

ทฤษฎีและวารสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

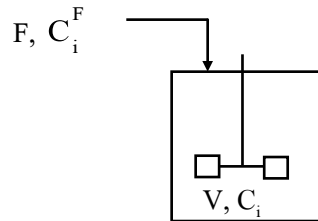
งานวิจัยนี้ใช้ต้นสดข้าวฟ่างหวานเป็นวัตถุดิบในการผลิตผงเอนไซม์ผสมและการหมักเอทานอลด้วยผงเอนไซม์ผสมที่ผลิตได้ เนื่องจากต้นสดมีองค์ประกอบที่เป็นน้ำตาล เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ผสม (แบคทีเรีย *Clostridium* สปีชีส์ และ *Trichoderma reesei*) [32] การผลิตผงเอนไซม์ผสมจะใช้กระบวนการหมักแข็ง (solid-state fermentation) ต้นข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรีย *Clostridium* สปีชีส์และ *Trichoderma reesei* (เชื้อผสมทั้งสองสายพันธุ์นำมาเพาะเลี้ยงและให้เติบโตบนอาหารวุ้นแข็งฟีดประมาณ 5-7 วัน) การหมักแข็งถูกควบคุมความชื้นเริ่มต้นโดยใช้อาหารเหลวสูตรเฉพาะพีเอช 5 ที่อุณหภูมิ $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ องศาเซลเซียส ต้นสดข้าวฟ่างหวานที่นำมาใช้เป็นสับสเตรทได้ผ่านการลดขนาดและการร่อนด้วยตะแกรงมีองค์ประกอบเป็นน้ำตาล เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถใช้ต้นสดข้าวฟ่างหวานเป็นแหล่งคาร์บอน มีอาหารเหลวเป็นแหล่งไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในปริมาณที่เหมาะสม ทำการหมักในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 24 ± 2 องศาเซลเซียส และพีเอชเท่ากับ 5 ระหว่างการเติบโตของจุลินทรีย์ผสมนั้น เชื้อรา *Trichoderma reesei* ใช้แหล่งคาร์บอนในการเติบโต ในระหว่างการแบ่งเซลล์จะผลิตเอนไซม์ภายนอกออกมาย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสทำให้ได้น้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ขณะที่สปีชีส์แบคทีเรีย *Clostridium* ใช้น้ำตาลในการเติบโตมากกว่าการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล การหมักแข็งจึงเป็นกระบวนการตรึงเซลล์ (cell immobilization) ของจุลินทรีย์ผสมไว้บนต้นสดข้าวฟ่างหวาน การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ เอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ และความเข้มข้นของจุลินทรีย์ใช้เป็นตัวชี้การทำงานและการอยู่ร่วมกันได้ของทั้งสองสายพันธุ์บนลำต้นข้าวฟ่างหวานและประสิทธิภาพของผงเอนไซม์ผสม

สร้างเครื่องต้นแบบสำหรับการบดเพื่อผลิตผงเอนไซม์ผสม [9] โดยใช้หลักการลดขนาดอนุภาคทางกลโดยใช้แรงกระแทกและเสียดสี เครื่องบดต้องเป็นระบบปิดคล้ายกับการใช้บดสมุนไพรเพื่อลดผลของการฟุ้งกระจายของจุลินทรีย์ผสมออกสู่สิ่งแวดล้อมที่อุณหภูมิห้อง

การศึกษาด้านพลศาสตร์ของการหมักเอทานอลจากต้นข้าวฟ่างหวานด้วยผงเอนไซม์ผสมแบบกะในอาหารเหลว (submerge-state batch fermentation) บนพื้นฐานของอัตราการเติบโตของจุลินทรีย์เป็นปฏิกิริยาอันดับที่ 1 ซึ่งจะหาเวลาที่ทำให้จุลินทรีย์เติบโตเป็นสองเท่าได้ เพื่อนำไปใช้ในการออกแบบกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (submerge-state fed-batch fermentation) ในถังหมักขนาด 15 ลิตร ที่มีการหมุนเวียนจุลินทรีย์ผสมซึ่งผ่านการกรองด้วยเยื่อแผ่น

