บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการหมักเอทธานอลด้วยกระบวนการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง

1.ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์เริ่มต้นที่เหมาะสม

การเติมปริมาณเอนไซม์แตกต่างกัน 4 ระดับโดยคำนวณเป็นจำนวนเท่าต่อจำนวนกรัมน้ำหนักแห้งของวัสดุหมักคือ 10 เท่า (30 มล.) 15 เท่า (45 มล.) 20 เท่า (60 มล.)และ 25 เท่า (75 มล.) โดยวัดค่า activity ของเอนไซม์ได้ค่า filter paper activity(FPA) เท่ากับ 0.093 U/ml CMCase เท่ากับ 1.82 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.828 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้น $7.9x10^7$ เซลล์/มล. โดยใช้เส้นใยป่านศรนารายณ์เป็นวัสดุหมัก พบว่า การเติมเอนไซม์ 25 เท่า (75 มล.) ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของวัสดุหมัก ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.6135 กรัม/100 มล. หรือ 0.2025 กรัมเอทธานอล/กรัมสับสเตรท โดยที่เอนไซม์ 20 เท่า (60มล.) ผลิตได้ 0.5862 กรัม/100มล. หรือ 0.1954 กรัมเอทธานอล/กรัมสับสเตรท เอนไซม์ 15 เท่า (45มล.) ผลิตได้ 0.5091 กรัม/100มล. หรือ 0.1697 กรัมเอทธานอล/กรัมสับสเตรท และเอนไซม์ 10 เท่า (30 มล.)ผลิตได้ 0.4596 กรัม/100มล. หรือ 0.1532 กรัมเอทธานอล/กรัมสับสเตรท ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 2,3

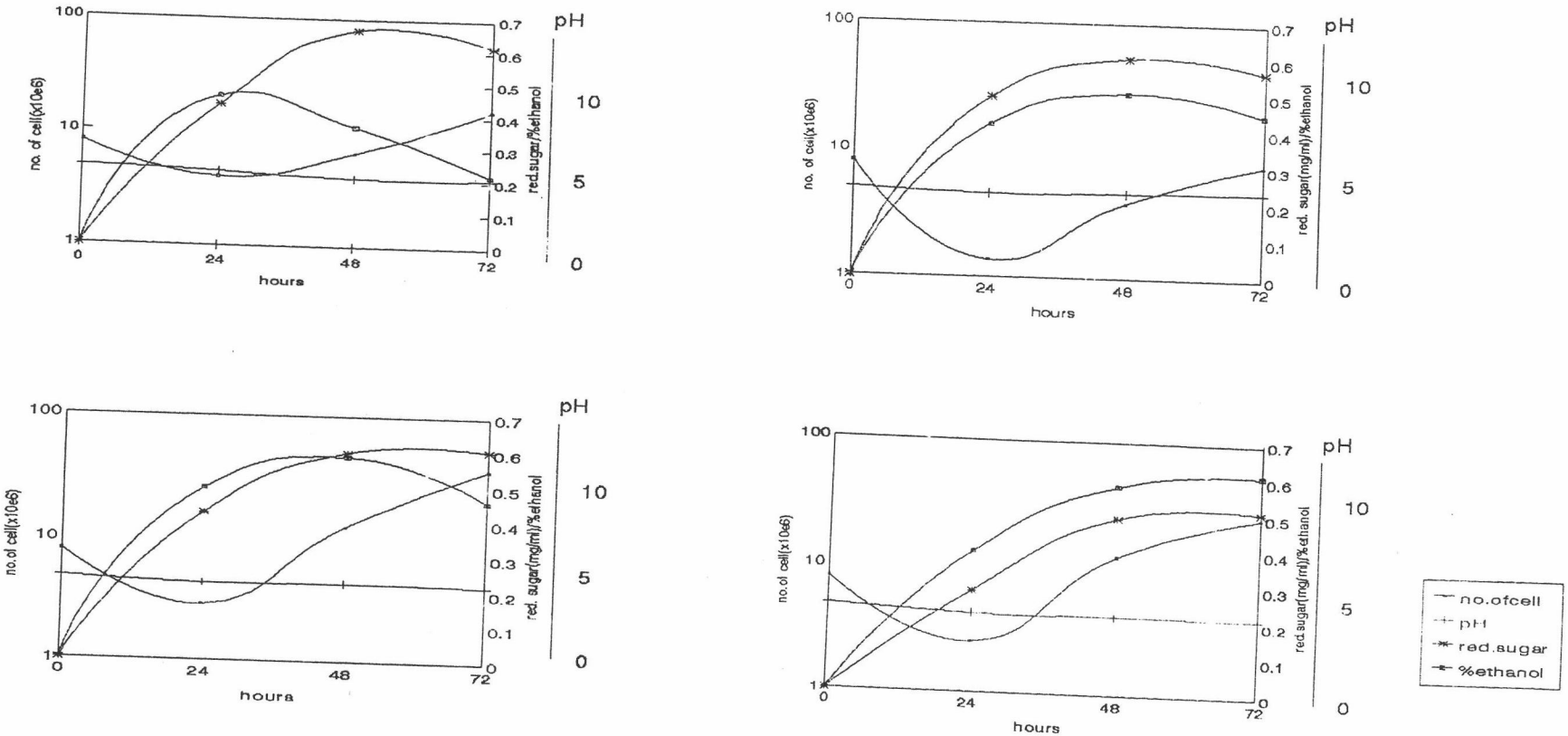
เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณเอนไซม์ทั้ง 4 ระดับมีผลต่อการผลิตเอทธานอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่เอนไซม์ 25 เท่า ผลิตเอทธานอลได้สูงที่สุด เอนไซม์ 20 เท่า และ 15 เท่า รองลงมา และเอนไซม์ 10 เท่า ผลิตได้ต่ำที่สุด

ตารางที่ 1 ผลของปริมาณเอนไซม์ต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ที่ อุณหภูมิ 40°ซ

จำนวนเซลล์ยีสต์(เซลล์/มล.)				
จำนวนเท่า	10	15	20	25
เวลา(ชม.)				
0	$7.9x10^{6}$*	$7.9x10^{6}$*	$7.9x10^{6}$*	$7.9x10^{6}$*
24	$3.96x10^{6}$	$1.37x10^{6}$	$2.92x10^{6}$	$2.53x10^{6}$
48	$6.55x10^{6}$	$3.86x10^{6}$	$1.29x10^{7}$	$1.26x10^{7}$
72	$1.61x10^{7}$	$7.82x10^{6}$	$3.78x10^{7}$	$2.68x10^{7}$
pH				
จำนวนเท่า	10	15	20	25
เวลา(ชม.)				
0	4.85	4.85	4.85	4.85
24	4.4	4.47	4.4	4.3
48	3.92	4.6	4.45	4.275
72	3.9	4.75	4.3	4.2
น้ำตาลรีดิวซ์(มก./มล.)				
จำนวนเท่า	10	15	20	25
เวลา(ชม.)				
0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.434	0.496	0.426	0.285
48	0.666	0.605	0.598	0.490
72	0.618	0.57	0.607	0.515
ปริมาณเอทธานอล				
จำนวนเท่า	10	15	20	25
เวลา(ชม.)	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s
0	0.0 0.0	0.0 0.0	0.0 0.0	0.0 0.0
24	0.4596 0.1532	0.4206 0.1402	0.4949 0.165	0.3938 0.1312
48	0.3667 0.1222	0.5091 0.1697	0.5862 0.1954	0.579 0.1932
72	0.219 0.0732	0.4506 0.1502	0.4632 0.1544	0.6135 0.2045

