การศึกษาเพื่อพัฒนาเครื่องต้นแบบการผลิตผงเอนไซม์ผสมจากต้นสดข้าวฟ่างหวานสำหรับอุตสาหกรรมเอทานอล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตผงจุลินทรีย์ผสมจากกระบวนการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 2 สายพันธุ์ คือไตรโคเดอร์มา รีสิอีและแซคคาโรมายซิส สิรีวิซิอี เพื่อนำไปใช้สำหรับการหมักเอทานอลกึ่งเหลวจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานแบบกะและกึ่งกะ ศึกษาความเร็วการป้อนน้ำหมักเพื่อแยกเอทานอลและจุลินทรีย์ด้วยเยื่อแผ่นอัลตราและการรีไซเคิลจุลินทรีย์คืนถังหมักแบบกึ่งกะ ผลของงานวิจัยดังต่อไปนี้

การผลิตผงจุลินทรีย์ผสมใช้ลำต้นสดข้าวฟ่างหวานหนัก 100 กรัม หัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีความเข้มข้นประมาณ 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในอาหารเหลว 60 มิลลิลิตร พีเอชเท่ากับ 5 ใช้เวลาบ่มนาน 7 วันที่อุณหภูมิ $24\pm2^{o}C$ จากนั้นจุลินทรีย์ผสมสดที่ได้ถูกนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ $60^{o}C$ เพื่อให้มีความชื้นสุดท้ายประมาณร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก เมื่อนำจุลินทรีย์ผสมแห้งไปผ่านเครื่องบดต้นแบบจะได้ผงจุลินทรีย์ผสมหรือเรียกว่าผงเอนไซม์ผสมที่มีความเข้มข้นประมาณ 2.0×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

สภาวะเหมาะสมของการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมโดยใช้วิธีการทดลองออร์โธโกนอลที่อุณหภูมิห้อง ($30^{o}C$) คือ ใช้ลำต้นสดข้าวฟ่างหวานหนัก 35 กรัม ผงจุลินทรีย์ผสมหนัก 4.5 กรัมในอาหารเหลว 100 มิลลิลิตร พีเอชเท่ากับ 5 และใช้เวลาหมักนาน 7 วัน

การหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะที่สภาวะเหมาะสมในระดับเขย่าขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร พบว่า เอทานอลที่ได้เท่ากับ 39.59 กรัมต่อลิตร เวลาหมักนาน 5 วัน เวลาที่จุลินทรีย์เติบโตเป็นสองเท่าคือ 2 วัน

การหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะที่สภาวะเหมาะสมในถังหมักขนาด 15 ลิตร ใช้ความเร็วกวนผสมประมาณ 200 รอบต่อนาที เวลา 3 ชั่วโมงต่อวัน ใบกวนชนิด paddle blade และปรับพีเอชเท่ากับ 5 พบว่า เอทานอลที่ได้เท่ากับ 43.11 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาหมักนาน 8 วัน และผลได้ของเอทานอลเท่ากับร้อยละ 69

การหมักแบบกึ่งกะในถังหมักขนาด 15 ลิตร การทดลองเหมือนแบบกะทุกประการยกเว้น เติมอาหารเหลวใหม่ 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน และปรับพีเอชเท่ากับ 5 พบว่า เอทานอลที่ได้เท่ากับ 35.81 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาหมักนาน 9 วัน และผลได้ของเอทานอลประมาณร้อยละ 240

การหมักแบบกึ่งกะในถังหมักขนาด 15 ลิตรร่วมกับการรีไซเคิลจุลินทรีย์ โดยเติมอาหารเหลวใหม่ 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน ปรับพีเอชเท่ากับ 5 โดยที่ทุกๆ 4 วัน ทำการรีไซเคิลจุลินทรีย์ในรีเทนเทต 300 มิลลิลิตรและอาหารเหลวใหม่ 200 มิลลิลิตร พบว่า เอทานอลที่ได้เท่ากับ 58.2 กรัมต่อลิตรหรือ 494.8 กรัมเอทานอลในปริมาตรน้ำหมัก 9 ลิตร และผลได้ของเอทานอลประมาณร้อยละ 450 ที่เวลาหมักนาน 54 วัน

