

# การผลิตเอทานอลจากกล้วยที่ไม่ใช้บริโภคภายใต้สภาวะไม่ฆ่าเชื้อ

## Ethanol Production from Inedible Banana under Non-Sterilized Condition

สุธีรา ศรีชัยยศ<sup>1</sup>, สุมลวรรณ ชุ่มเชื้อ<sup>2</sup>, มลฤดี ชาวารัตน์<sup>3</sup>

Sutera Srichaiyos<sup>1</sup>, Sumonwan Chumchuere<sup>2</sup>, Monrodee Chaowarat<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพการผลิตเอทานอลจากกล้วยที่ไม่ใช้บริโภคในกระบวนการหมักแบบกะ ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 ภายใต้สภาวะไม่ฆ่าเชื้ออาหารหมัก โดยใช้อัตราส่วนของเนื้อมันกล้วยต่อน้ำ 2:1 ปรับปริมาณของแข็งละลายได้ด้วยกากน้ำตาล แปรผันปริมาณของแข็งละลายได้ค่าเริ่มต้นเป็น 15 20 และ 25 องศาบริกซ์ และค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นที่ระดับ 4.0 4.5 5.0 5.5 และค่าไม่ปรับความเป็นกรดต่าง เป็นชุดควบคุม ( $4.65 \pm 0.02$ ) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และหมักต่อโดยไม่เขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง ผลของการทดลองพบว่า การใช้อาหารหมักที่มีปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้นที่ 25 องศาบริกซ์ และมีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารหมัก  $4.65 \pm 0.02$  (ชุดควบคุม) โดยได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 14.64 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร หรือ  $115.63 \pm 2.90$  กรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลาการหมัก 66 ชั่วโมง จากนั้นนำสภาวะที่ดีที่สุดทำการหมักในถังหมักขนาด 2.5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที เติมน้ำอากาศ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหมักต่อโดยลดอัตราการกวนเหลือ 150 รอบต่อนาที และไม่เติมน้ำอากาศ นาน 72 ชั่วโมง พบว่า มีความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดที่ได้จากถังหมัก เท่ากับ 9.90 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร หรือ  $78.20 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร จากการใช้ระยะเวลาของการหมัก 66 ชั่วโมง

**คำสำคัญ:** เอทานอล กล้วย กากน้ำตาล ไม่ฆ่าเชื้ออาหารหมัก *Saccharomyces cerevisiae*

### Abstract

The potential for ethanol production from inedible banana in batch fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* strain BTMSU1 under a non-sterilized media condition was investigated. The inedible banana was diluted with distilled water at a ratio of 2:1, supplemented with molasses to adjust the concentration of total solids (15, 20 and 25 °Bx) and used as a fermentation media. The initial pH of the fermentation media was adjusted to 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 and without pH adjustment ( $4.65 \pm 0.02$ ). All of the experiments were incubated at 30 °C with an agitation rate at 100 rpm in the first 12 hours of fermentation time and then further incubation at 30 °C for 72 hours under a static condition. The results showed that the media with a total soluble solid content of 25 °Bx and initial pH of  $4.65 \pm 0.02$  (without adjusted pH) gave the maximum ethanol concentration of 14.64 % v/v (115.63 g/l) after 66 hours of fermentation time. Ethanol fermentation in a 2.5 L fermenter using the optimum condition the optimum conditions was achieved. The ethanol fermentation was carried out at 30 °C with agitation rate of 400 rpm and aeration rate of 0.1 mg/l for the first 24 hours of fermentation time then the agitation rate was decreased to 150 rpm and without aeration and fermented for 72 hours at 30 °C. It was found that, the highest ethanol concentration was 9.9 % v/v (78.20 g/l) at 66 hours of fermentation time.