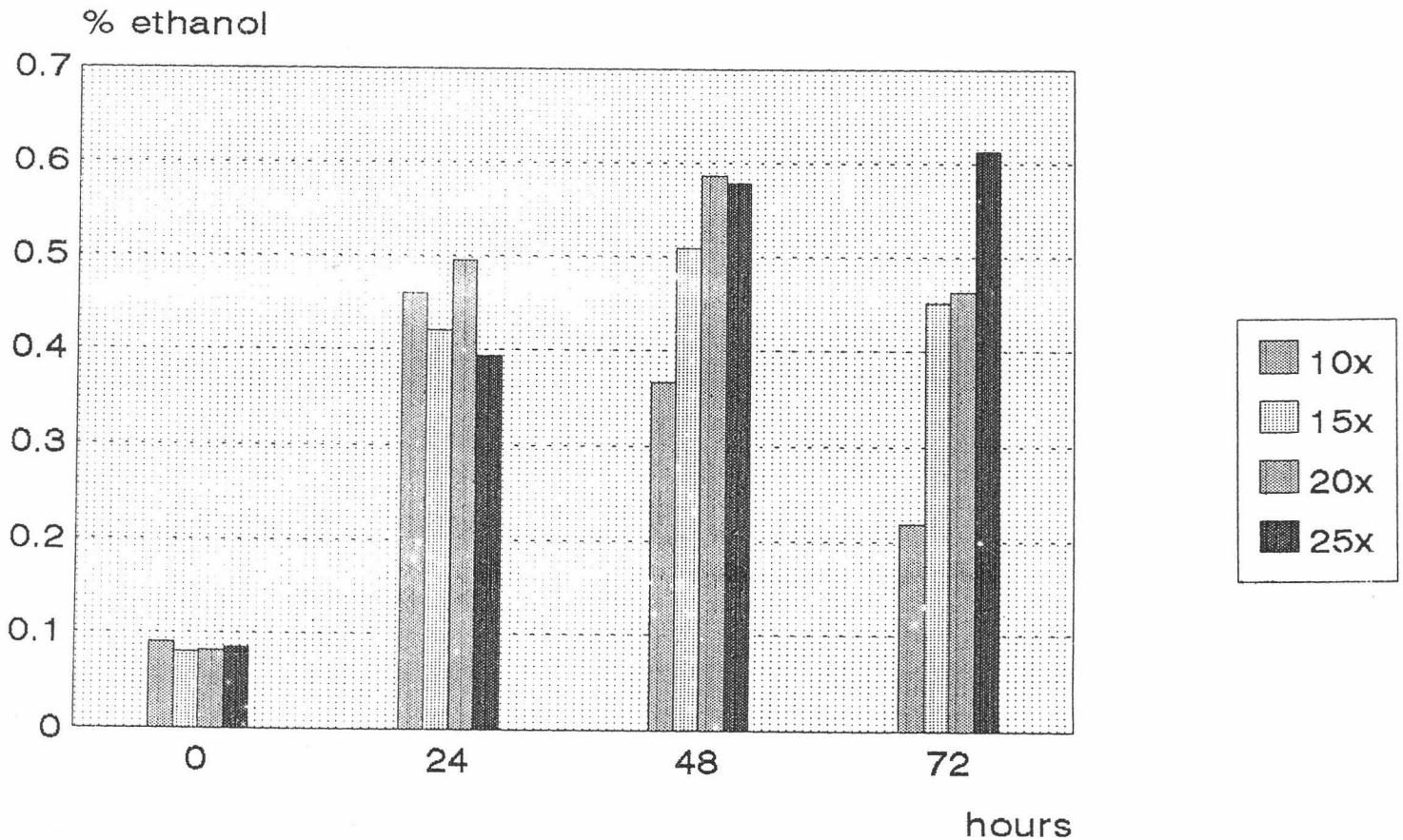
* คือ จำนวนเซลล์ยีสต์ที่คำนวณจาก inoculum ที่เติมลงไปจำนวน 10 % (v/v)

Y p/s คือ ปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 2 แสดงการหมักเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยใช้ปริมาณเอนไซม์แตกต่างกันที่อุณหภูมิ 40°ซ

(1) 10 เท่า (2) 15 เท่า (3) 20 เท่า (4) 25 เท่า



รูปที่ 3 ผลของปริมาณเอนไซม์ต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 40°ซ

2.ผลการศึกษาความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสม

เมื่อใช้วัสดุหมักและภาวะเหมาะสมตามข้อ 1.โดยวัดค่า activity ของเอนไซม์ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.155 U/ml CMCase เท่ากับ 2.56 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.977 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10^7 10^8 10^9 10^{10} เซลล์/มล. จำนวน 10 มล. โดยสามารถนับจำนวนเซลล์ยีสต์แต่ละความเข้มข้นได้ดังนี้ 3.82×10^7 เซลล์/มล. 3.625×10^8 เซลล์/มล. 2.58×10^9 เซลล์/มล. และ 3.25×10^{10} เซลล์/มล. พบว่า ยีสต์ความเข้มข้น 10^{10} เซลล์/มล. ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.6793 กรัม/100มล. หรือ 0.2264 กรัม/กรัมสับสเตรท ยีสต์ความเข้มข้น 10^9 เซลล์/มล. ผลิตได้ 0.5833 กรัม/100มล. หรือ 0.1944 กรัม/กรัมสับสเตรท ยีสต์ความเข้มข้น 10^8 เซลล์/มล. ผลิตได้ 0.6342 กรัม/100มล. หรือ 0.2114 กรัม/กรัมสับสเตรท และยีสต์ความเข้มข้น 10^7 เซลล์/มล. ผลิตได้ 0.4183 กรัม/100มล. หรือ 0.1394 กรัม/กรัมสับสเตรท ดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 4,5

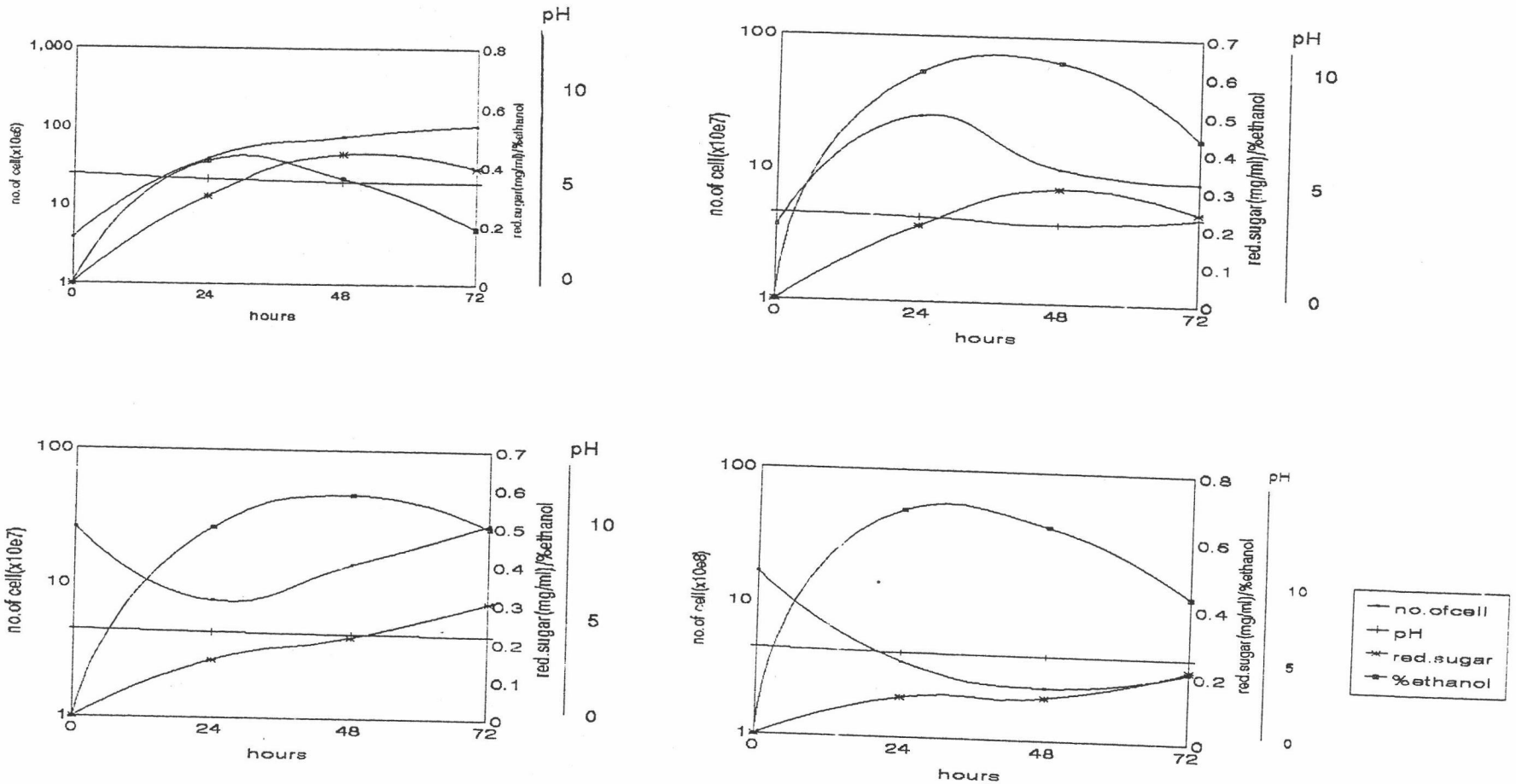
เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นทั้ง 4 ระดับ มีผลต่อการผลิตเอทธานอล แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ความเข้มข้นยีสต์ที่ระดับ 10^8 10^9 และ 10^{10} เซลล์/มล. ให้ผลผลิตเอทธานอลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและที่ระดับความเข้มข้น 10^7 เซลล์/มล. ผลิตเอทธานอลได้ต่ำที่สุด

ตารางที่ 2 ผลของความเข้มข้นยีสต์ต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 40°ซ

จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์/ มล.)				
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล.)	10^7	10^8	10^9	10^{10}
เวลา(ชม.)				
0	$3.82x10^6$	$3.62x10^7$	$2.58x10^8$	$1.66x10^9$
24	$3.98x10^7$	$2.54x10^8$	$7.49x10^7$	$3.72x10^8$
48	$7.63x10^7$	$1.04x10^8$	$1.40x10^8$	$2.50x10^8$
72	$1.07x10^8$	$8.36x10^7$	$2.82x10^8$	$3.35x10^8$
pH				
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล.)	10^7	10^8	10^9	10^{10}
เวลา(ชม.)				
0	4.52	4.52	4.52	4.52
24	4.18	4.33	4.36	4.33
48	4.01	3.91	4.28	4.29
72	3.95	4.10	4.22	4.3
น้ำตาลรีดิวซ์ (มก./ มล.)				
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล.)	10^7	10^8	10^9	10^{10}
เวลา(ชม.)				
0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.297	0.199	0.151	0.120
48	0.442	0.302	0.213	0.129
72	0.394	0.241	0.304	0.217

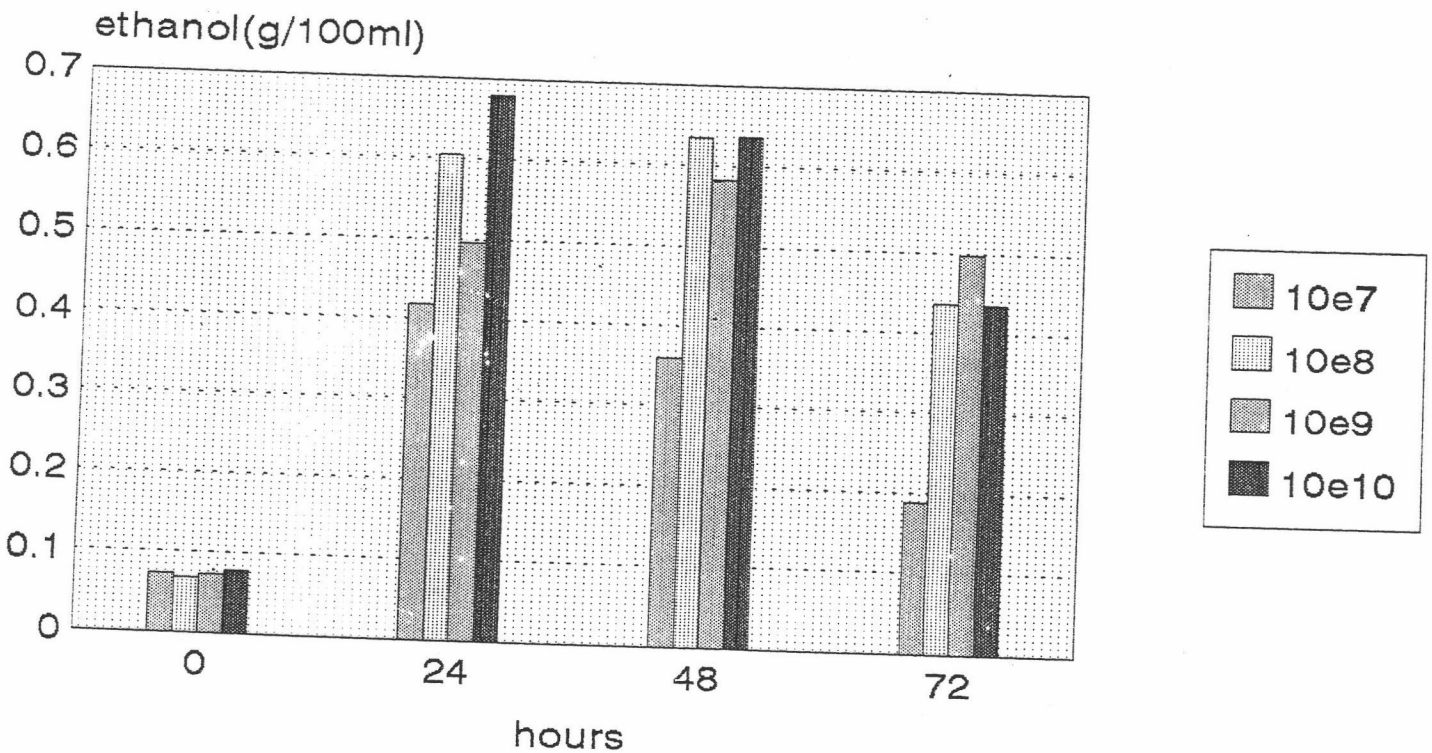
ปริมาณเอทธานอล								
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล.)	10^7		10^8		10^9		10^{10}	
เวลา(ชม.)	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.4183	0.2018	0.6054	0.2018	0.4957	0.1652	0.6793	0.2264
48	0.3589	0.2114	0.6342	0.2114	0.5833	0.1944	0.6371	0.2123
72	0.4876	0.1456	0.4370	0.1456	0.4976	0.1658	0.4359	0.1453

Y p/s คือ ปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 4 แสดงการหมักเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยใช้ความเข้มข้นยีสต์แตกต่างกันที่อุณหภูมิ 40°ซ

(1) 10^7 (2) 10^8 (3) 10^9 (4) 10^{10}



รูปที่ 5 ผลของความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ใช้ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า ที่อุณหภูมิ 40°ซ

I 17054469

3.ผลการศึกษาความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสม

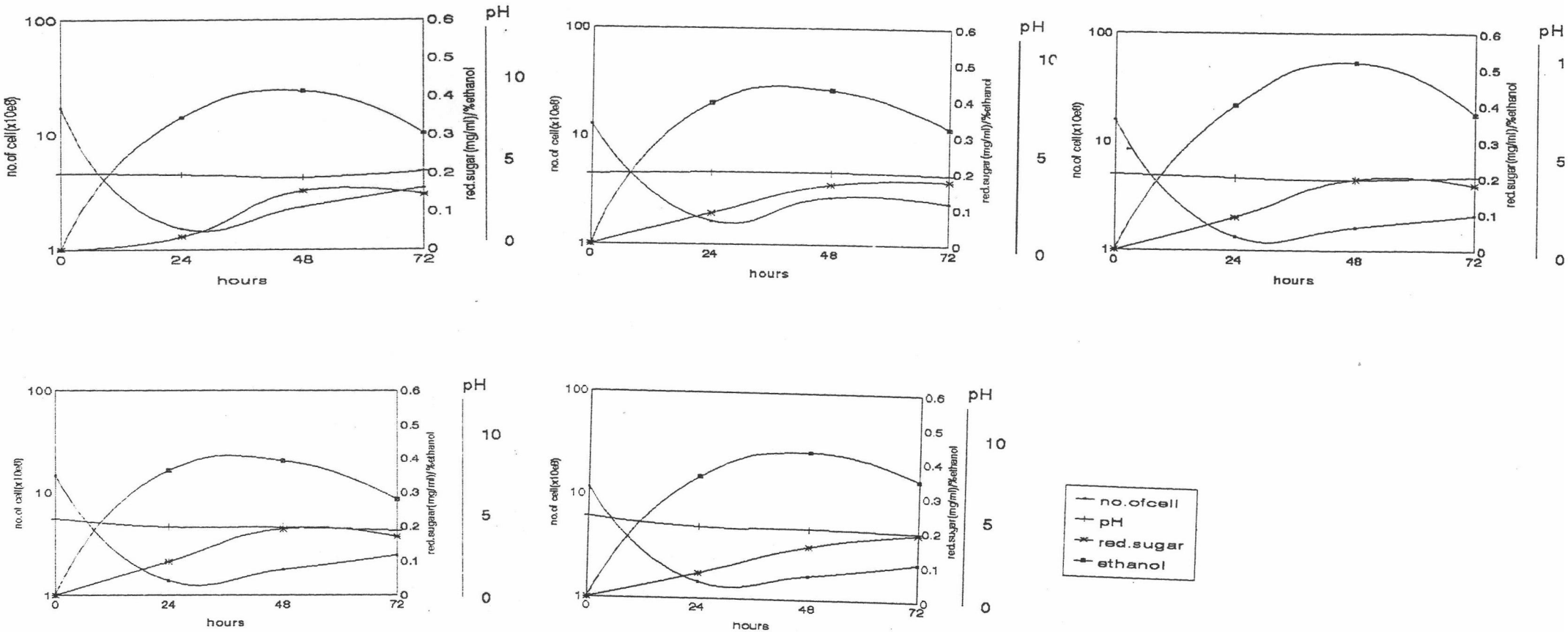
เมื่อใช้วัสดุหมักและภาวะเหมาะสมในข้อ 2. โดยวัดค่า activity ของเอนไซม์ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.044 U/ml CMCase เท่ากับ 1.324 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.278 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้น $2.95x10^{10}$ เซลล์/มล.จำนวน 10 มล. โดยปรับความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 4.0 4.5 5.0 5.5 และ 6.0 พบว่า ที่ pH 5.0 ผลิตได้สูงสุด 0.5192 กรัม/100มล. หรือ 0.1730 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่ pH 4.0 ผลิตได้ 0.4143 กรัม/100มล. หรือ 0.1381 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่ pH 4.5 ผลิตได้ 0.4273 กรัม/100มล. หรือ 0.1424 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่ pH 5.5 ผลิตได้ 0.3943 กรัม/100มล. หรือ 0.1314 กรัม/กรัมสับสเตรท และที่ pH 6.0 ผลิตได้ 0.4282 กรัม/100มล. หรือ 0.1427 กรัม/กรัมสับสเตรท ดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 6,7

เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น ทั้ง 5 ระดับมีผลต่อการผลิตเอทธานอล แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ pH 5.0 จะผลิตเอทธานอลได้สูงสุด ที่ pH 4.0 4.5 และ 6.0 ผลิตได้รองลงมา และที่ pH 5.5 จะผลิตได้ต่ำที่สุด

ตารางที่ 3 ผลของความเป็นกรด-ด่าง(pH)เริ่มต้นต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 40°ซ

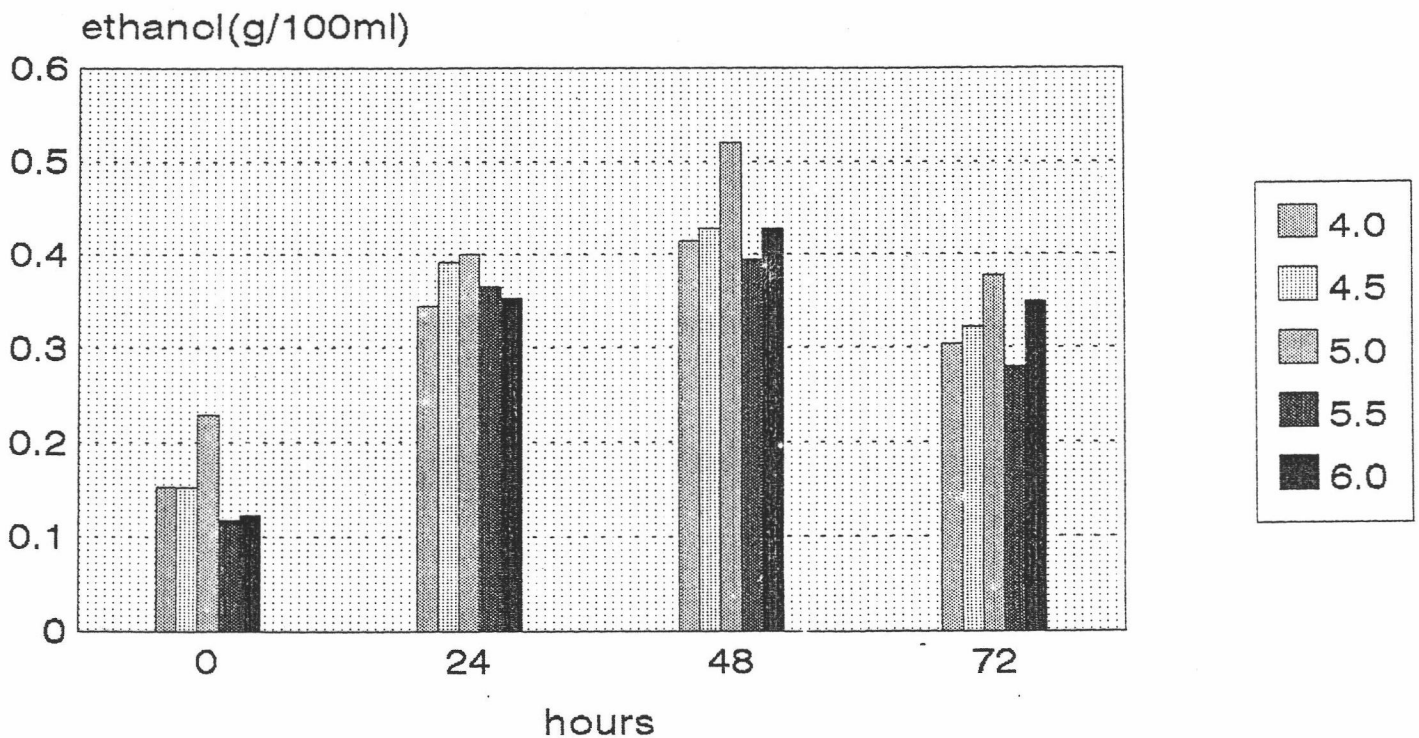
จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์/มล.)					
pH	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
เวลา (ชม.)					
0	$1.72x10^9$	$1.285x10^9$	$1.59x10^9$	$1.48x10^9$	$1.15x10^9$
24	$1.52x10^8$	$1.637x10^8$	$1.33x10^8$	$1.40x10^8$	$1.45x10^8$
48	$2.35x10^8$	$2.735x10^8$	$1.63x10^8$	$1.79x10^8$	$1.70x10^8$
72	$3.45x10^8$	$2.435x10^8$	$2.11x10^8$	$2.47x10^8$	$2.29x10^8$
pH					
pH	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
เวลา (ชม.)					
0	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
24	4.5	4.65	4.625	4.6	4.87
48	4.25	4.6	4.475	4.575	4.82
72	4.8	4.43	4.775	4.45	4.52
น้ำตาลรีดิวซ์ (มก. / มล.)					
pH	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
เวลา (ชม.)					
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.033	0.086	0.0905	0.0992	0.074
48	0.1527	0.1657	0.1962	0.1932	0.154
72	0.1435	0.176	0.1802	0.171	0.193
ปริมาณเอทธานอล (กรัม / 100 มล.)					
pH	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
เวลา (ชม.)	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s
0	0.0 0.0	0.0 0.0	0.0 0.0	0.0 0.0	0.0 0.0
24	0.3445 0.1148	0.3914 0.1304	0.4003 0.1334	0.3654 0.1218	0.3529 0.1176
48	0.4134 0.1381	0.4273 0.1424	0.5192 0.1730	0.3943 0.1314	0.4282 0.1427
72	0.3038 0.1012	0.3222 0.1074	0.3767 0.1255	0.2800 0.093	0.3489 0.1163

Y p/s คือ ปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 6 แสดงการหมักเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยใช้ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นแตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 40°ซ ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า เติมยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10 %(v/v)

(1) 4.0 (2) 4.5 (3) 5.0 (4) 5.5 (5) 6.0



รูปที่ 7 ผลของความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ใช้ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า ยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10% (v/v) ที่อุณหภูมิ 40°ซ

4.ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

เมื่อใช้วัสดุหมักและภาวะเหมาะสมในข้อ 3. โดยวัดค่า activity ของเอนไซม์ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.054 U/ml CMCase เท่ากับ 1.324 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.357 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้น $3.825x10^{10}$ เซลล์/มล. จำนวน 10 มล. โดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 37°ซ 40°ซ 43°ซ และ 45°ซ พบว่าที่อุณหภูมิ 45°ซ ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.9125 กรัม/100มล. หรือ 0.3042 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่อุณหภูมิ 43°ซ ผลิตได้ 0.5871 กรัม/100มล. หรือ 0.1957 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่อุณหภูมิ 40°ซ ผลิตได้ 0.5192 กรัม/100มล. หรือ 0.1730 กรัม/กรัมสับสเตรท และที่อุณหภูมิ 37°ซ ผลิตได้ 0.4603 กรัม/100มล. หรือ 0.1535 กรัม/กรัมสับสเตรท ดังแสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 8,9