การศึกษาความเร็วการป้อนน้ำหมักของการแยกด้วยเยื่อแผ่นอัลตราแบบไหลขวางเพื่อกรองเอทานอลและจุลินทรีย์ โดยแปรผันความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที พบว่า ความเร็วการป้อนคือ 0.1 เมตรต่อวินาทีหรือ 50 รอบต่อนาที ให้ผลการกักกันเอทานอลในเพอมิเอทและการเพิ่มจุลินทรีย์ในรีเทนเทตประมาณร้อยละ 16.8 และ 56.3 อย่างไรก็ตาม ที่ความเร็วการป้อนนี้ใช้เวลากรองน้ำหมัก 1 ลิตรนานประมาณ 100 นาที

คำสำคัญ: เอทานอล การหมักแข็ง การหมักกึ่งเหลวแบบกะและกึ่งกะ การแยกด้วยเยื่อแผ่นแบบไหลขวาง ลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน

Study on the Pilot Scale Development of Mixed Enzymes Powder Production from Sweet Sorghum Fresh Stalks for Ethanol Industries

Abstract

This study aim to produce powder of mixed-culture microorganisms from solid state-fermentation of sweet sorghum fresh stalks using pure culture of *Trichoderma reesei* and *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol batch and fed-batch submerged fermentation. And also fermentation broth feed velocity for ethanol and microorganism separation using ultrafiltration membrane was investigated. The research results were found as following.

The mixed-culture microorganisms powder production under solid state-fermentation was performed using 100 g sweet sorghum fresh stalks, 1×10^6 cell/mL mixed –culture microorganism in 60 mL liquid medium at pH 5 and 7 days incubated at temperature 24±2 ^{o}C. Then fresh product was dried at 60°C until 12% by weight final moisture content. After that 2.0×10^8 cell/mL mixed-culture microorganism or mixed enzyme powder was produced by grinding.

The orthogonal experimental method was used to find the optimal condition for ethanol submerged fermentation of sweet sorghum fresh stalks with mixed enzyme powder at room temperature (30°C). The optimal condition at 250 mL Erlenmeyer shaking flask were 35 g sweet sorghum fresh stalks, 4.5 g mixed enzyme powder in 100 mL liquid medium at pH 5 and 7 days incubation.

The ethanol submerged batch fermentation at the optimal condition was performed in 5 L Erlenmeyer shaking flask. It was found that 39.59 gL^{-1} ethanol obtained at 5 days fermentation and 2 days for double time microorganism growth estimation.

Moreover, ethanol submerged batch fermentation at the optimal condition was investigated in 15 L fermenter with paddle blade at 200 rpm mixing rate for 3 h per day, 6 L liquid medium control volume and pH 5 adjusted. It was found that 43.11 gL^{-1} ethanol and about 69% ethanol yield for 8 days fermentation.

Fed-batch fermentation was performed as same as batch fermentation except for 500 mL fresh liquid medium addition at every 2 days and pH 5 adjusted in 15 L fermenter. It was found that 35.81 gL^{-1} ethanol and about 240% ethanol yield for 9 days fermentation.

Fed-batch fermentation with filtrated microorganism recycle was done. The 500 mL fresh liquid medium was added at every 2 days and pH 5 adjusted then refilled 300 mL filtrated microorganism in retentate and 200 mL fresh liquid medium at every 4 days. It was found that 58.2 gL^{-1} ethanol or 494.8 g ethanol in 9 L fermentation broth and about 450% ethanol yield at 54 days fermentation.

The fermentation broth feed velocity of cross-flow ultrafiltration membrane separation was investigated for ethanol and microorganism filtration using 0.1, 0.2 and 0.3 m/s as variable parameters. It was found that suitable feed velocity is 0.1 m/s or 50 rpm. The results showed that 16.8% ethanol rejection in permeate and 56.3% microorganism increasing in retentate. However it took 100 min for 1 L fermentation broth filtration.

Keyword: ethanol, solid-state fermentation, fed-batch submerged fermentation, cross-flow membrane separation, sweet sorghum fresh stalks