กระบวนการหมักแบบกึ่งกะเป็นเทคนิคการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูง เพราะให้อัตราการผลิต (productivity) เซลล์และผลิตภัณฑ์ได้สูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบกะ โดยควบคุมอัตราการเติมสับสเตรท (งานวิจัยนี้ใช้วิธีเติมอาหารเหลวซึ่งประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน) เป็นระยะๆ (intermittent addition) [11] และหมุนเวียนจุลินทรีย์ที่ผ่านการกรองด้วยเยื่อแผ่นกลับคืนถังหมักที่สภาวะเหมาะสมต่อการ

เติบโตะหรือการเกิดผลลิตกัณฑ์เป็นระยะๆ อย่างต่อเนื่อง โดยในช่วงแรกจะยังไม่มีการนำน้ำหมักออก ดังนั้น ปริมาณน้ำหมักเพิ่มขึ้นกับเวลา ที่สภาวะเหมาะสมจะมีการนำน้ำหมักมากรองด้วยเยื่อแผ่นเพื่อแยกจุลินทรีย์ออกจากผลลิตกัณฑ์ และนำจุลินทรีย์ที่กรองได้หมุนเวียนกลับคืนสู่ถังหมักพร้อมเติมอาหารเหลวใหม่ปริมาณเท่ากับ ที่นำออกมา ส่วนผลลิตกัณฑ์น้ำหมักที่ผ่านการกรองคือสารละลายเอทานอล การควบคุมวลาของการหมักแบบกึ่ง กะ ดังรูป ได้สมการต่อไปนี้ คือ



$$\frac{d(VC_i)}{dt} = FC_i^F + r_i V$$

$$\frac{Vd(C_i)}{dt} + \frac{C_i d(V)}{dt} = FC_i^F + r_i V$$

$$\frac{d(C_i)}{dt} = \frac{F}{V} C_i^F - \frac{C_i}{V} \frac{d(V)}{dt} + r_i$$

เมื่อ

$$\frac{dV}{dt} = F$$

$$\frac{d(C_i)}{dt} = \frac{F}{V} (C_i^F - C_i) + r_i$$

กรณีของเซลล์

$$\frac{d(C_x)}{dt} = -\frac{F}{V} C_x + r_i$$

$$\frac{d(C_x)}{dt} = -\frac{F}{V} C_x + \mu C_x$$

โดยที่ C_x = ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)

F = อัตราการเติมสับสเตรท (ลิตรต่อชั่วโมง)

V = ปริมาณน้ำหมัก

μ = อัตราจำเพาะของการเติบโต (ต่อชั่วโมง)

t = เวลา (ชั่วโมง)

r_x = อัตราการเติบโต (กรัมต่อลิตรชั่วโมง) ซึ่งมีสมการ $\frac{d(C_x)}{dt} = r_x = \mu C_x$

กรณีของสับสเตรท

$$\frac{d(C_s)}{dt} = \frac{F}{V}(C_s^F - C_s) + r_s$$

$$\frac{d(C_s)}{dt} = \frac{F}{V}(C_s^F - C_s) - \left(\frac{\mu C_x}{Y_{x/s}} + m_s C_x \right)$$

โดยที่ C_s = ความเข้มข้นของสับสเตรทระหว่างการหมัก (กรัมต่อลิตร)

C_s^F = ความเข้มข้นของสับสเตรทที่เติม (กรัมต่อลิตร)

m_s = ค่าคงที่การบำรุงรักษาเซลล์ (กรัมแหล่งคาร์บอนต่อกรัมเซลล์)

$Y_{x/s}$ = ผลได้ของเซลล์จากสับสเตรท (กรัมเซลล์ต่อกรัมแหล่งคาร์บอน)

r_s = อัตราการใช้สับสเตรท (กรัมต่อลิตรชั่วโมง) ซึ่งมีสมการคือ $-\frac{d(C_s)}{dt} = r_s = \frac{r_x}{Y_{x/s}} + m_s C_x$

สำหรับการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะ เพื่อหลีกเลี่ยงภาวะยับยั้งการเติบโตจากสับสเตรท สามารถทำได้โดยการควบคุมระดับความเข้มข้นของสับสเตรทระหว่างการเพาะเลี้ยงไว้ที่ความเข้มข้นต่ำๆ เทคนิคนี้เป็นวิธีการใช้สับสเตรทอย่างมีประสิทธิภาพ