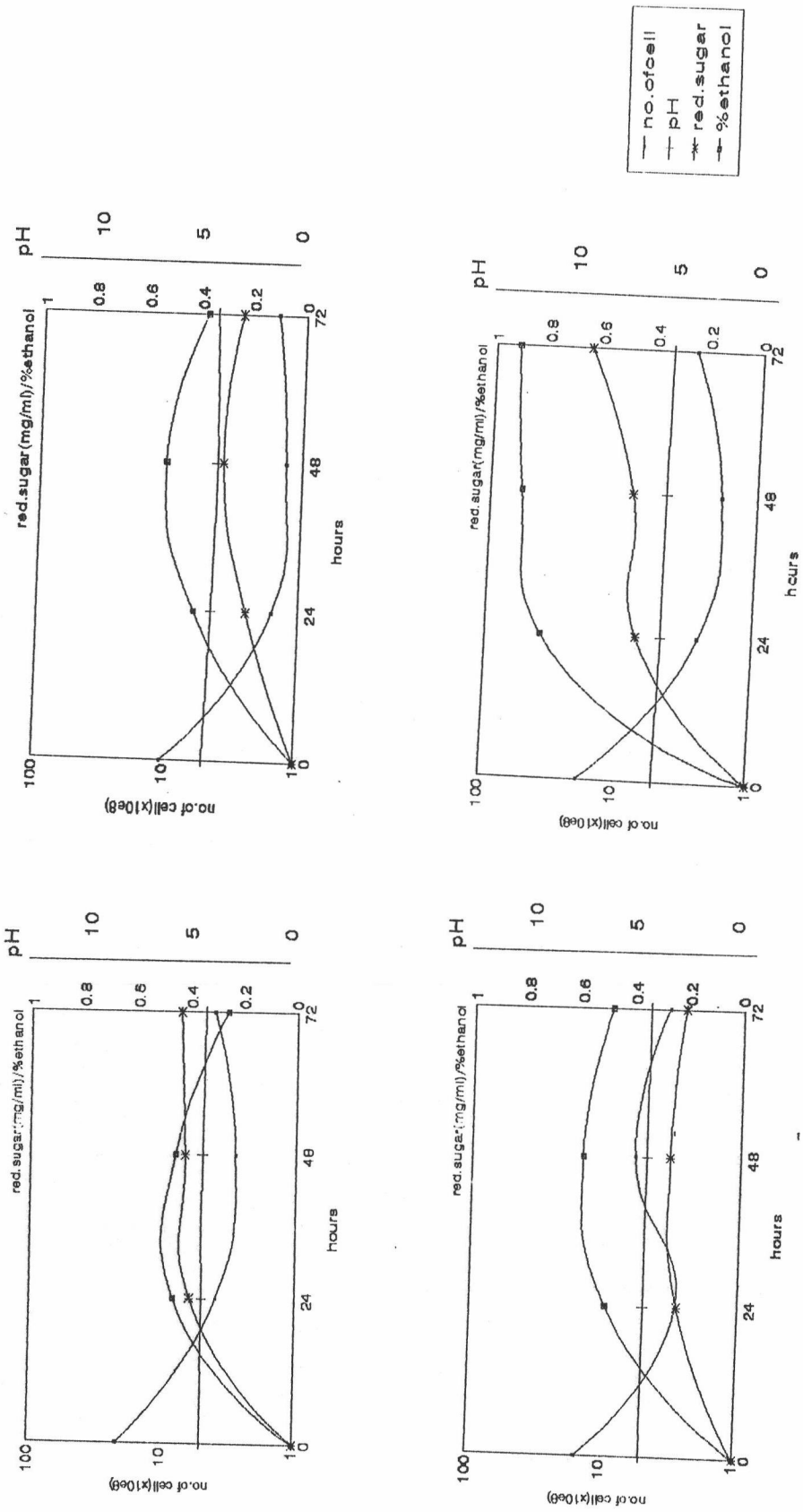
เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าอุณหภูมิทั้ง 4 ระดับ มีผลต่อการผลิตเอทธานอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่อุณหภูมิ 45°ซ ผลิตเอทธานอลได้สูงที่สุด ที่อุณหภูมิ 40°ซ และ 43°ซ รองลงมา และที่อุณหภูมิ 37°ซ ผลิตได้ต่ำที่สุด

ตารางที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ที่ pH 5.0

จำนวนเซลล์ยีสต์(เซลล์/มล.)				
อุณหภูมิ	37°ซ	40°ซ	43°ซ	45°ซ
เวลา(ชม.)				
0	$2.15x10^9$	$1.05x10^9$	$1.55x10^9$	$1.85x10^9$
24	$3.96x10^8$	$1.59x10^8$	$2.92x10^8$	$2.57x10^8$
48	$2.84x10^8$	$1.33x10^8$	$6.02x10^8$	$1.86x10^8$
72	$4.20x10^8$	$1.63x10^8$	$3.58x10^8$	$3.17x10^8$
pH				
อุณหภูมิ	37°ซ	40°ซ	43°ซ	45°ซ
เวลา(ชม.)				
0	5.0	5.0	5.0	5.0
24	5.075	4.625	5.075	4.85
48	5.1	4.475	5.0	4.825
72	4.95	4.775	4.925	4.7
น้ำตาลรีดิวซ์(มก./มล.)				
อุณหภูมิ	37°ซ	40°ซ	43°ซ	45°ซ
เวลา(ชม.)				
0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.398	0.199	0.227	0.435
48	0.419	0.302	0.262	0.467
72	0.438	0.241	0.214	0.643

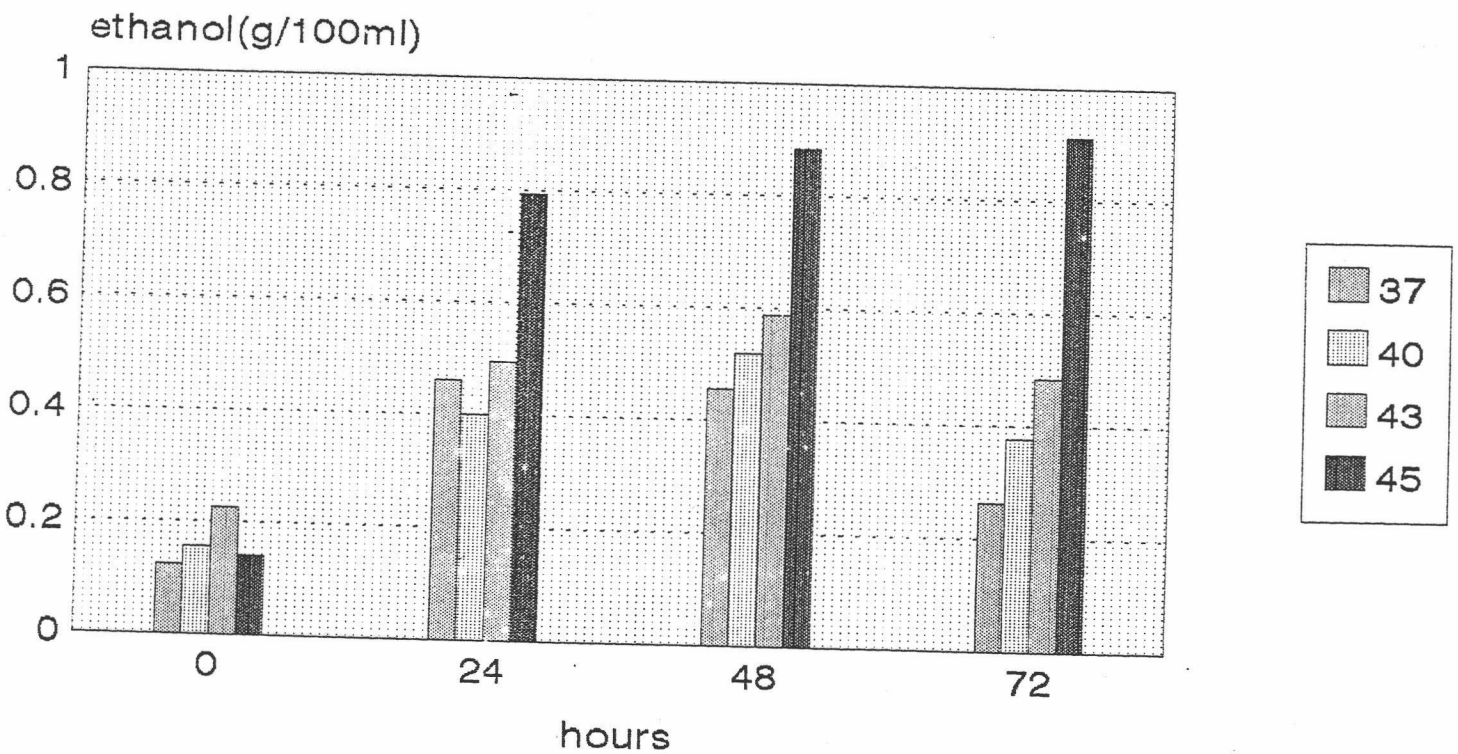
ปริมาณเอทธานอล								
อุณหภูมิ	37°ซ		40°ซ		43°ซ		45°ซ	
เวลา(ชม.)	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.4603	0.1535	0.4003	0.1334	0.4946	0.1648	0.7934	0.2645
48	0.4550	0.1516	0.5192	0.1730	0.5871	0.1957	0.8838	0.2946
72	0.2624	0.087	0.3767	0.1255	0.4843	0.1614	0.9125	0.3042

Y p/s คือ ปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 8 แสดงการหมักเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยใช้จุลทรงมีแตกต่างกัน ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า เติมยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน10% (v/v) ที่ pH 5.0

(1) 37°ซ (2) 40°ซ (3) 43°ซ (4) 45°ซ



รูปที่ 9 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ใช้ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า ยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10% (v/v) pH 5.0

5.ผลการศึกษาการเติมอาหารเสริม(supplement)

