บทคัดย่อ

228801

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาพัฒนาการผลิตเอธานอลจากผักตบชวาและวัสดุเหลือทิ้งจากมันสำปะหลังจากกระบวนการหมักแบบทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมัก (simultaneous saccharification and fermentation หรือ SSF) โดยใช้อะไมโลไลติกยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces diastaticus* KM 2047 ในการหมักแบบเชื้อเดี่ยว และใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces diastaticus* KM 2047 ร่วมกับ *Candida tropicalis* TISTR 5045 (อัตราส่วน 1:1) ในการหมักแบบเชื้อผสม และทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอธานอล ได้แก่ ปริมาณ และชนิดของซับสเตรต คือ ผักตบชวาและมันสำปะหลังในส่วนต่างๆ การทำพรีทรีตเมนต์ซับสเตรตด้วยกรดหรือด่างควบคู่กับการ autoclave (ที่ 130°C ที่ความดัน 15 lb/inch^2 นาน 30 นาที) และการใช้เอนไซม์ผสม (ไซลาเนส เซลลูเลส เพคติเนส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส) ในการย่อยซับสเตรต

เมื่อใช้ผักตบชวาส่วนใบและเหง้า (ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์) เป็นซับสเตรตในการทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมัก พบว่าหากความเข้มข้นของผักตบชวามากขึ้นทำให้ได้ปริมาณเอธานอลสูงขึ้น แต่ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการผลิตเอธานอลลดลง ในการทำพรีทรีตเมนท์ผักตบชวาด้วยกรดซัลฟิวริก (0.1 โมลาร์) ร่วมกับการ autoclave ก่อนการหมักด้วยเชื้อเดี่ยว พบว่าเมื่อใช้ใบจะได้ปริมาณเอธานอลสูงสุด 4.95 กรัมต่อลิตร และส่วนของเหง้าได้ปริมาณเอธานอลสูงสุด 5.17 กรัมต่อลิตร ส่วนการศึกษาผลการใช้เอนไซม์ ไซลาเนส และเซลลูเลสในปริมาณต่างๆ ในขณะที่เอนไซม์อื่นๆ ในปริมาณคงที่ (เพคติเนส 66.67 ยูนิตต่อกรัมชีวมวล แอลฟาอะไมเลส 600 ไมโครลิตรต่อกรัมชีวมวล และอะไมโลกลูโคซิเดส 20 ยูนิตต่อกรัมชีวมวล) ในการย่อยผักตบชวา 1.5 เปอร์เซ็นต์

พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ทั้งสองเพิ่มขึ้น ปริมาณเอธานอลที่ได้จากการหมัก และเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการผลิตเอธานอลเพิ่มสูงขึ้น ทั้งการหมักด้วยเชื้อเดี่ยว และเชื้อผสม โดยการใช้เอนไซม์ ไซลาเนส 16,666 ยูนิตต่อกรัมชีวมวล และเซลลูเลส 12,800 ยูนิตต่อกรัมชีวมวล ทำให้ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการผลิตเอธานอลสูงสุด คือ 67.28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการหมักส่วนใบ และเหง้า แบบการทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมักด้วยเชื้อผสม และพรีทรีตเมนท์ด้วยกรดซัลฟิวริก ได้ปริมาณเอธานอลสูงสุด 5.10 และ 5.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

นอกจากนี้ได้ศึกษาการหมักมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมัก โดยการใช้กรดซัลฟิวริก (0.1 โมลาร์) ร่วมกับการ autoclave จะได้ปริมาณเอธานอลสูงสุดจากการหมัก ลำต้น เปลือก และกากของมันสำปะหลัง เท่ากับ 2.82, 1.72 และ 3.07 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หากทำพรีทรีตเมนท์ เปลือก และกากมันสำปะหลัง ด้วยน้ำกลั่นร่วมกับการ autoclave และใช้เอนไซม์ผสมที่ให้ผลผลิตเอธานอลสูงสุด (ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นจากการหมักผักตบชวา) ในการย่อยจะทำให้ได้เอธานอลสูงสุดของการหมักด้วยเชื้อเดี่ยวจากเปลือก และกากมันสำปะหลัง เท่ากับ 3.63 และ 3.92 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และที่สภาวะเดียวกันแต่ใช้กรดซัลฟิวริกแทนน้ำกลั่น จะได้ เอธานอลสูงสุดสำหรับเชื้อเดี่ยว 5.02 และ 5.47 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และในการหมัก ลำต้น เปลือก และกากของมันสำปะหลัง ด้วยเชื้อผสมหลังจากการพรีทรีตเมนท์ด้วยกรดซัลฟิวริก ร่วมกับการ autoclave โดยไม่ใช้เอนไซม์จะได้ปริมาณเอธานอลสูงสุดเท่ากับ 2.97, 2.06 และ 2.82 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หากทำพรีทรีตเมนท์ด้วยน้ำกลั่นร่วมกับการ autoclave และใช้เอนไซม์ผสม (ชนิด และปริมาณเอนไซม์เท่ากับในเชื้อเดี่ยว) ย่อยเปลือกและกากมัน จะทำให้ได้เอธานอลสูงสุดเท่ากับ 3.40 และ 3.67 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และที่สภาวะเดียวกัน หากใช้กรดซัลฟิวริกแทนน้ำกลั่น จะได้เอธานอลสูงสุดเท่ากับ 5.30 และ 5.28 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จากผลการศึกษาข้างต้นจะเห็นได้ว่าชนิดของซับสเตรตมีผลต่อการผลิตเอธานอลจากกระบวนการหมักแบบทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมัก ทั้งแบบการใช้เชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม โดยซับสเตรตที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบมากจะให้ค่าการผลิตเอธานอลสูงสุด คือ กากมันสำปะหลัง ผลจากการทำพรีทรีตเมนท์ พบว่าการใช้กรดซัลฟิวริกร่วมกับการ autoclave ทำให้ซับสเตรตมีความพร้อมสำหรับถูกย่อยต่อด้วยเอนไซม์หรือสำหรับการหมักได้ดีที่สุด