เมื่อความเข้มข้นสับสเตรทถูกควบคุมให้คงที่ ($dC_s/dt = 0$) จึงต้องปรับอัตราการเติมสับสเตรทตลอดเวลา เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของสับสเตรทให้คงที่ตามที่กำหนดไว้ สมการคำนวณอัตราการเติมสับสเตรทระหว่างการหมัก คือ

$$\frac{d(C_s)}{dt} = 0 = \frac{F}{V}(C_s^F - C_s) + r_s$$

$$F = -\frac{r_s V}{C_s^F - C_s}$$

กรอบแนวความคิดของการใช้เยื่อแผ่นแยกจุลินทรีย์ผสมออกจากน้ำหมัก คือลดการสูญเสียเอนไซม์ผสมที่ติดออกไปกับผลิตภัณฑ์ และลดความยุ่งยากของการเตรียมจุลินทรีย์ผสมที่จะต้องเพิ่มเข้าไปในกระบวนการใหม่ เพื่อให้การหมักเอทานอลดำเนินไปได้อย่างต่อเนื่อง

2.2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

จากการสืบค้นงานวิจัยที่ผ่านมาของการใช้ประโยชน์ข้าวฟ่างหวาน ส่วนใหญ่งานวิจัยและพัฒนาจะนำน้ำคั้นจากลำต้นข้าวฟ่างหวานเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล งานวิจัยส่วนใหญ่ใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ แชคลาโรมาซิส สิริวิจิธี เป็นหัวเชื้อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล แต่ปัญหาที่พบคือเกิดการปนเปื้อนในน้ำคั้นได้ง่าย น้ำคั้นมีปริมาณมากที่ความเข้มข้นน้ำตาล 16-18 องศาบริกซ์ เอทานอลที่ได้จึงมีความเข้มข้นไม่มากเท่ากับวัตถุดิบที่มีน้ำตาลเริ่มต้นสูงกว่า เช่นแป้ง และสายพันธุ์ยีสต์ไม่ทนต่อความเข้มข้นเอทานอลสูง การพัฒนางานวิจัยที่ผ่านมาจึงเกี่ยวข้องกับการหมักน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานที่ความเข้มข้นน้ำตาลสูงด้วยยีสต์ทนทานต่อเอทานอล และการศึกษาปัจจัยต่างๆ เพื่อลดการปนเปื้อนน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน ดังต่อไปนี้

Ronghou Liu และคณะ, 2008 [12] รายงานการวิจัยวิธีการตรึงเซลล์ยีสต์แซคคาโรมายซิส ซีรีวิซิอี โดยใช้ Na-alginate powder และใช้ในกระบวนการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน พบว่าแหล่งไนโตรเจนมีอิทธิพลต่อผลได้เอทานอลมากที่สุดเมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.2 ในถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบดขนาด 10 ลิตร

Lakkana Loapaiboon และคณะ, 2009 [13] ได้รายงานการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานด้วยแซคคาโรมายซิส ซีรีวิซิอี NP01 ที่มีความเข้มข้นสูงประมาณ 280 กรัมต่อลิตร และอาหารเสริมคือยีสต์แเอ็กแทรกซ์ 3 กรัมต่อลิตร และเปปโทน 5 กรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลมากที่สุด ความเข้มข้นอัตราการผลิต และผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 120.68 กรัมต่อลิตร 2.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.51 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาล ตามลำดับ เทียบกับการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาล ความเข้มข้น อัตราการผลิต และผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 109.34 กรัมต่อลิตร 1.52 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.45 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาล ตามลำดับ

Dimple K. Kundiya, และคณะ, 2010 [14] ได้ศึกษาการลดต้นทุนการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่ต้องผ่านการทำให้ปลอดเชื้อ ผลของอุณหภูมิห้อง (10-25 องศาเซลเซียส) พีเอช 4.3 และ 5.4 สารอาหารที่เติมและไม่เติมยูเรีย และหัวเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ ต่อประสิทธิภาพของกระบวนการหมักที่แหล่งปลูก พบว่าการลดต้นทุนการผลิตที่แหล่งปลูกมีความเป็นไปได้ เอทานอลที่ได้เท่ากับร้อยละ 7.9 โดยน้ำหนัก ใช้เวลา 120 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