**Keywords:** ethanol, banana, molasses, non-sterilized, *Saccharomyces cerevisiae*

<sup>1</sup> นิสิต, <sup>2,3</sup>อาจารย์, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

<sup>1</sup> Student, <sup>2,3</sup>Lecture, Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150, Thailand

\* Corresponding author: Monrodee Chaowarat, Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150, Thailand. Email: jackcwr@gmail.com



## บทนำ

เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นพลังงานทางเลือกที่สำคัญสำหรับการขนส่ง โดยในปี 2001 และ 2007 มีการใช้เอทานอล และไบโอเอทานอล เพิ่มขึ้นถึง 23 และ 46 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ<sup>1</sup> สำหรับอุตสาหกรรมเชื้อเพลิงชีวภาพ พบว่า มีแนวโน้มการผลิตสูงขึ้น ตามความต้องการการใช้พลังงานในปัจจุบัน สำหรับรัฐบาลไทย ได้ส่งเสริมให้มีการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพสำหรับภาคการขนส่ง โดยในปี 2004 ได้เริ่มใช้เอทานอลผสมกับน้ำมันเบนซิน เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ (gasohol) และผสมกับน้ำมันดีเซล เรียกว่า ไบโอดีเซล (biodiesel) อีกทั้งรัฐบาลมีแผนการพัฒนาพลังงานทดแทนเพื่อใช้ภายในประเทศเป็นระยะเวลา 15 ปี (2008 – 2014) จะต้องเพิ่มการผลิตเอทานอลให้ได้ 3.0, 6.2 และ 9.0 ล้านลิตรต่อวัน ซึ่งในช่วงปี 2007 – 2009 ประเทศไทยมีศักยภาพการผลิตเอทานอลเพื่อใช้ภายในประเทศอย่างเพียงพอ และยังสามารถส่งออกเอทานอลได้มากถึง 9.1 ล้านลิตร ไปยังประเทศสิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ ออสเตรเลีย และสหภาพยุโรป<sup>2</sup> วัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้ผลิตเอทานอลในยุคแรก ได้แก่ อ้อย มันสำปะหลัง ข้าวโพด และธัญพืชต่างๆ โดยวัตถุดิบเหล่านี้มีข้อจำกัดของการนำไปใช้เนื่องจากเป็นพืชที่ใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ และมีราคาสูง ดังนั้น การผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพในยุคปัจจุบัน ได้ให้ความสนใจในการนำของเหลือทางการเกษตร และพืชที่ไม่ใช่บริโภคเนื่องจากคุณภาพ และลักษณะรูปร่างของพืช หรือผลไม้บางส่วนเสียสภาพ ถูกทำลายจากแมลง รวมถึงเกิดการเสียหายจากการขนส่ง หรือมีปริมาณมากเกินไปเกินความต้องการของตลาดบริโภค มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทย จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาถึงเทคโนโลยีการผลิตเอทานอล และการจัดหาวัตถุดิบให้มีปริมาณตามต้องการเพื่อการพัฒนาการผลิตที่ยั่งยืน<sup>3</sup> ในการผลิตเอทานอลมีการผลิตมานานหลายพันปีในยุโรป อเมริกา และเอเชีย ในรูปแบบเครื่องดื่ม เช่น ไวน์ วิสกี้ เหล้า และสาโท ซึ่งเกิดจากกระบวนการหมักของยีสต์ โดยการเปลี่ยนแป้งหรือน้ำตาลเป็นเอทานอล มีงานวิจัยจำนวนมากที่ใช้วัสดุเหลือจากการเกษตร หรือพืชต่างๆ มาผลิตเอทานอล เช่น ข้าวฟ่างหวาน<sup>4,5</sup> น้ำอ้อย<sup>6</sup> กากน้ำตาล<sup>7</sup> มันสำปะหลัง<sup>8</sup> กากชานอ้อย<sup>9</sup> และซังข้าวโพด<sup>10</sup> เป็นต้น

ในการวิจัยนี้ ทำการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้กล้วยสุกอมที่ไม่ใช้ในการบริโภคมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล เนื่องจากกล้วยมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ น้ำตาลฟรุกโตส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส และประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกกล้วยน้ำว้า 800,154 ไร่ และมี

