

การผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมักจากชีวมวลข้าวฟ่างหวานร่วมกับการรีไซเคิลกรดเซลลูเลสและ จุลินทรีย์ด้วยการกรองระดับอัลตราฟิลเตรชัน

Fermentation of Sweet Sorghum Biomass for Ethanol Production Coupling with the Recycling of Crude Cellulase and Microorganisms by Ultrafiltration

จิรพัฒน์ กิจสุวรรณ^{1*} จุไรวัลย์ รัตนะพิสิฐ² และ พงศรี ศิวราชศักดิ์²

Jiraprat Kitsuwat^{1*} Juraivan Ratanapisit² and Pongsri Siwarasak²

^{1*} นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ถนนรังสิต-นครนายก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

² อาจารย์ประจำ หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ถนนรังสิต-นครนายก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

^{1*} Graduate student in Master of Engineering (Chemical Engineering) of Engineering Faculty,
Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Rangsit-Nakhonnayok Rd., Thanyaburi, Pathum Thani 12110

² Lecturer in Master of Engineering (Chemical Engineering) of Engineering Faculty,
Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Rangsit-Nakhonnayok Rd., Thanyaburi, Pathum Thani 12110

*Corresponding author, E-mail: jiraprat.kit@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลจากกระบวนการหมักของชีวมวลข้าวฟ่างหวานร่วมกับเทคโนโลยีเมมเบรนระดับอัลตราฟิลเตรชันเพื่อการรีไซเคิลกรดเซลลูเลสและจุลินทรีย์กลับมาใช้ในกระบวนการหมักเพื่อเพิ่มระยะเวลาการหมักและผลได้ของเอทานอลจากการกรองใช้เมมเบรนชนิดโพลิเอเทอร์ซัลโฟนที่มีน้ำหนักโมเลกุลตัดการกรอง 30 kDa กระบวนการหมักแบบเฟดแบทช์เพื่อผลิตเอทานอลใช้ข้าวฟ่างหวาน 2,100 g จุลินทรีย์ผสม RT-P3 270 g และอาหารเหลว LM-pH 5 สูตรไม่มีน้ำตาลปริมาตร 6 L เวลา 10 วันพบว่าจุลินทรีย์มีการใช้น้ำตาลรีดิคซ์เพื่อการผลิตเอทานอลตลอดระยะเวลาการหมัก 10 วันโดยร้อยละผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 21 การทดลองการกรองแบบไหลขวางเพื่อการรีไซเคิลกรดเซลลูเลสและจุลินทรีย์ ณ ความเร็วไหลขวาง 0.1 m/s นั้น ใช้สารป้อนเป็นน้ำหมักจากกระบวนการหมักแบบเฟดแบทช์โดยการเติมอาหารเหลว LM-pH5 สูตรมีน้ำตาลความเข้มข้น 30 g/L ผลการทดลองพบว่า การหมักเฟดแบทช์ขยายเวลาการหมักได้ถึง 29 วันร้อยละผลได้ของเอทานอลมีค่าสูงกว่าสับทำเมื่อเทียบ

กับการหมักที่ไม่มีการใช้เชื้อ ร้อยละการกักกันของเมมเบรนต่อน้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล เซลลูเลส แอคติวิตี และ จุลินทรีย์ เท่ากับ 0.25, 23.34, 20.07 และ 98.43 ตามลำดับ

คำสำคัญ: อัลตราฟิเตรชั่น กรูเซลลูเลส เอทานอล

Abstract

This research aimed to study the ethanol production from fermentation of sweet sorghum biomass coupling with ultrafiltration for recycling crude cellulase and microorganisms to increase periods of fermentation and ethanol yields. The polyethersulfone membrane with MWCO 30 kDa was used. The fed-batch fermentation conditions for ethanol production were as follows: sweet sorghum 2100 g and co-microorganisms of RT-P3 270 g with the volume of LM-pH 5(no-sugar) 6 L for 10 days. The results showed that the reducing sugar was used by microorganisms to produce ethanol for the whole fermentation time which finally provided the ethanol yield of 21, based on the reducing sugar concentration. The results of membrane filtration of hydrolyzate from fed batch fermentation with addition of the Lm-pH 5 with sugar concentration of 30 g /L was also used for recycling crude cellulase and microorganisms at cross flow velocity of 0.1 m/s. It was shown that the significant increase in ethanol yield was more than 10 folds when compared to the fermentation without recycle and also provided the longer fermentation time. The percentage of rejection of reducing sugar, ethanol, cellulase activity and microorganisms were 0.25, 23.34, 20.07 and 98.43, respectively. These results showed high potential for the application of the membrane technology for recycling retentate to the fermentation reactor.