Xiaorong Wu และคณะ, 2010 [15] รายงานเกี่ยวกับการนำน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานที่มีความเข้มข้นน้ำตาลประมาณร้อยละ 16-18 ผลิตเป็นเอทานอลด้วยยีสต์แซคคาโรมายซิส ซีรีวิซิอี การเก็บรักษาน้ำคั้นก่อนนำไปใช้ทำให้ความเข้มข้นน้ำตาลลดลงร้อยละ 20 ภายใน 3 วันที่อุณหภูมิห้องเพราะว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และพีเอช ลดลง การเก็บรักษาในตู้เย็นไม่มีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญ และได้เปรียบเทียบวัตถุดิบที่เป็นน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานที่เก็บไว้ในช่องแช่แข็ง การทำให้ปลอดเชื้อด้วยไอน้ำ และน้ำเชื่อมข้น ที่นำมาใช้หมักที่ความเข้มข้นน้ำตาลเท่ากัน พบว่า ประสิทธิภาพของน้ำคั้นจากการแช่แข็งมีค่ามากกว่าน้ำคั้นที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อเล็กน้อย เนื่องจากการเก็บเกี่ยวอย่างดีและการปรับพีเอชเท่ากับ 4.2 ที่เหมาะสมก่อนเติมหัวเชื้อ การฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำทำให้สารอาหารที่มีอยู่ซึ่งว่องไวกับความร้อนหายไปบ้างจึงทำให้ประสิทธิภาพลดลง ส่วนน้ำเชื่อมข้นที่ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 25 และ 30 ประสิทธิภาพต่ำกว่าเพราะน้ำตาลเป็นตัวยับยั้งการทำงานของยีสต์นั่นเอง

การผลิตเอทานอลจากการหมักที่เน้นผลิตภัณฑ์ที่ได้สูงกว่ากระบวนการดั้งเดิมได้รับการพัฒนาโดยการเพิ่มความเข้มข้นน้ำตาลและหาวิธีแซคคาโรมายซิส ซีรีวิซิอีที่ทนความเข้มข้นน้ำตาลมากๆ ได้มาใช้ โดย J.M. Bvochora และคณะ, 2000 [16] ได้วิจัยการใช้เทคโนโลยีของ Very high gravity (VHG) โดยการหมักรวมของน้ำคั้นและแป้งจากเมล็ดข้าวฟ่างหวาน ความเข้มข้นน้ำตาลที่ร้อยละ 34 โดยน้ำหนัก พบว่าเอทานอลสูงสุดที่ได้เท่ากับร้อยละ 16.8 โดยปริมาตร

งานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการใช้ต้นข้าวฟ่างหวานผลิตเอนไซม์จากการหมักแข็งเพื่อกระบวนการหมักเอทานอล ส่วนใหญ่ใช้ยีสต์เชคคาโรมายซิส สิริวิจิธี หรือเชื้อราสายพันธุ์ *Neurospora crassa*, *Mucor hiemalis* และ *Fusarium oxysporum* ดังต่อไปนี้

งานข้าวฟ่างคือวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่เป็นวัสดุลิกต้นทุนต่ำได้ถูกนำมาใช้เป็นตัวรองรับสำหรับการตรึงเซลล์ยีสต์ จากการวิจัยของ Jianliang Yu และคณะ, 2007 [17] เนื่องจากเซลล์ของงานข้าวฟ่างมีความพรุนมากกว่าลำต้นของไม้ชนิดอื่น ทำให้มีการถ่ายโอนมวลระหว่างสับสเตรทและผลิตภัณฑ์ง่ายกว่าเปลือกไม้ที่มีรูพรุนน้อยกว่า จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้ทดแทน calcium alginate สำหรับการตรึงเอนไซม์จากยีสต์เพื่อการผลิตเอทานอล จากงานวิจัยพบว่า ความสามารถในการผลิตเอทานอลของเซลล์ยีสต์ที่ถูกตรึงสูงกว่า 2.4 เท่าของการใช้เซลล์ยีสต์อิสระ การนำไปใช้หมักข้าวแบบกะที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 200 กรัมต่อลิตร ยีสต์ใช้น้ำตาลได้เกือบร้อยละ 100 หลังจาก 16 ชั่วโมง ผลได้เอทานอลและความสามารถในการผลิตเท่ากับ 4.9 กรัมต่อกรัม น้ำตาลที่ถูกใช้ และ 5.72 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ถึงหมักเอทานอลโดยใช้เซลล์ยีสต์ที่ถูกตรึงนี้สามารถปฏิบัติการได้นาน 20 วันโดยไม่ต้องหยุด เซลล์อิสระที่ออกมาพร้อมกับผลิตภัณฑ์น้อยกว่า 5 กรัมต่อลิตร ความสามารถในการผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 16.68 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงที่อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.3 ต่อชั่วโมง