ผลผลิตถึง 1,607,592 ตัน<sup>11</sup> ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้กล้วยน้ำว้า *Musa sapientum* L. (Musaceae) สุกอมที่ไม่สามารถใช้บริโภค มาทำการศึกษาการผลิตเอทานอล โดยใช้กล้วยสุกอมที่ไม่สามารถใช้บริโภคมาหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 ภายใต้สภาวะต่างๆ เพื่อศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสม และศักยภาพการเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลของกล้วย

## การเตรียมเชื้อ

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการศึกษา คือ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 จากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เป็นเชื้อยีสต์ที่ตัดแยกได้จากกากน้ำตาล นำมาถ่วงลงในอาหารเหลวสูตร Yeast Malt medium: YM (yeast extract 3 กรัมต่อลิตร Malt extract 3 กรัมต่อลิตร peptone 5 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 18-24 ชั่วโมง เพื่อให้ความเข้มข้นของเซลล์สุดท้าย  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

## การเตรียมอาหารหมักจากกล้วย

เตรียมอาหารหมักจากกล้วยน้ำว้า *Musa sapientum* L. (Musaceae) ด้วยวิธีการดัดแปลงของ Hammon และคณะ<sup>12</sup> โดยนำกล้วยสุกอมที่ไม่ใช่บริโภคมาปอกเปลือกแล้วปั่นให้ละเอียดผสมน้ำในอัตราส่วน 2:1 ปรับปริมาณของแข็งละลายได้ด้วยกากน้ำตาล โดยแปรผันปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้นเป็น 15 20 และ 25 องศาบริกซ์ และแปรผันค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของการหมัก คือ 4.0 4.5 5.0 5.5 และซดไม่ปรับค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น ( $4.65 \pm 0.02$ ) เป็นซดควบคุม (control)

## การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

นำอาหารหมักจากกล้วย (ตามวิธีการเตรียมอาหารหมักจากกล้วย) ที่มีปริมาณของแข็งละลายได้เท่ากับ 20 องศาบริกซ์ ฆ่าเชื้อด้วยการเติมโพแทสเซียม เมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ที่ความเข้มข้น 200 ppm ปิดด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้ 1 วัน จากนั้น เติมเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 ที่มีปริมาณความเข้มข้นของเซลล์  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณของหัวเชื้อ ร้อยละ 10 โดยปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 18 - 24 ชั่วโมง เพื่อเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น สำหรับการหมักเอทานอลในขั้นตอนต่อไป

## สภาวะของการหมักเอทานอลในฟลาสก์ และถึงหมักขนาด 2.5 ลิตร

สำหรับการทดลองการหมักเอทานอลในฟลาสก์ นำอาหารหมักที่เตรียมไว้ (จากการเตรียมอาหารหมักจากกล้วย) มาเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 ใช้ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตร เติมนลงในอาหารหมักปริมาตร 250 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ในแต่ละชุดของการทดลอง จากนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที ใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก และทำการหมักต่อโดยไม่มีการเขย่า นาน 72 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อตรวจวิเคราะห์ แล้วนำสภาวะที่ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดมาใช้กับถังหมักขนาด 2.5 ลิตร มีปริมาตรของอาหารหมัก 1.5 ลิตร และใช้ปริมาณการถ่ายหัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตร โดยใช้สภาวะของการหมัก คือ ควบคุมการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยกำหนดอัตราการกวน และปริมาณการเติมอากาศดังนี้ ใช้อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที และเติมอากาศ 0.1 มิลลิลิตรต่อนาที ใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก จากนั้นไม่เติมอากาศและลดอัตราการกวนลงเหลือ 150 รอบต่อนาที จนครบระยะเวลาของการหมัก 72 ชั่วโมง

## วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างที่ได้จากการหมักในแต่ละชุดการทดลอง มาปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บส่วนใส เพื่อทำการวิเคราะห์ ปริมาณของแข็งละลายได้ ด้วย Hand refractometer ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธี Phenol sulfuric acid method<sup>13</sup> ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี DNS-method<sup>14</sup> และความเข้มข้นของเอทานอลด้วย Gas chromatography รุ่น Shimadzu GC-14A คอลัมน์ที่ใช้ PEG-20 M และคำนวณค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญของการผลิตเอทานอล คือ อัตราการผลิตเอทานอล ผลได้ของการผลิตเอทานอล และผลได้ของเอทานอลเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐาน<sup>15</sup>

## ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

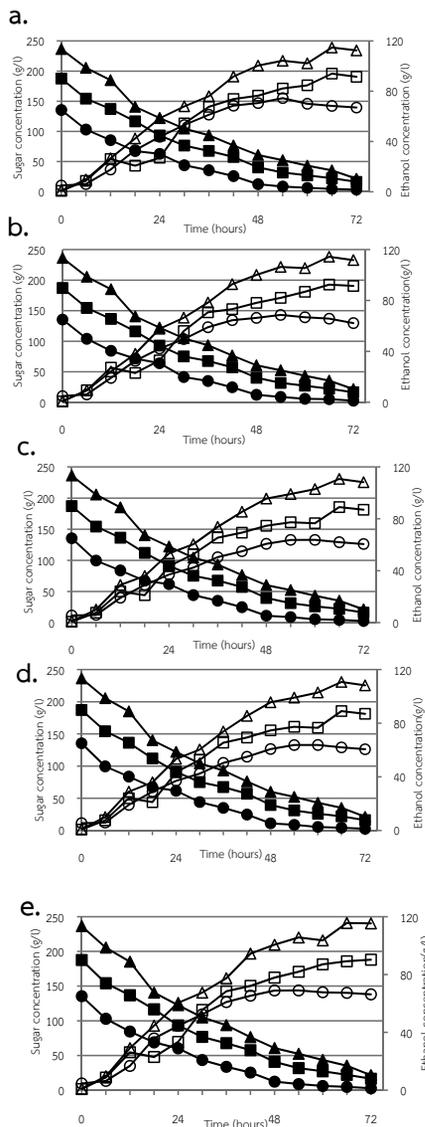
### ผลของปริมาณของแข็งละลายได้ต่อเอทานอลที่ผลิตได้

การศึกษาการหมักเอทานอลจากกล้วยที่ไม่ใช้บริโภค ในสภาวะที่ไม่ฆ่าเชื้ออาหารหมัก ด้วยการแปรผันปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้นที่ 15 20 และ 25 องศาบริกซ์ ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด  $135.52 \pm 0.09$   $187.58 \pm 0.17$  และ  $236.53 \pm 0.09$  กรัมต่อลิตรตามลำดับ หลังจากการถ่ายเชื้อพบว่า ในทุกๆ สภาวะของอาหารหมักปริมาณน้ำตาลจะลดลง

