/L ที่ระยะเวลาหมัก 4 วัน ตามลำดับ

คำสำคัญ : เอทานอล ไตรโคเดอร์มา รีสีอี แซคคาโรมายซิส ซีรีวีซีอี เซลลูเลส แมนแนนเนส ไซแลนเนส

Two-step of Ethanol Simultaneous Saccharification and Co-fermentation Process from Agroindustrial Fruit Refused by Using Enzyme Mixture from Solid-State Fermentation in A Single Bioreactor

Abstract

The objective of this study is to (1) investigation of crude mixed enzyme powder RT-P3 production from coconut residues solid-state fermentation using co-culture between *Trichoderma reesei* RT-P1 and *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 in liquid medium at pH 5 and $24 \pm 2^\circ\text{C}$. (2) the utilization of crude mixed enzyme powder RT-P3 for ethanol submerged fermentation from coconut residues in a bioreactor. Fresh mixed enzyme RT-P3 was performed under coconut residues solid-state fermentation at the optimal condition using 1:3 of the ratio of coconut weight to liquid medium volume, 72-78 % w/w initial moisture content, 7.5×10^4 spore/mL initial co-culture concentration and 5 days fermentation. It was found that the maximum co-culture concentration and reducing sugar were 9.50×10^6 spore/mL and 25.62 g/L respectively. And also activity of mannannase, xylanase and cellulase were 0.45, 0.30 IU/mL and 0.12 FPU/mL respectively. Then 73 % w/w initial moisture content of 7 kg fresh mixed enzyme RT-P3 was dried at $60-65^\circ\text{C}$ in a pilot scale dryer until 8% w/w final moisture content of 2 kg crude mixed enzyme powder RT-P3 obtained. It was found that reducing sugar, activity of mannannase, xylanase and cellulase were 0.1, 0.63, 0.43 and 2.17 g/gds respectively. Crude mixed enzyme powder RT-P3 was applied for batch and fed-batch ethanol submerged fermentation in a 15 L bioreactor, which aeration and mixing 6 hour per day was added in the process, using 300 g coconut residues, 120g crude mixed enzyme powder RT-P3 and 4500 mL liquid medium at pH 5 and room temperature (32°C). It was found that the maximum ethanol was 33.0 and 47.7 g/L at 4 days fermentation respectively.

Keywords: ethanol, *Trichoderma reesei*, *Saccharomyces cerevisiae*, cellulase, mannannase, xylanase