Jianliang Yu, และคณะ, 2008 [18] ได้ศึกษาการหมักแข็งต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยยีสต์กลายพันธุ์มีความทนทานอุณหภูมิสูง (37 องศาเซลเซียส) ผลของความเข้มข้นหัวเชื้อ ขนาดอนุภาคและความชื้นที่ใช้ในการหมักแข็งต่อผลได้เอทานอล สภาวะที่เหมาะสมคือ 4×10^6 เซลล์ต่อกรัมต้นข้าวฟ่างหวาน เส้นผ่าศูนย์กลางต้นข้าวฟ่างหวานเท่ากับ 1.5 มิลลิเมตร และ ความชื้นร้อยละ 75 ผลได้สูงสุดเท่ากับ 7.9 กรัมเอทานอลต่อ 100 กรัมต้นข้าวฟ่างหวาน หรือ 0.46 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด

Fei Shen และคณะ, 2009 [19] ได้นำลำต้นข้าวฟ่างหวานมาลดขนาดน้อยที่สุดประมาณ 4 มิลลิเมตรถึงมากที่สุด 2.8 มิลลิเมตร นำไปตากแห้งด้วยแสงอาทิตย์ให้มีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 15 และเก็บรักษาไว้นาน 5 เดือน จากนั้นจึงนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลในเดือนที่ 6 ด้วยยีสต์แห้งทนร้อนและทนความเข้มข้นของเอทานอล (active dry yeast) สามารถใช้ทำการหมักเอทานอลได้อย่างรวดเร็ว โดยแปรผันปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการหมัก เช่น อุณหภูมิ ขนาดอนุภาคของต้นข้าวฟ่างหวาน อัตราการป้อนหัวเชื้อยีสต์ และปริมาณน้ำต่อการเติบโตของยีสต์ การบอบไคออกไซด์ เอทานอลที่ได้และน้ำตาลที่ถูกใช้ไป พบว่าอุณหภูมิและขนาดอนุภาคมีผลต่อการเติบโตและผลได้เอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ขนาดอนุภาคที่เหมาะสมคือ 1.6-2.5 มิลลิเมตรที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส ผลได้เอทานอลมีค่าเท่ากับ 0.2404 และ 0.2702 มิลลิกรัมเอทานอลต่อมิลลิกรัมน้ำตาล ด้วยหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 25 และความชื้นที่เหมาะสมเท่ากับร้อยละ 76.47

Ioanmis Dogaris และคณะ, 2009 [20] ศึกษาการเหนี่ยวนำเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสจาก *Neurospora crassa* ภายใต้การหมักแข็งสำหรับการเปลี่ยนทางชีวภาพจากงานข้าวฟ่างหวานเป็นเอทานอล การศึกษาแบ่งเป็น 2 เฟส คือเฟสที่ 1 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสจากการหมักแข็งที่มีลำต้นข้าวสาลีและรำข้าวสาลีผสมกันภายใต้สภาวะไร้อากาศด้วยเชื้อรา *Neurospora crassa* โดยศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมของการผลิตเอนไซม์

เช่น แห้งในโตรเจน พีเอช และความชื้นเริ่มต้นของอาหารเหลว พบว่าผลได้ของเอนไซม์ endoglucanase, exoglucanase, β -glucosidase, xylanase และ β -xylosidase เท่ากับ 492.8, 1.08, 26.7, 297.8 และ 0.132 ยูนิตต่อกรัมของแห้งคาร์บอน ตามลำดับ จากนั้นทำการแยกเอนไซม์โดยใช้เยื่อแผ่น Amicon PM-10 ให้ได้ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสที่เหมาะสม เฟสที่ 2 เป็นการหมักเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาจากขานข้าวฟ่างหวานด้วยเอนไซม์ที่ได้จากเฟสที่ 1 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร ในสภาพเขย่า 80 รอบต่อนาที ที่พีเอช 5.5 ใช้ระยะเวลา 96 ชั่วโมง ที่ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้อากาศไร้อากาศ และมีการระบายคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่า ขานข้าวฟ่างหวานสามารถนำมาใช้ผลิตเอทานอลได้ประมาณ 4.7 กรัมของเอทานอลต่อ 100 กรัมของขานข้าวฟ่างหวาน