เมื่อใช้วัสดุหมักและภาวะเหมาะสมในข้อ 4. โดยวัดค่า activity ของเอนไซม์ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.122 U/ml CMCase เท่ากับ 1.34 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.662 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้น $3.92x10^{10}$ เซลล์/มล. จำนวน 10 มล.โดยเติมอาหารเสริม 2 ชนิดได้แก่ casien peptone และ soy peptone ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.025% 0.05% 0.075% และ 0.1% พบว่า การเติม casein peptone ที่ความเข้มข้น 0.05% ผลิตเอทธานอลได้สูงสุดคือ 1.267 กรัม/100มล.หรือ 0.4222 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่ความเข้มข้น 0.025% 0.075% และ 0.1% ผลิตเอทธานอลได้ใกล้เคียงกับวัสดุหมักที่ไม่มีการเติมอาหารเสริม ดังแสดงในตารางที่ 5 และรูปที่ 10,11 และการเติม soy peptone ที่ระดับ 0.075% ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.9301 กรัม/100 มล. หรือ 0.310 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่ระดับความเข้มข้น 0.025% 0.05% และ 0.1% ผลิตเอทธานอลได้ใกล้เคียงกับวัสดุหมักที่ไม่มีการเติมอาหารเสริม ดังแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 12,13

เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า อาหารเสริมทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีผลต่อการผลิตเอทธานอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่การเติม casein peptone ความเข้มข้น 0.05% สามารถให้ผลผลิตเอทธานอลได้สูงสุด และการเติม soy peptone ความเข้มข้น 0.075% ให้ผลผลิตรองลงมา ซึ่งพบว่าสามารถให้ผลผลิตเอทธานอลสูงกว่าวัสดุหมักที่ไม่มีการเติมอาหารเสริม 1.76 เท่า และ 1.29 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นอื่นให้ผลผลิตได้ใกล้เคียงกับวัสดุหมักที่ไม่มีการเติมอาหารเสริม

ตารางที่ 5 ผลของ Casien peptone ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ที่ อุณหภูมิ 45°ซ pH 5.0

จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์/มล.)					
ความเข้มข้น	0%	0.025%	0.05%	0.075%	0.1%
เวลา (ชม).					
0	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*
24	$1.25x10^{8}$	$1.23x10^{8}$	$1.29x10^{8}$	$2.18x10^{8}$	$2.31x10^{8}$
48	$1.57x10^{8}$	$1.38x10^{8}$	$1.62x10^{8}$	$1.61x10^{8}$	$2.36x10^{8}$
72	$1.62x10^{8}$	$1.416x10^{8}$	$1.69x10^{8}$	$1.54x10^{8}$	$2.33x10^{8}$

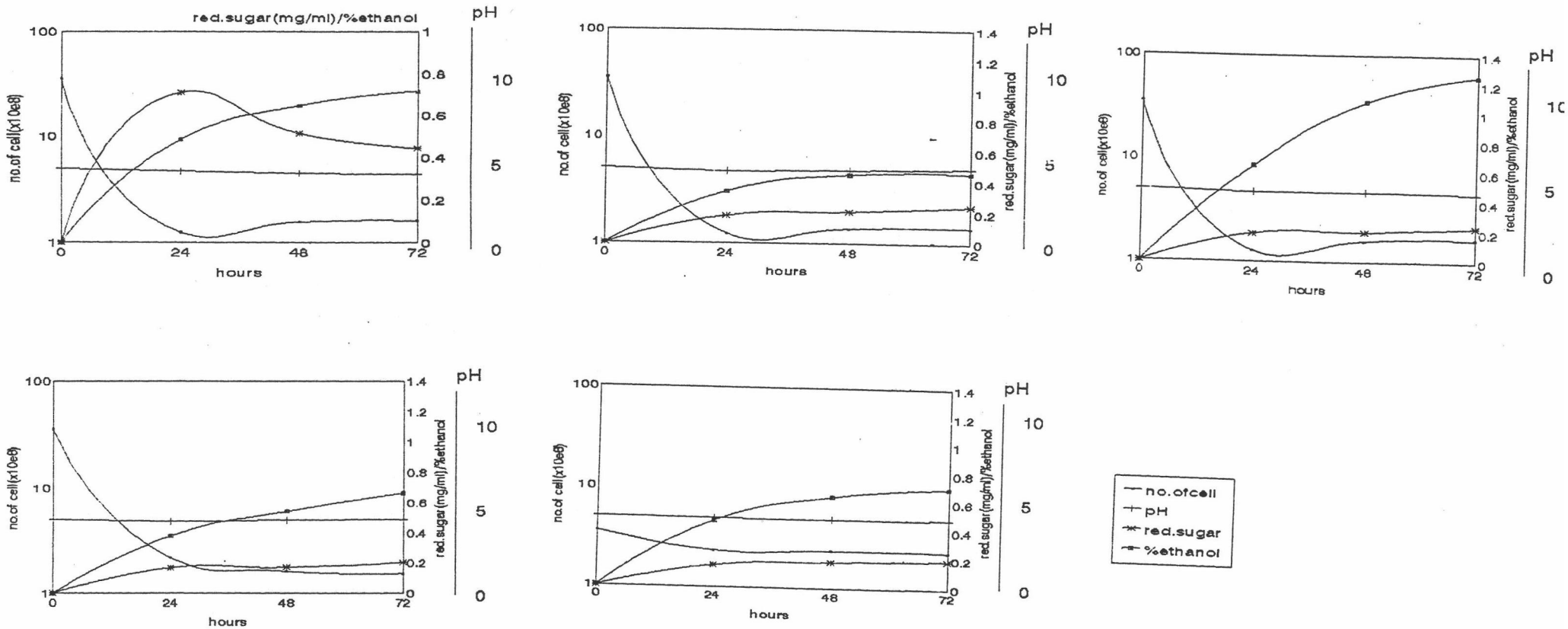
pH					
ความเข้มข้น	0%	0.025%	0.05%	0.075%	0.1%
เวลา (ชม.)					
0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
24	4.7	4.725	4.75	4.825	4.925
48	4.5	4.825	4.75	4.925	4.825
72	4.4	5.0	4.625	5.0	4.9

น้ำตาลรีดิวซ์ (มก. / มล.)					
ความเข้มข้น	0%	0.025%	0.05%	0.075%	0.1%
เวลา (ชม.)					
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.713	0.1805	0.193	0.170	0.1522
48	0.515	0.209	0.207	0.1725	0.1822
72	0.446	0.2435	0.237	0.2052	0.195

ปริมาณเอทธานอล										
ความเข้มข้น	0%		0.025%		0.05%		0.075%		0.1%	
เวลา (ชม.)	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.4866	0.1622	0.3375	0.1125	0.4514	0.1504	0.3307	0.1102	0.3645	0.1215
48	0.6483	0.2161	0.4495	0.1498	0.7837	0.2612	0.5437	0.1812	0.5385	0.1795
72	0.7179	0.2393	0.4595	0.1531	1.267	0.4222	0.6659	0.2219	0.7029	0.2343

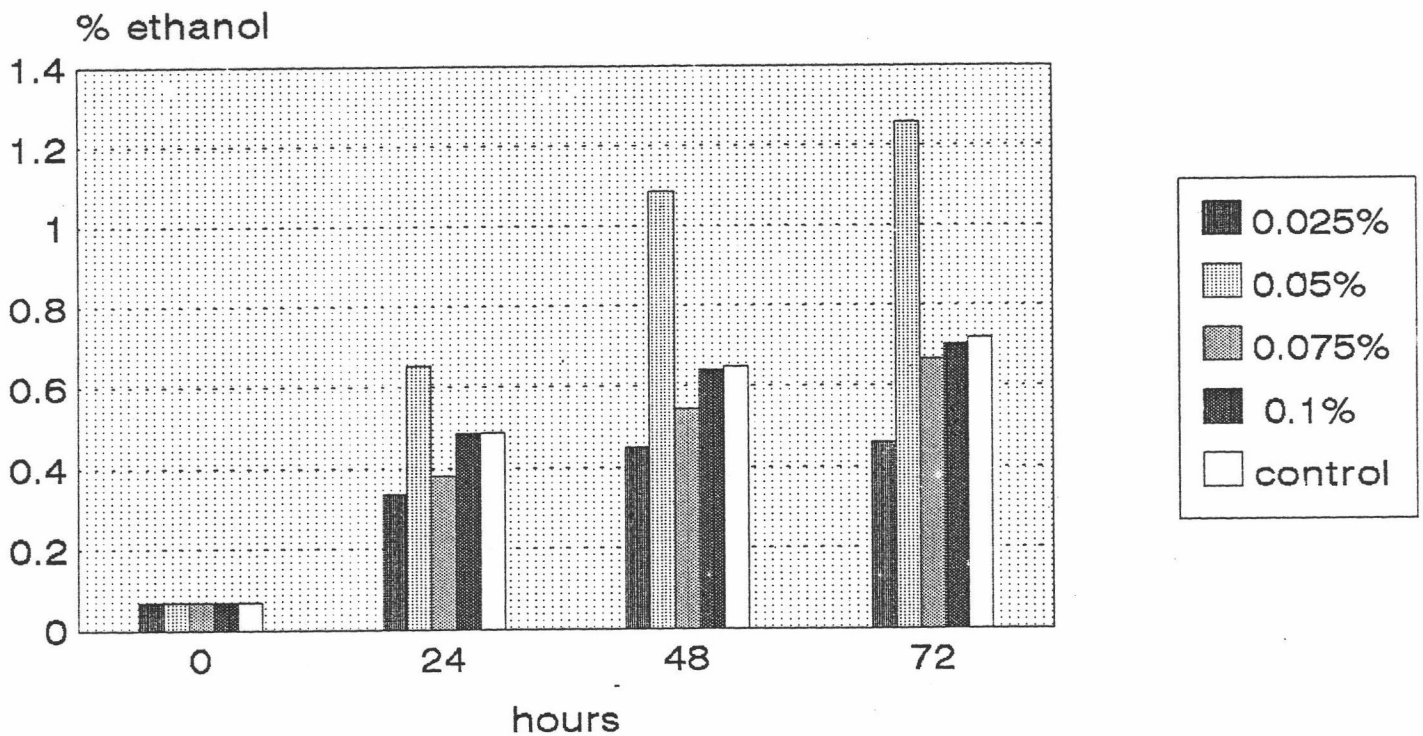
* คือจำนวนเซลล์ยีสต์ที่คำนวณจาก inoculum ที่เติมลงไปจำนวน10% (v/v)