Keywords: ultrafiltration, crude cellulose, ethanol

1. บทนำ

พลังงานทางเลือกและพลังงานทดแทนได้รับความสนใจอย่างมากในช่วงกว่าสิบปีที่ผ่านมาพลังงานทดแทนนี้ได้รวมถึงเอทานอลซึ่งเป็นพลังงานชีวภาพที่ได้รับความสนใจเป็นพิเศษ เพราะเอทานอลสามารถผลิตได้จากพืชและเป็นเชื้อเพลิงที่เผาไหม้ได้สมบูรณ์กว่าเชื้อเพลิงปิโตรเลียม โดยทั่วไปเอทานอลสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบสามประเภทใหญ่ๆ คือ แป้ง น้ำตาล

และเส้นใยหรือวัสดุลิกโนเซลลูโลส(lignocellulose) จากชีวมวล เทคโนโลยีการผลิตเอทานอลขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบเป็นหลัก และชนิดวัตถุดิบมีผลต่อผลได้เอทานอล ถึงแม้ว่าการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบแป้งและน้ำตาลให้ผลได้เอทานอลที่ดี แต่วัตถุดิบกลุ่มแป้งและน้ำตาลจัดเป็นพืชอาหาร การใช้พืชอาหารเพื่อผลิตเอทานอลในระยะยาวน่าจะส่งผลกระทบต่อภาคต้นทุนการผลิตและวงจรการบริโภคของมนุษย์ได้ ดังนั้นการผลิต

เอทานอลจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลสจึงได้รับความสนใจ เพราะชีวมวลมี ราคาถูกหาง่ายมีความเป็นไปได้สูงเพื่อใช้ผลิตในอนาคต

ข้าวฟ่างหวาน (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) เป็นพืชตระกูลอ้อยและมีปริมาณของน้ำตาลในน้ำคั้นใกล้เคียงกับอ้อย ปลูกง่าย ทนแล้ง และมีอายุการเก็บเกี่ยว 100-120 วัน เมื่อเทียบกับอ้อยที่ใช้เวลาหนึ่งปีทำให้ผลผลิตข้าวฟ่างหวานต่อไร่ต่อปีสูงกว่าอ้อยดังนั้นข้าวฟ่างหวานจึงเป็นตัวเลือกที่มีศักยภาพสูงในการปลูกเพื่ออุตสาหกรรมเอทานอลในอนาคต

โดยทั่วไปกระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลกลุ่มเส้นใยลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลัก คือ การปรับสภาพ การไฮโดรไลซิส การหมัก และการแยกเอทานอล สำหรับการปรับสภาพเป็นขั้นตอนสำคัญขั้นตอนแรกและมีผลต่อความสามารถการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ต่อเซลลูโลสในชีวมวลเพื่อให้ได้กลูโคส จากนั้นกระบวนการหมักจะเปลี่ยนกลูโคสเป็นเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ แล้วจึงแยกเอทานอลออกจากระบบ สำหรับเอนไซม์เซลลูเลสทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลส ในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสเพื่อให้ได้กลูโคส เอนไซม์เซลลูเลสผลิตได้จากจุลินทรีย์เชื้อราที่ย่อยเซลลูโลส และผลิตได้ทั้งจากการหมักแข็งหรือหมักเหลว ในงานวิจัยนี้ใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากการผลิตแบบหมักแข็ง และใช้โดยไม่ผ่านการคัดแยกบริสุทธิ์ เรียกว่าครูดเซลลูเลส ทั้งนี้การใช้ครูดเซลลูเลสทำให้การผลิตเอทานอลง่ายขึ้นและลดต้นทุนการใช้เอนไซม์บริสุทธิ์ (Lever, 2010) สำหรับการผลิตเอทานอลให้มีผลได้สูงและมีความเป็นไปได้ในทางเศรษฐศาสตร์นั้น สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การนำกลับคืนเซลลูเลสและจุลินทรีย์ในไฮโดรไลเซต [สารละลายไฮโดรไลซิส (หรือน้ำหมัก)] เพื่อมาใช้ใหม่ การควบคุมถึงปฏิกรณ์หมักให้มีความเข้มข้นของกลูโคสให้มีลักษณะคงที่และอยู่ในช่วงค่าที่