รายงานวิจัยของ S. McIntosh and T. Vancov. 2010. [21] เรื่องการเพิ่มการย่อยสลายขานข้าวฟ่างหวานด้วยเอนไซม์ร่วมกับการปรับสภาพด้วยค่าอ่อน ตัวแปรของการปรับสภาพที่ส่งกระทบต่อการย่อยสลายขานข้าวฟ่างหวานแห้งด้วยเอนไซม์ เช่น อุณหภูมิ เวลา และความเข้มข้นของค่า การปรับสภาพที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และค่าเข้มข้นร้อยละ 2 ใช้เวลานาน 60 นาที ผลได้น้ำตาลหลังจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เบต้า-กลูโคซิเดส และ ไซแกลนเนสทางการค้าเพิ่มขึ้น 5.6 เท่าเทียบกับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเมื่อไม่ได้ปรับสภาพด้วยค่า ทำนองเดียวกันผลได้น้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้น 4.3 เท่าจากการปรับสภาพด้วยค่าเข้มข้นร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสใช้เวลานาน 90 นาที

Amir Goshadrou และคณะ, 2011 [22] ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลชีวภาพจากขานข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อรา *Mucor hiemalis* โดยที่ขานข้าวฟ่างหวานแห้งขนาดอนุภาคในช่วง 177-840 ไมโครเมตร (เมช 20-80) ถูกปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทำการเขย่าด้วยคลื่นเสียง (ultrasonication) และไม่ได้เขย่าก่อนที่จะนำไปย่อยสลายด้วยเซลลูเลสและเบต้า-กลูโคซิเดส (β -glucosidase) เอนไซม์ทางการค้า เพื่อให้ได้น้ำตาล การปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ขณะที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 12 ที่ 0 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง สมรรถนะการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ดีกว่าเมื่อใช้การเขย่าด้วยคลื่นเสียง ขั้นตอนสุดท้ายคือการหมักเอทานอลจากของเหลวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ด้วยเชื้อรา *Mucor hiemalis* ภายใต้อากาศไร้อากาศ ผลได้เอทานอล การผลิตเอทานอล และกลีเซอรอลสูงที่สุดจากขานที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีการเขย่าด้วยคลื่นเสียงร่วมด้วยเท่ากับร้อยละ 76.5, 0.43 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 51.4 มิลลิกรัมต่อกรัมกลูโคส ตามลำดับ

Fei Shen และคณะ, 2011 [23] ได้ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการอบแห้งและคุณภาพของขานข้าวฟ่างหวานสำหรับการผลิตเอทานอลจากผลของอุณหภูมิของการอบแห้ง การจำลองโดยใช้โมเดลของ Wang และ Singh สำหรับกระบวนการอบแห้งขานข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการลดขนาดอนุภาคที่อุณหภูมิต่างๆ คำนวณค่าคงที่ความสามารถของการแพร่ (diffusivity constant) และพลังงานกระตุ้น (active energy) เท่ากับ 4.4×10^{-5} ตารางเมตรต่อวินาที และ 21.4 กิโลจูลต่อโมลเคลวิน ใช้อุณหภูมิการอบแห้งอยู่ในช่วง 50 ถึง 60 องศาเซลเซียส นาน 7

ถึง 5.5 ชั่วโมง ได้ความชื้นที่เหมาะสมและน้ำตาลสูญเสียระหว่างกระบวนการอบแห้งร้อยละ 12.1 ถึง 9.7 ผลได้เอทานอลประมาณร้อยละ 65.5 ถึง 73.3