อย่างรวดเร็วใน ช่วง 12-24 ชั่วโมงแรกของการหมัก และปริมาณการใช้น้ำตาลลดลงอย่างต่อเนื่องจนเข้าใกล้ระยะเวลาสิ้นสุดของการหมักที่ 72 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นของน้ำตาลจะยังคงเหลือในอาหารหมัก  $3.50 \pm 0.16$   $16.37 \pm 0.14$  และ  $21.52 \pm 0.13$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการแปรผันปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้นของการหมัก พบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลได้จากการใช้อาหารหมักจากกล้วยที่มีปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้นที่ 25 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น  $4.65 \pm 0.02$  (ชุดควบคุม) ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด คือ 14.64 เปอร์เซ็นต์ หรือ  $115.63 \pm 2.90$  กรัมต่อลิตร มีผลได้ของเอทานอล 0.57 กรัมเอทานอลต่อกรัมสับสเตรต อัตราการผลิตเอทานอล 1.75 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีผลได้ของเอทานอลเมื่อเทียบกับทฤษฎีคิดเป็น 112.71 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลาของการหมัก 66 ชั่วโมง รองลงมาคือ อาหารหมักที่มีปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้น 20 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น 4.0 ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด คือ 11.90 เปอร์เซ็นต์ หรือ  $94.01 \pm 1.59$  กรัมต่อลิตร มีผลได้ของเอทานอล 0.57 กรัมเอทานอลต่อกรัมสับสเตรต อัตราการผลิตเอทานอล 1.42 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีผลได้ของเอทานอลเมื่อเทียบกับทฤษฎีคิดเป็น 111.56 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลาของการหมัก 66 ชั่วโมง และความเข้มข้นของเอทานอลต่ำสุด ได้จากการใช้อาหารหมักที่มีปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้น 15 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น 4.0 ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด คือ 9.43 เปอร์เซ็นต์ หรือ  $74.50 \pm 0.99$  กรัมต่อลิตร มีผลได้ของเอทานอล 0.59 กรัมเอทานอลต่อกรัมสับสเตรต อัตราการผลิตเอทานอล 1.38 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีผลได้ของเอทานอลเมื่อเทียบกับทฤษฎีคิดเป็น 115.07 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลาของการหมักนาน 54 ชั่วโมง (Figure 1 และ Table 1) แสดงให้เห็นว่า ปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้นในอาหารหมักสูง จะส่งผลให้อาหารหมักมีสับสเตรต (ปริมาณน้ำตาล) มากพอสำหรับการเจริญ และการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 ซึ่งผลการทดลองนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาการผลิตเอทานอลจากกล้วยในสภาวะที่ ฆ่าเชื้ออาหารหมักด้วย KMS โดยอาหารหมักที่มีปริมาณของแข็งละลายได้ 25 องศาบริกซ์ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงถึง 13.04 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรหรือ 103.0 กรัมต่อลิตร มีผลได้ของเอทานอล 0.54 กรัมเอทานอลต่อกรัมสับสเตรต อัตราการผลิตเอทานอล 1.72 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีผลได้ของเอทานอลเมื่อเทียบกับทฤษฎีคิดเป็น 105.22 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลาของการหมักนาน 60 ชั่วโมง<sup>16</sup> และมีรายงานการศึกษาการแปรผันความเข้มข้นของ



น้ำตาลเริ่มต้นของอาหารหมักในระดับต่างๆ สำหรับการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารหมักมีผลต่ออัตราการเจริญ และความเข้มข้นของเอทานอลที่สามารถผลิตได้โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 250 กรัมต่อลิตรมีความเหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* โดยมีอัตราการเจริญ และให้ผลได้ของเอทานอลสูงกว่าการใช้อาหารหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่ต่ำกว่า<sup>17,18,19</sup>



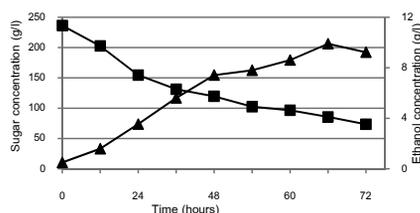
**Figure 1** Sugar consumption (g/l) and ethanol concentration (g/l) from inedible banana supplement with molasses with various initial pH is 4.0 (Fig. 1a) 4.5 (Fig. 1b) 5.0 (Fig. 1c) 5.5 (Fig. 1d) and control (4.65 ± 0.02) (Fig. 1e) and various total soluble solid (● = 15 °Bx ■ = 20 °Bx and ▲ = 25 °Bx) (Black symbol is sugar concentration and white symbol is ethanol concentration)

### ผลของค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นต่อปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้

จากการแปรผันค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารหมักที่ระดับ 4.0 4.5 5.0 5.5 และชุดควบคุม (4.65 ± 0.02) พบว่าค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของเอทานอลที่สามารถผลิตได้ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งละลายได้ในระดับเดียวกัน เนื่องจากค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารหมักที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นช่วงค่าความเป็นกรดต่างที่เชื้อยีสต์สามารถเจริญได้ โดยค่าความเป็นกรดต่างที่เชื้อ *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้อยู่ในช่วงคือ 2.4 - 8.2 และระดับค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมคือ 4.5<sup>20</sup> และพบว่า การหมักเอทานอลจากน้ำตาลประสิทธิภาพการหมักจะไม่เปลี่ยนแปลงในช่วงค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นอยู่ในช่วง 3.5 - 6.0<sup>21</sup>