The objective of this study is to produce bioethanol from simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of water hyacinth and cassava waste using amylolytic yeast, *Saccharomyces diastaticus* KM 2047, for mono-culture type and *Saccharomyces diastaticus* KM 2047 and *Candida tropicalis* TISTR 5045 (1:1) for co-culture type. Factors that affect ethanol production i.e. types and amount of substrate used, pretreatment of substrate with either acid (0.1 M sulfuric acid) or alkaline (0.025% sodium hydroxide) in autoclave (at 130°C under pressure of 15 lb/inch^2 for 30 minutes and use of muti-enzymes (xylanase, cellulase, pectinase, α-amylase and amyloglucosidase) were investigated.

Water hyacinth (roots and leaves) at 0.5%, 1.5% and 3.0% were used in simultaneous saccharification and fermentation (SSF). The higher the percentage of water hyacinth the higher the ethanol production but theoretical yield based on total biomass was found to decrease. Pretreatment of hyacinth with 0.1 M sulfuric acid together with autoclave conditions is useful for substrate preparation before enzymatic hydrolysis or fermentation. Maximum ethanol yields from mono-culture of *Saccharomyces diastaticus* KM 2047 in simultaneous saccharification and fermentation (SSF) using the sulfuric and autoclaved pretreated leaves and roots water hyacinth were at 4.95 g/l and 5.17 g/l, respectively. Various amounts of xylanase and cellulase with fixed amount of pectinase at 66.67 unit per gram biomass, α- amylase at 600 µl per gram biomass and

amyloglucosidase at 20 unit per gram biomass were added. When the amount of both xylanase and cellulase were increased, the ethanol yield and theoretical yield were also increased. When 16,666 unit per gram biomass of xylanase and 12,800 unit per gram biomass of cellulase were used, maximum theoretical yield of ethanol were obtained at 67.28%. Ethanol obtained from co-culture by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) using 0.1 M sulfuric acid treated water hyacinth leaves and roots under autoclave conditions were at 5.10 g/l and 5.02 g/l, respectively.

In addition, cassava was also used as substrate for ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation (SSF). Ethanol yields from mono-culture using cassava peels, cassava stalks and cassava pulps as substrate pretreated by 0.1 M sulfuric acid under autoclave conditions were at 2.82 g/l, 1.72 g/l and 3.07 g/l, respectively. While, the maximum ethanol yields of mono-culture using cassava peels and cassava pulps pretreated with distilled water under autoclave conditions with the addition of multi-enzymes as previous described were at 3.63 g/l and 3.92 g/l, respectively. However, when the same substrates had been treated with 0.1 M sulfuric acid, the ethanol yields were raised to 5.02 g/l and 5.47 g/l, respectively. For SSF using co-culture, cassava peels, cassava stalks and cassava pulps as substrate (no enzymes added) pretreated by condition yielded 2.97 g/l, 2.06 g/l and 2.82 g/l ethanol, respectively. Addition of enzymes, as mixtures previously described, to the pretreated cassava peels and cassava pulps with distilled water under autoclaving condition in SSF using co-culture yielded 3.40 g/l and 3.67g/l ethanol, respectively. More ethanol production could be obtained for 0.1 M sulfuric acid pretreated cassava peels and cassava pulps with enzyme addition using the same fermentation method at 5.30 g/l and 5.28 g/l, respectively.

It could be concluded from the results above that types of substrates could effect ethanol production from SSF both with single and co-culture. For example, substrate with high starch contents such as cassava pulps gave maximum ethanol yield. Pretreatment of substrate with 0.1 M sulfuric acid under autoclave conditions also increases ethanol production because of better access of substrate by the enzyme.