เหมาะสม รวมถึงการแยกเอทานอลที่ได้ในระหว่างกระบวนการผลิตเพื่อรักษาสมดุลของถึงปฏิกรณ์ให้เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ล้วนส่งผลต่อการลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มผลได้เอทานอล

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา (Cheng, 2009) ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการหมักแบบเฟดแบทช์โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่ป้อน 2g/L.h, 4g/L.h และ 8 g/L.h พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลที่ป้อน 2 g/L.h ให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด และได้ดีกว่าการหมักแบบแบทช์ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ไม่ได้ศึกษาการรีไซเคิลเซลลูเลส จึงอาจทำให้ระยะเวลาในการหมักเป็นข้อจำกัดในงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่มีการศึกษาการรีไซเคิลเซลลูเลสจากการย่อยด้วยเอนไซม์ฟางข้าวสาลีที่ปรับสภาพด้วยกรดด้วยวิธีอิเล็กโตรอัลตราฟิลเตรชัน (electro ultrafiltration) เป็นการใช้สนามไฟฟ้าเพื่อช่วยลดความต้านทานการเกิดคอนเซนเตรชันโพลาไรเซชัน (Chen, 2013)

กระบวนการแยกด้วยเมมเบรนโดยใช้ความดันเป็นแรงขับเคลื่อนเป็นเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพและถูกนำไปใช้งานได้อย่างหลากหลายเพราะมีข้อเด่นหลายประการ ได้แก่ ความสามารถแยกองค์ประกอบขนาดใหญ่และเล็กโดยเฉพาะเมื่อสารป้อนมีความเข้มข้นในระดับต่ำได้ดี ประกอบกับเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้ความร้อนหรือใช้ความร้อนต่ำ จึงทำให้คุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพเหมือนหรือใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์เริ่มต้น รวมถึงผลิตภัณฑ์ชีวภาพเหล่านี้มีความอ่อนไหวต่ออุณหภูมิ ค่ากรดต่าง แรงกระทำต่างๆ ซึ่งการทำให้บริสุทธิ์และนำกลับคืนผลิตภัณฑ์มีค่าใช้จ่ายสูงโดยเฉพาะในแง่ของพลังงานที่ต้องใช้เมื่อเทียบกับกระบวนการทั่วไป สำหรับการกรองระดับอัลตราฟิลเตรชันเป็นที่นิยมใช้กรองอนุภาคขนาดเล็กสามารถนำไปใช้เพื่อกักกันจุลินทรีย์และ โปรตีนได้

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการกรองระดับอัลตราฟิลเตรชันเพื่อแยกเฟสสารละลายที่ได้จากการหมัก (น้ำหมัก) เพื่อรีไซเคิลเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการหมักต่อ โดยทำการศึกษาผลของความเร็วไหลขวางที่มีต่อการกักกัน (จุลินทรีย์ ทรูเซลลูเลส กลูโคส และเอทานอล) ต่อน้ำหมักที่ได้ในระหว่างการกรองและน้ำหมักรีไซเคิล

2. วัตถุประสงค์

ศึกษาการนำทรูเซลลูเลสและจุลินทรีย์กลับมาใช้ใหม่ด้วยการกรองไหลขวางระดับอัลตราฟิลเตรชัน

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 จุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ผสม RT-P3 ได้จากเชื้อราไตรโคเดอร์มาโรส RT-P1 (*T.reesei*, RT-P1) และ ยีสต์แซคคาโรมายซิส ซีรีวิสiae RT-P2 (*S.cerevisiae*, RT-P2) ซึ่งอยู่ในของผงและถูกเก็บรักษาในถุงที่ทำห่อฝอยและบรรจุในถังพลาสติกที่ปิดฝาที่อุณหภูมิห้องและมีความเข้มข้นของจุลินทรีย์เริ่มต้น 1.59×10^8 cell/ml โดยมีอายุของจุลินทรีย์ไม่เกิน 1 ปีจากห้องปฏิบัติการวิศวกรรมชีวเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

3.2 วัตถุดิบและอาหารเหลว

ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี อำเภอบางเอื้อง จังหวัดสุพรรณบุรี ลำต้นสดข้าวฟ่างหวานถูกย่อยให้มีขนาดอนุภาคประมาณ 1-5 mm

อาหารเหลว LM-pH 5 (ไม่เติมน้ำตาล) ประกอบด้วย $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1g/L, $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ 1g/L, ปุ๋ยยูเรีย (46 % NH_4SO_4) 8 g/L, ปุ๋ยฟอสเฟต (N-P-K:0-