### ผลของการหมักเอทานอลในถังหมักขนาด 2.5 ลิตร

จากการศึกษาการหมักเอทานอลจากกล้วยน้ำว้าสุกอมที่ไม่ใช้บริโภคน ด้วยกระบวนการหมักแบบกะในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร พบว่า สภาวะที่ดีที่สุดที่จากการหมักในฟลาสก์ คือ ใช้ปริมาณของแข็งละลายได้ 25 องศาบริกซ์ และไม่ปรับค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารหมัก (4.65 ± 0.02) จึงใช้สภาวะดังกล่าวนี้ทำการศึกษการผลิตเอทานอลในระบบถังหมัก พบว่า ปริมาณการใช้น้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับการหมักในฟลาสก์ และจะลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดที่ได้จากการหมักในถังหมักคือ 9.90 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรหรือ 78.20 กรัมต่อลิตร ผลได้ของเอทานอล 0.48 กรัมเอทานอลต่อกรัมสับสเตรต อัตราการผลิต 1.18 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีผลได้เมื่อเทียบกับทฤษฎีคิดเป็น 94.13 เปอร์เซ็นต์ ใช้ระยะเวลาของการหมัก 66 ชั่วโมง (แสดงในรูปที่ 2) ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมักในถังหมักต่ำกว่าระดับฟลาสก์ เนื่องจาก ลักษณะของอาหารหมักที่มีความหนาแน่นของเนื้อกล้วยค่อนข้างสูง ทำให้การกวน การแพร่ของอากาศ และการเจริญของเชื้อไม่ทั่วถึงกับอาหารหมักในถังทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงแก่นตะวันในอาหารเหลว YPD หนึ่งมาเชื้อ ก่อนถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ KCCM50549 พบว่า ลักษณะของอาหารหมักเป็นน้ำแป้งเหนียวข้นส่งผลให้เชื้อไม่สามารถใช้อาหารในการเจริญ และผลิตเอทานอลได้อย่างเต็มที่ ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้ต่ำ คือ 36.2 กรัมต่อลิตร สามารถสรุปได้ว่าความหนืดของอาหารมีผลต่อการเจริญ และประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล



**Figure 2** Sugar concentration (g/l) and ethanol concentration (g/l) from ethanol fermentation in 2.5 L fermenter of inedible banana supplement with molasses with 25 °Bx of total soluble solid and without pH adjustment ( $4.65 \pm 0.02$ ). The symbol ■ is sugar concentration and ▲ is ethanol concentration

**Table 1** Kinetic parameters of ethanol production from inedible banana supplement with molasses at various initial total soluble solid and initial pH.

°Bx <sup>a</sup>	pH	Initial sugar concentration (g/l)	Final sugar concentration (g/l) <sup>b</sup>	Ethanol concentration (%v/v) <sup>c</sup>	Kinetic parameters <sup>c</sup>			
					P (g l <sup>-1</sup> )	Q <sub>p</sub> (g l <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Y <sub>ps</sub> (g g <sup>-1</sup> )	t (h)
15	4.0	135.52±0.09	3.50±0.09	9.43	74.50±0.99	1.38	0.59	54
	4.5	135.53±0.03	2.71±0.27	8.69	68.67±2.14	1.27	0.54	54
	5.0	135.53±0.03	2.44±0.21	8.56	67.66±0.47	1.25	0.54	54
	5.5	135.41±0.15	2.61±0.47	8.07	63.73±0.47	1.18	0.50	54
	control	135.45±0.15	2.69±0.17	8.73	69.00±1.33	1.28	0.54	54
20	4.0	187.58±0.17	16.37±0.14	11.90	94.01±1.59	1.42	0.57	66
	4.5	187.13±0.06	16.47±0.16	11.71	92.47±0.96	1.40	0.56	66
	5.0	187.40±0.18	16.29±0.09	11.32	89.44±2.46	1.36	0.54	66
	5.5	187.10±0.15	16.04±0.16	11.27	89.04±1.31	1.35	0.54	66
	control	187.62±0.13	16.52±0.16	11.43	90.27±3.02	1.25	0.53	72
25	4.0	236.53±0.09	21.52±0.13	14.53	114.76±2.36	1.74	0.57	66
	4.5	236.22±0.11	21.00±0.09	14.48	114.36±2.49	1.73	0.57	66
	5.0	236.20±0.15	21.35±0.09	14.24	112.52±1.51	1.70	0.56	66
	5.5	236.16±0.15	21.22±0.09	14.02	110.74±0.96	1.68	0.55	66
	control	236.41±0.22	21.66±0.12	14.64	115.63±2.90	1.75	0.57	66