Y p/s คือปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 10 แสดงการหมักเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยการเติม casein peptone ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นอาหารเสริม ใช้ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า เติมยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน10% (v/v) ที่อุณหภูมิ 45°ซ pH 5.0

(1) 0% (2) 0.025% (3) 0.05% (4) 0.075% (5) 0.1%



รูปที่ 11 ผลของการเติม casein peptone ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ใช้ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า ยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10% (v/v) อุณหภูมิ 45°ซ pH 5.0

ตารางที่ 6 ผลของ Soy Peptone ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ที่ อุณหภูมิ 45°ซ pH 5.0

จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์/มล.)					
ความเข้มข้น	0%	0.025%	0.05%	0.075%	0.1%
เวลา (ชม).					
0	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*	$3.58x10^{9}$*
24	$1.25x10^{8}$	$1.28x10^{8}$	$1.23x10^{8}$	$1.27x10^{8}$	$1.59x10^{8}$
48	$1.57x10^{8}$	$1.57x10^{8}$	$1.48x10^{8}$	$1.59x10^{8}$	$1.93x10^{8}$
72	$1.62x10^{8}$	$2.78x10^{8}$	$2.55x10^{8}$	$1.86x10^{8}$	$1.9x10^{8}$

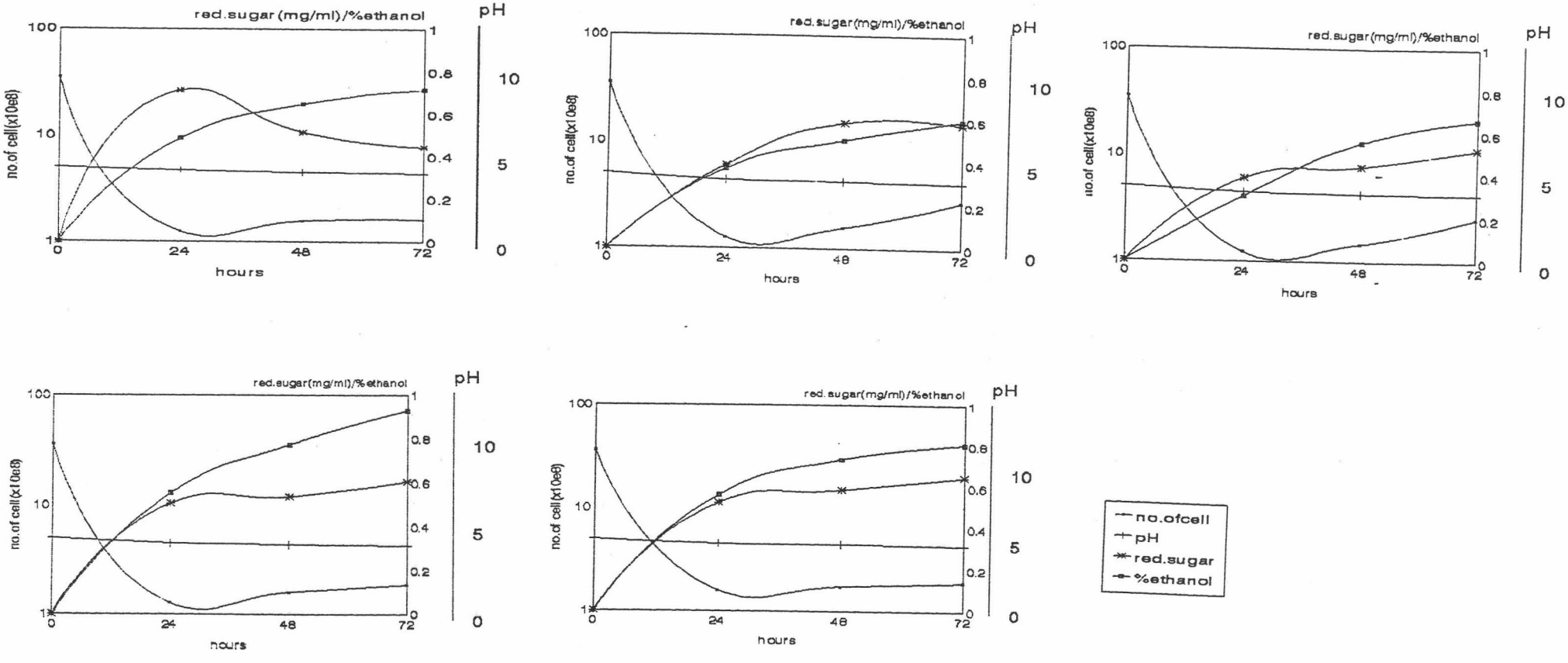
pH					
ความเข้มข้น	0%	0.025%	0.05%	0.075%	0.1%
เวลา (ชม.)					
0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
24	4.7	4.375	4.475	4.525	4.53
48	4.5	4.25	4.325	4.375	4.47
72	4.4	4.125	4.23	4.275	4.325

น้ำตาลรีดิวซ์ (มก. / มล.)					
ความเข้มข้น	0%	0.025%	0.05%	0.075%	0.1%
เวลา (ชม.)					
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.713	0.392	0.392	0.507	0.576
48	0.515	0.591	0.447	0.538	0.588
72	0.446	0.584	0.527	0.605	0.65

ปริมาณเอทธานอล										
ความเข้มข้น	0%		0.025%		0.05%		0.075%		0.1%	
เวลา (ชม.)	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.4866	0.1622	0.2740	0.091	0.3060	0.1020	0.3538	0.1179	0.3638	0.1212
48	0.6483	0.2161	0.4093	0.136	0.4589	0.1529	0.6746	0.2248	0.6348	0.2116
72	0.7179	0.2393	0.6033	0.201	0.6638	0.2212	0.9301	0.310	0.8081	0.2693

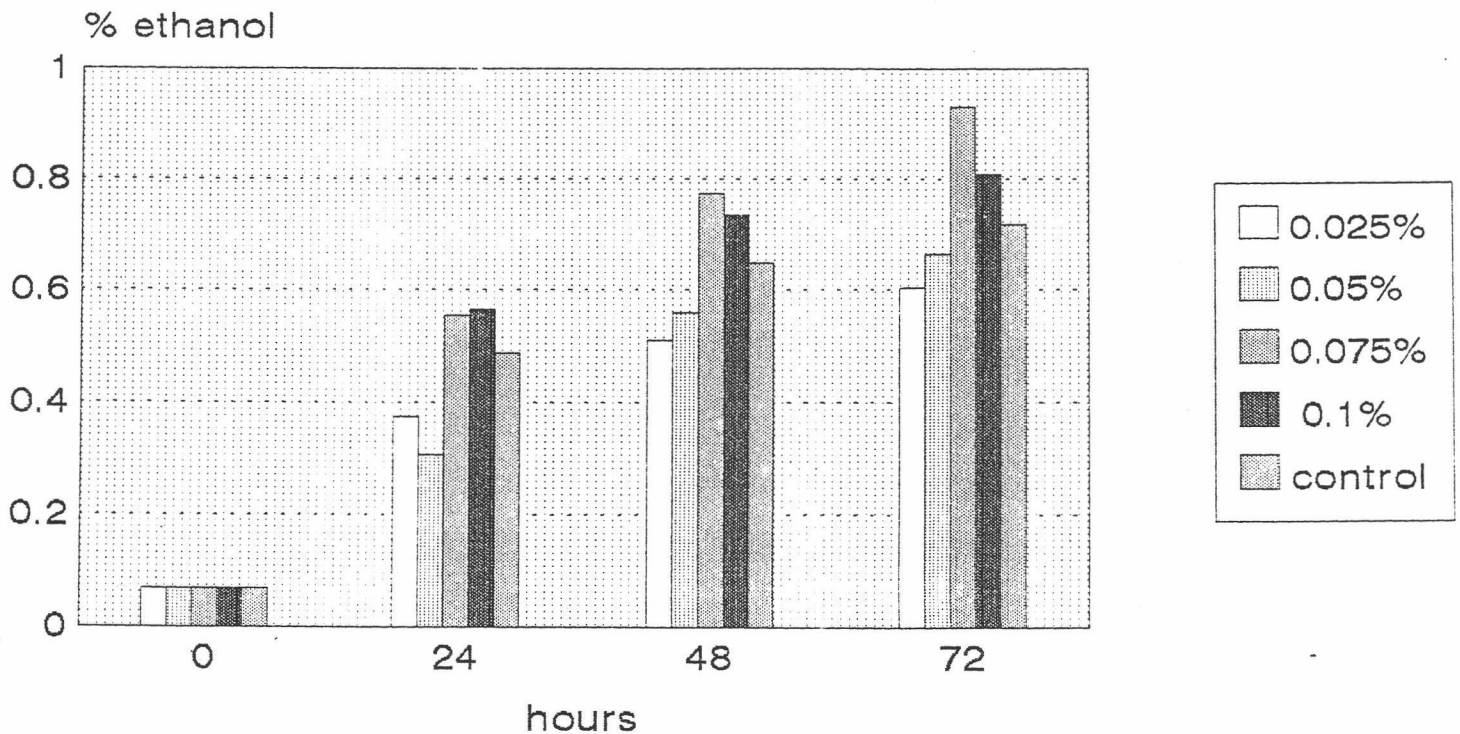
* คือ จำนวนเซลล์ยีสต์ที่คำนวณจาก inoculum ที่เติมลงไปจำนวน10 % (v/v)