52-34) 15 g/L และน้ำสะอาด 1 L ปรับพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5

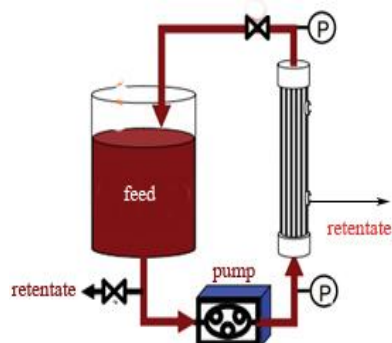
3.3 การหมัก

กระบวนการหมักเอทานอลใช้ลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน 2100 g จุลินทรีย์ผสม RT-P3 270 g และอาหารเหลว LM-pH 5 ปริมาตร 6 ลิตรในถังปฏิกรณ์ขนาด 15 ลิตร โดยใช้ความเร็วใบกวนเท่ากับ 220-230 rpm โดยนับวันแรกของการหมักเป็นวันที่ 0 และทำการเติมอาหารเหลว LM-pH 5 ปริมาตร 500 ml ทุกๆ 2 วัน และทำการกวนผสมทุกวันๆละ 3 ชั่วโมงและตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมงหลังจากวันที่ 10 ของการหมักจะทำการดิงสารออกมาทำการกรองและทำการรีไซเคิลรีเทนเททเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ซึ่งหลังจากนั้นจะทำการกรองทุกๆ 4 วันภายใน 10 วันแรกจะเป็นการหมักเอทานอลโดยการเติมอาหารเหลวสูตรไม่มีน้ำตาล และหลังจากนั้นจะเป็นการหมักเอทานอลโดยการเติมอาหารเหลวสูตรมีน้ำตาลที่ 30 g/L

3.4 เมมเบรนและการกรอง

เมมเบรนในการทดลองการกรองระดับอัลตราฟิลเตรชันเป็นเกรดการค้า (Quix stand, บริษัท GE Medical Systems (Thailand) จำกัด) วัสดุที่ใช้ทำเมมเบรนคือโพลีเอเทอร์ซัลโฟน (polyethersulphone) มีน้ำหนักโมเลกุลตัดการกรอง 30kDa และมีพื้นที่การกรอง 420 cm^2 โดยแผนภาพชุดการกรองแสดงได้ดังรูปที่ 1

กระบวนการกรองใช้ปริมาตรของสารป้อนคือ 1 ลิตร โดยใช้ปั๊มเป็นแรงขับเมมเบรนมีพื้นที่การกรองเท่ากับ 420 cm^2 โดยการทดลองจะควบคุมอัตราส่วนการกรองของสารป้อนต่อกระแสเพอร์มิเอตเป็น 10:7 โดยปริมาตรที่ความดันตกคร่อม 5 psig และควบคุมความเร็วไหลขวาง 0.1 m/s



รูปที่ 1 แผนภาพชุดการกรองในงานวิจัย

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลระบบมีดังนี้ ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมได้จากการนับจำนวนเซลล์บนสไลด์ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า (สิรินดา ยุ่นฉลาด, 2540) ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ได้จากวิธี DNS (Miller, 1959) โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (uv-visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 570 nm สำหรับค่าเซลล์ลูเลส แอคติวิตีได้จากวิธีกระดาษกรอง (filter paper) (Ghose, 1987) และค่าความเข้มข้นเอทานอลใช้วิธีของ (William and Reese, 1950) โดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลายโปแตสเซียมไดโครเมต จากนั้นวัดการเปลี่ยนแปลงสีโดยใช้ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 nm

ค่าร้อยละการกักกันสารของกระบวนการกรองสามารถคำนวณได้ดังสมการที่ 1

$$R = \left(1 - \frac{C_p}{C_f}\right) \times 100(1)$$

โดยที่ R คือ ค่าร้อยละการกักกัน

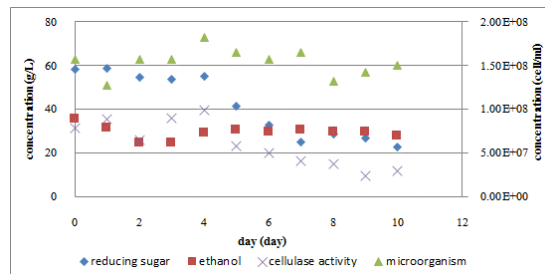
C_p คือ ความเข้มข้นของสารในกระแส เพอร์มิเอต