<sup>a</sup>Total soluble solid (°Bx)

<sup>b</sup>Sugar concentration (g/l) at fermentation time

<sup>c</sup>P, ethanol concentration; Q<sub>p</sub>, volumetric ethanol productivity; Y<sub>ps</sub>, ethanol yield and t fermentation time.

### สรุปผลการทดลอง

สภาวะที่เหมาะสมของการหมักเอทานอลจากกล้วยที่ไม่ใช้บริโภค ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 ในสภาวะที่ไม่ฆ่าเชื้ออาหารหมัก สภาวะการหมักที่ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดคือมีปริมาณของแข็งละลายได้เริ่มต้น 25 องศาบริกซ์ และไม่ปรับค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารหมัก (ชุดควบคุม) ( $4.65 \pm 0.02$ ) โดยให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 14.64 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรหรือ  $115.63 \pm 2.90$  กรัมต่อลิตร มีผลได้ของเอทานอล 0.57 กรัมเอทานอลต่อกรัมสับ

สเตรตอ์การการผลิตเอทานอล 1.75 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีผลได้ของเอทานอลเมื่อเทียบกับทฤษฎีคิดเป็น 112.71 เปอร์เซ็นต์โดยใช้ระยะเวลาของการหมัก 66 ชั่วโมง และจากการศึกษาการหมักเอทานอลในถังหมักได้ความเข้มข้นของเอทานอลต่ำกว่าในระดับฟลาสก์ เนื่องจากลักษณะของอาหารหมักที่มีความหนาแน่นสูง ทำให้การกระจายของเชื้อไม่ทั่วถึงอาหารหมักภายในถังหมัก โดยความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้ คือ 9.90 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรหรือ 78.20 กรัมต่อลิตร และยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ BTMSU1 สามารถ



รอดชีวิต และผลิตเอทานอลในอาหารหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง (โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดประมาณ  $236.53 \pm 0.09$  กรัมต่อลิตร)