Shigeru Chohnan และคณะ, 2011 [24] ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานด้วยยีสต์ *แซคคาโรมายซิส ซีรีวิซิอี* สายพันธุ์ NBRC 0216 และสายพันธุ์ Hitachi ซึ่งเพาะจากเชื้อยีสต์ของเบียร์ที่จังหวัดอิบารากิ ประเทศญี่ปุ่น งานวิจัยนี้ทำการผลิตเอทานอลอย่างง่าย ประหยัด และให้มีประสิทธิภาพที่แหล่งปลูกข้าวฟ่างหวาน จึงทำการหมักน้ำคั้นจากข้าวฟ่างหวาน 3 พันธุ์โดยไม่ต้องผ่านการฆ่าเชื้อหรือการเติมกรดสำหรับป้องกันการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย ใช้เวลาหมัก 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และนำเซลล์ยีสต์จากการหมักแต่ละครั้งนำมาเข้าเครื่องเหวี่ยงแยก จากนั้นนำมาใช้ในการหมักทั้งสิ้น 16 ครั้ง เอทานอลที่ได้ร้อยละ 5.59 ถึง 6.13 โดยปริมาตร จากความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 10.1 โดยน้ำหนัก

Claudia C. Geddes และคณะ, 2011 [25] ได้รวบรวมข้อมูลต่างๆ เกี่ยวกับการผลิตเอทานอลจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส รวมทั้งการพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพที่แข็งแกร่งทนทาน (robust biocatalysts) ชนิดต่างๆ เพื่อลดต้นทุนเซลล์ และลดต้นทุนกระบวนการที่ซับซ้อนซึ่งมีราคาสูง การพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพภายใต้สภาวะกึ่งธรรมชาติที่เหมาะสมและมีการคัดแต่งพันธุวิศวกรรมเพื่อผลิตไกลโคไซด์ ไฮโดรเลส ผลได้เอทานอลประมาณ 0.21 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลล์ที่ป้อน การใช้กระบวนการอย่างง่ายมีประสิทธิภาพที่สามารถเพิ่มขึ้นอย่างน้อยที่สุด 0.27 กรัมเอทานอลต่อกรัมชีวมวล (83 แกลลอนต่อตัน)

Neda Ehsani และคณะ, 1996 [26] ได้ศึกษาการแยกเบต้า-ไซแลนเนส (β -xylanase) จากสารผสมระหว่างไซแลนเนสและเซลล์ที่เกิดจากการเติบโตของเชื้อรา *ไตรคลเดอร์มา รีลีอี* โดยใช้การกรองอัลตรา (ultrafiltration) ชนิดเยื่อแผ่นพอลิซัลโฟน (PSU) คือเยื่อแผ่น GR81, GR61 และ GR51 ค่าขนาด cut-off 6000, 20000, และ 50000 กรัมต่อโมล ตามลำดับ และค่าขนาด cut-off ของเยื่อแผ่น PM10 และ PM30 เท่ากับ 10000 และ 30000 กรัมต่อโมล ตามลำดับ พีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิห้อง การกรองขึ้นกับขนาดโมเลกุลของโปรตีน เบต้า-ไซแลนเนสผ่านเยื่อแผ่นทั้ง PM10 และ GR51 เพราะมีขนาดเล็ก ส่วนเอ็นโดกลูคาเนสผ่านเยื่อแผ่น PM30

D. Mamma และคณะ, 1996 [27] ศึกษาการหมักเอทานอลจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานแบบรวมปฏิกิริยาโดยใช้เชื้อผสมของ *Fusarium oxysporum* และ *Saccharomyces cerevisiae* ในถังหมักชีวภาพขนาด 20 ลิตรภายใต้สภาวะเดิมอากาศ เกิดการย่อยสลายเซลล์และเฮมิเซลล์ของข้าวฟ่าง ขณะที่แซคคาโรมายซิส ซีรีวิซิอีร่วมกับ *Fusarium oxysporum* เปลี่ยนน้ำตาลละลายเป็นเอทานอล โดยทำการปรับสภาพลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยร้อยละ 0.8 โซเดียมไฮดรอกไซด์ และทำให้เป็นกลาง พีเอชเท่ากับ 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกก่อนหลังจากทำให้ปลอดเชื้อ ถึงหมักมีไบโกลูโคสผสมอาหารเหลว ที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้หมักคือ 7 วัน ผลได้เอทานอลและความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 5.2 ถึง 8.4 กรัมเอทานอลต่อ 100 กรัมต้นสด และร้อยละ 3.5 ถึง 4.9 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