C_f คือ ความเข้มข้นของสารในกระแส รีเทนเตต

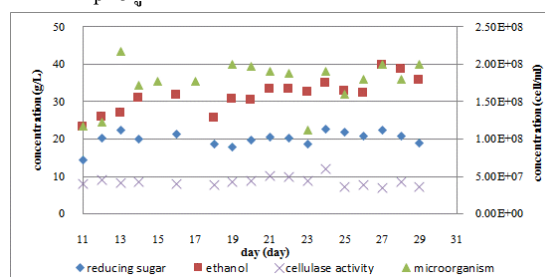
4. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

ผลการวิจัยพบว่าน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มลดลงตลอดช่วงระยะเวลาการหมัก 10 วัน ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยช่วง 3 วันแรกของการหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากจุลินทรีย์มีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์เพื่อความอยู่รอดและไม่มีการเจริญเติบโต ส่งผลต่อปริมาณของเอทานอลลดลงด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ การที่เอทานอลลดลงในช่วง 2 วันแรกของการหมักเนื่องมาจากเกิดการดูดซับของเอทานอลที่ผิวของข้าวฟ่างหวาน หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 4 และลดลงในวันที่ 5 แสดงถึงจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตและมีการผลิตเอทานอลทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นและสูงในวันที่ 5 และน้ำตาลรีดิวซ์วันที่ 6 จนถึงวันที่ 7 ของการหมักมีลักษณะแนวโน้มลดลงและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 8 และลดลงในวันที่ 10 ของการหมัก แสดงให้เห็นถึงจุลินทรีย์มีการใช้การเจริญเติบโตทำให้ช่วงวันที่ 9-10 มีแนวโน้มของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นและไม่มีการผลิตเอทานอลซึ่งสังเกตได้จากปริมาณของเอ็นไซม์ลดลงทำให้ปริมาณของเอทานอลมีแนวโน้มคงที่ สำหรับเอ็นไซม์แอคติวิตีมีแนวโน้มลดลงในช่วง 2 วันของกระบวนการหมักอาจเกิดการสะสมที่ผิวของข้าวฟ่างหวาน และเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 - 4 เนื่องจากจุลินทรีย์มีการปลดปล่อยเอ็นไซม์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล หลังจากนั้นเอ็นไซม์แอคติวิตีมีแนวโน้มลดลงจนถึงวันสุดท้ายในการหมักช่วงแรกทั้งนี้เป็นเพราะจุลินทรีย์ไม่มีการปลดปล่อยเอทานอลทำให้เอ็นไซม์ที่เหลือเกิดการสะสมบนข้าวฟ่างหวานเพิ่มขึ้นจึงมีแนวโน้มลดลง

จากรูปที่ 2 เมื่อทำการกรองในวันที่ 10 จะทำการรีไซเคิลในวันที่ 11 ของการหมักโดยใช้รีเทนเตตปริมาตร 300 mL และอาหารเหลว LM- pH 5 ปริมาตร 200 mL และควบคุมความเข้มข้นสุดท้ายให้ได้ 30g/L



รูปที่ 2 การหมักเอทานอลแบบเฟดแบทช์โดยการเติมอาหารเหลว LM-pH5 สูตรไม่มีน้ำตาล



รูปที่ 3 การหมักเอทานอลแบบเฟดแบทช์โดยการเติมอาหารเหลว LM-pH 5 สูตรมีน้ำตาลที่ความเข้มข้น 30 g/L

โดยทำการเติมอาหารเหลวทุก ๆ 2 วัน ทำให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 11 – 13 และลดลงในวันที่ 14 ของการหมัก และแนวโน้มของจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 13 ของการหมักแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีการใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลทำให้แนวโน้มของเอทานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 11 – 16 ของการหมัก

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของสารที่ผ่านการกรองในระดับอัลตราฟิลเตรชัน

Solution	Feed	Permeate	Retentate
Ethanol (g/L)	30.86	28.04	30.78
Reducing sugar (g/L)	15.98	12.25	19.88
cellulase activity (g/L)	8.42	6.73	9.72
Microorganism (cell/ml)	7.75E+07	1.21E+06	1.83E+08

หลังจากนั้นแนวโน้มของน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อนข้างคงที่เนื่องจากการควบคุมความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ และจุลินทรีย์มีการใช้เพื่อการเจริญเติบโตและมีการผลิตเอทานอล ซึ่งจากกราฟพบว่าจุลินทรีย์มีแนวโน้มสูงขึ้น และปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นตลอดช่วงการหมักในระยะเวลา 11 -28 วันของการหมัก และเนื่องจากการรีไซเคิลรีเทนเทตเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์จึงมีส่วนในการสะสมของเอทานอลทำให้แนวโน้มเอทานอลเพิ่มขึ้น