## References:

1. Yan, J. & Lin, T. (2009). Biofuels in Asia. Applied Energy, 86, S1–S10DEDE, (2009). Monthly exported ethanol(January 2007 August 2009)./http://www.dede.go.th/ dede/ fileadmin /usr/bers/gasohol\_documents/gasohol\_2009/export\_ethanol\_092009.pdfS (accessed September20, 2009).
2. Thapat Silalertruksa & Shabbir H. Gheewal (2013) . Security of feedstocks supply for future bio-ethanol production in Thailand. Energy Policy, 38, 7476–7486
3. Liu R., Li J & Shen F. (2008) Refining bioethanol from stalk juice of sweet sorghum by immobilized yeast fermentation. Renewable Energy, 100(18), 1130-1135
4. Belum VS Reddy., S Ramesh., P Sanjana Reddy., B Ramaiah., PM Salimath & Rajashekar Kachapur. (2005) Sweet sorghum-A potential alternate raw material for bio- ethanol and bio-energy. International Sorghum and Millets Newsletter, 46. pp. 79-86.
5. Savitree Limtong, Chutima Srिंगiew & Wichien Youngmanitchai. (2007). Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus*. Biore-source Technology, 98(17), 3367-3374
6. Thu Lan T. Nguyen., Shabbir H. Gheewala. & Savitri Garivait. (2008). Full chain energy analysis of fuel ethanol from cane molasses in Thailand. Applied Energy, 85(8), 722-734
7. Christiana N Ogbonna & Eric C. Okoli. (2010). Conversion of cassava flour to fuel ethanol by sequential solid state and submerged cultures. Process Bio-chemistry 45, 1196-1200
8. Carlos Martin., Mats Galbe., Fredrik C. Wahlbom., Barbel Hahn-Hagerdal. & Leif J. Jonsson. (2002) Ethanol production from Enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-uti-lising *Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme and Mi-crobia Technology, 31(3) 274-282
9. Frank K. Agbogbo & Kevin S. Wenger. (2007). Pro-duction of ethanol from corn stover hemicellulose hydrolyzate using *Pichia stipitis*. J Ind Microbiol Bio-technol, 34, 723-727
10. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2552). ข้อมูลสถิติปริมาณผลผลิตทางการเกษตร อ้าง จากจากกรมศุลกากร. ออนไลน์ได้ จาก www.nfi.or.th [สืบค้นเมื่อกันยายน 2554].
11. Hammon. B. J., Egg. R., Diggins, D. & Cobel. C. G. (1996). Alcohol from bananas. Bioresource Technol-ogy, 56, 125-130.
12. Michel Dobois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers & Fred Smith. (1956) Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem*, 28 (3), 350–356
13. Miller, G.L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem*, 31, 426-428
14. Lakkana Laopaiboon, Sunan Nuanpeng, Penjit Sri-nophakun, Preekamol Klanrit & Pattana Laopaiboon. (2009). Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. *Bioresource Technol-ogy*, 100, 4176-4182
15. Sutera Srichaiyos, Sumonwan Chumchuere&Monrodee Chaowarat. (2011). Potential of bioethanol produc-tion from inedible banana. International Conference on Starch Technology, P-STARCH-8.
16. Sridhar. M. N., Kiran Sree & Venkatesmar L. Rao. (2002) Effect of UV Radiation on Thermotolerance, Ethanol tolerance and Osmotolerance *Saccharomyces cerevisiae* VS1 and VS3 Strains. *Bioresource Tech-nology*, 83, 199-202.
17. ชูติมา ศรีจิว. (2548). การผลิตเอทานอลเชื้อเพลิงจากน้ำ อ้อยโดยยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูง.วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
18. Lies Dwiarti, Chuenchit Boonchird, Satoshi Harashima & Enoch Y. Park. (2012). Simultaneous saccharifica-tion and fermentation of paper sludge without pre-treatment using cellulase from *Acremonium cellulo-lyticus* and thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomass and Bioenergy*, 42, 114 -122



19. อลิศรา เรืองแสง, พรเทพ ถนนแก้ว, ผกาวดีนารอง และ  
สามารถ มูลอามาตย์. (2546). รายงานการวิจัยเรื่องการ  
เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากข้าวฟ่างหวานด้วย  
เชื้อ *Saccromyces cerevisiae* TISTR5048 ด้วยวิธีการ  
หมักแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง. รายงานโครงการพิเศษ  
ทางเทคโนโลยีชีวภาพ. ขอนแก่น.มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
20. Liu. R. & Shen. F. (2008) Impacts of mainfactors on  
bioethanol fermentation from stalkjuice of sweet  
sorghum by immobilized*Saccharomyces cerevisiae*  
(CICC1308).*Bioresource Technology*, 99(4), 847- 854
21. Seok Hwan Lim, Ji Myoung Ryu, HongweonLee, Jae  
Heung Jeon, Dai Eun Sok & EuiSung Choi. (2011).  
Ethanol fermentation from Jerusalem artichoke  
powder using*Saccharomyces cerevisiae* KCCM50549  
without pretreatment for inulin hydrolysis.*Bioresource  
Technology*, 102, 2109-2111