จากตารางที่ 1 และ 2 พบว่าร้อยละการกักกันของเอทานอลเป็น 0.25 เนื่องจากโมเลกุลของเอทานอลมีขนาดเล็กกว่าขนาดของรูพรุนมากทำให้โมเลกุลของเอทานอลส่วนใหญ่ผ่านเมมเบรนได้ สำหรับน้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอคติวิตี มีร้อยละการกักกันอยู่ที่ 23.34 และ 20.07 ตามลำดับด้วยเหตุผลจากสารละลายมีขนาดโมเลกุลของสารที่แตกต่างกันมาก จึงอาจทำให้เกิดการฟอรั่มตัวของชั้นเค้กทำให้สามารถกักกันน้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอคติวิตีได้บ้าง

ตารางที่ 2 ค่าการกักกันของสารที่ผ่านการกรองในระดับอัลตราฟิลเตรชัน

solution	Rejection (%)
ethanol	0.25
Reducing sugar	23.34
cellulase activity	20.07
microorganism	98.43

สำหรับการกักกันจุลินทรีย์พบว่าเมมเบรนชนิดนี้สามารถกักกันได้อย่างดีมากโดยมีค่าร้อยละการกักกันคือ 98.43 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Qi และคณะ (2011) และงานวิจัยของ Mores et al. (2001) ซึ่งใช้กระบวนการกรองในระดับอัลตราฟิลเตรชันในการแยกเซลล์ในน้ำหมัก

5. การอภิปรายผล

จากการศึกษาควรต่อ ยอดการกรองที่ความเร็วไหลขวางอื่นๆ และความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้ในการรีไซเคิลเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการกรองและทำการขยายผลโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมเพื่อทำการหมักเอทานอลต่อไป

6. บทสรุป

งานวิจัยนี้พบว่าเมมเบรนชนิดอัลตราฟิลเตรชันชนิดโพลิเอเทอร์ซัลโฟนสามารถกักจุลินทรีย์เพื่อรีไซเคิลในระหว่างกระบวนการหมัก แต่ไม่สามารถกักกันเอทานอลได้ รวมถึงมีการกักน้ำตาลรีดิวซ์และเอ็นไซม์ แอคติวิตีได้เล็กน้อย ซึ่งเมื่อนำมาใช้รีไซเคิลเข้าสู่ถังปฏิกรณ์สามารถทำการหมักต่อและผลิตเอทานอลต่อไปได้

7. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี อำเภอดู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรีที่ให้ความอนุเคราะห์ลำต้นสาคูฟางหวานสำหรับการผลิตเอทานอล

8. เอกสารอ้างอิง

สิรินดา ชุ่นฉลาด. (2540). ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ

1. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 46-53.

Cheng N., Hasan M., Chahyo A. Chew F.K., Ling and Tham M.(2009). Production of Ethanol by Fed-Batch Fermentation. *Pertanika J. Sci. & Technol*, vol.7, p.399 – 408.

Chen G. , Song W. , Qi B. , Lu J.,and Wan Y.

(2013). “Recycling cellulase from

enzymatic hydrolyzate of acid treated wheat straw by electroultrafiltration.” *Bioresource Technology*. Vol 144 (March – June) 186-193.

Ghose T. K. (1987). Measurement of Cellulase Activities, *Biochemical Engineering Research Centre, Indian Institute of Technology*.

Lever M., Ho G.,and Cord-Ruwisch R. (2010). Ethanol from Lignocellulose Using Crude Unprocessed Cellulose from Solid-state fermentation. *Bioresource Technology*. Res.7083–7087. vol 101.

Mores D.W.,Knutsen, J. and Davis R.H.(2001). Cellulase recovery via membrane filtration. *Biochemistry and Biotechnology*. P 91–93.

Miller G. L.(1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Journal of Analytical Chemistry - ANAL CHEM* (online).Available from:<http://libra.msra.cn/>.

Qi B., Luo J.,ChenG., ChenX.andWanY. (2011) Application of Ultrafiltration and Nanofiltration for Recycling Cellulose and Concentration Glucose from Enzymatic Hydrolyzate of Steam Explode Wheat Straw. *Bioresource Technology*, vol.104, p.466-472.

William M.B., and Reese D. (1950). Colorimetric determination of ethyl alcohol, *Analytical Chemistry* 22: 1556.