Y p/s คือปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 12 แสดงการหมักเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยการเติม soy peptone ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นอาหารเสริม ใช้ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า เติมยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10% (v/v) ที่อุณหภูมิ 45°ซ pH 5.0

(1) 0% (2) 0.025% (3) 0.05% (4) 0.075% (5) 0.1%



รูปที่ 13 ผลของการเติม soy peptone ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง ใช้ปริมาณเอนไซม์ 25 เท่า ยีสต์ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10% (v/v) อุณหภูมิ 45°ซ pH 5.0

<u>ผลการผลิตเอทธานอลจากวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยกระบวนการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่องแบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกัน</u>

1.ผลการศึกษาอายุเริ่มต้นของเชื้อรา *Acrophialophora* sp.

การใช้เชื้อราที่มีอายุแตกต่างกัน คือ 6 วัน 9 วัน และ 12 วันในการผลิตเอทธานอลแบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกัน โดยวัด activity ของเอนไซม์ที่มีอายุ 6 วัน ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.015 U/ml CMCase เท่ากับ 0.055 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.607 มก./มล. วัด activity ของเอนไซม์ที่มีอายุ 9 วัน ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.017 U/ml CMCase เท่ากับ 0.074 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.652 มก./มล. วัด activity ของเอนไซม์ที่อายุ 12 วัน ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.043 U/ml CMCase เท่ากับ 0.370 U/ml และ ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.829 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้น 3.85×10^8 เซลล์/มล.จำนวน 10 มล.โดยมีเส้นใยป่านศรนารายณ์เป็นวัสดุหมัก พบว่า เชื้อราที่มีอายุ 6 วัน ผลิตเอทธานอลได้ 0.3750 กรัม/100มล. เชื้อราที่มีอายุ 9 วัน ผลิตเอทธานอลได้ 0.3319 กรัม/100มล. และเชื้อราที่มีอายุ 12 วัน ผลิตเอทธานอลได้ 0.3621 กรัม/100มล. ดังแสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 14,15

เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า อายุเริ่มต้นของเชื้อราให้ผลผลิตเอทธานอลไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

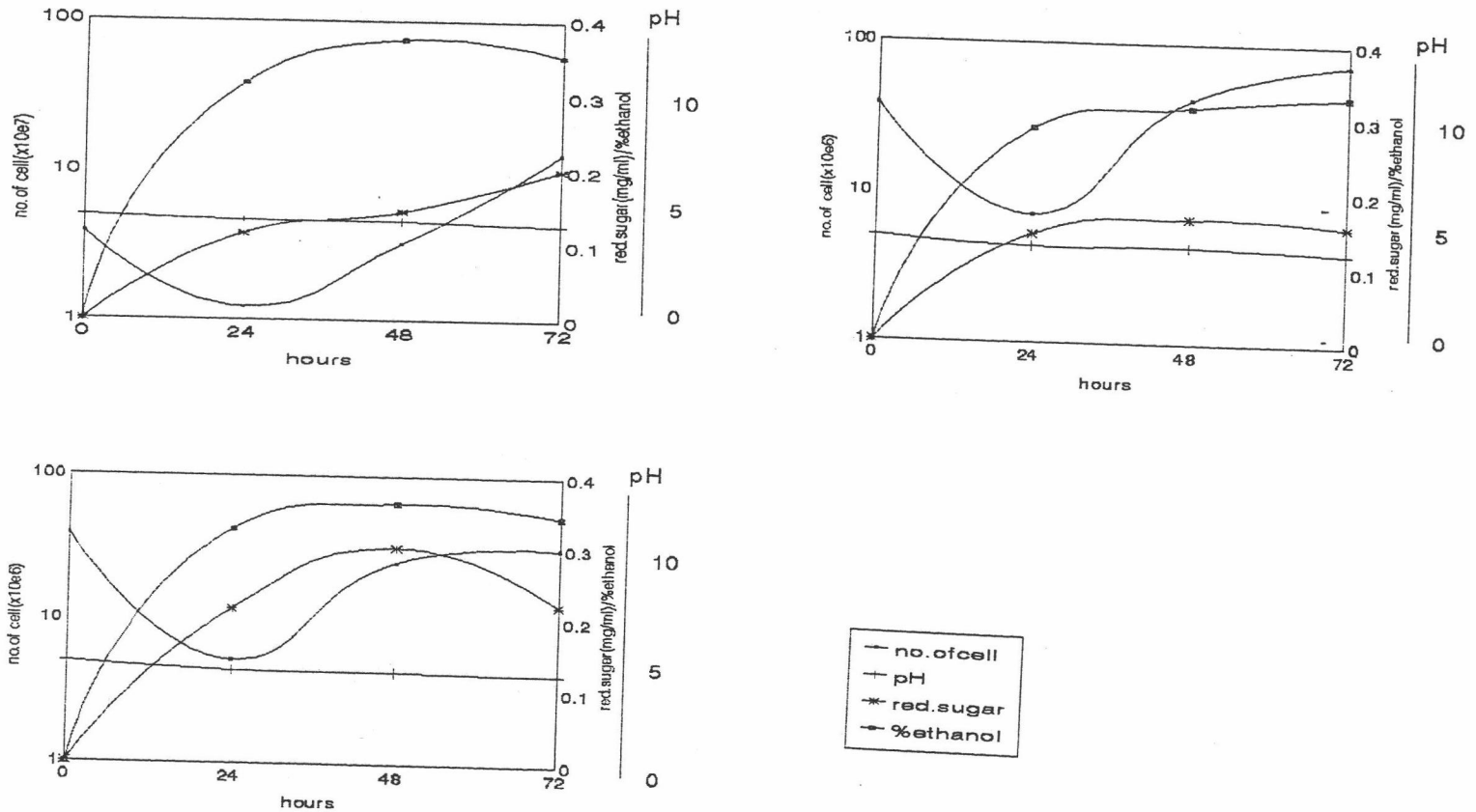
ตารางที่ 7 ผลของอายุเชื้อราเริ่มต้นต่อการผลิตเอทธานอลโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันจากเส้นใยป่านศรนารายณ์ ที่ อุณหภูมิ 40°ซ

จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์/ มล.)				pH		
อายุเชื้อรา	6 วัน	9 วัน	12 วัน	6 วัน	9 วัน	12 วัน
เวลา(ชม.)						
0	$3.85x10^{7}$*	$3.85x10^{7}$*	$3.85x10^{7}$*	5.0	5.0	5.0
24	$5.23x10^{6}$	$7.16x10^{6}$	$5.25x10^{6}$	4.67	4.36	4.43
48	$3.28x10^{7}$	$4.32x10^{7}$	$2.52x10^{7}$	4.6	4.43	4.36
72	$1.31x10^{8}$	$7.47x10^{7}$	$3.18x10^{7}$	4.33	4.06	4.23

น้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.)				ปริมาณเอทธานอล					
อายุเชื้อรา	6 วัน	9 วัน	12 วัน	6 วัน		9 วัน		12 วัน	
เวลา (ชม.)				ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.116	0.144	0.215	0.3178	0.106	0.286	0.095	0.325	0.108
48	0.146	0.167	0.301	0.3750	0.125	0.317	0.105	0.362	0.121
72	0.202	0.158	0.222	0.3536	0.117	0.332	0.110	0.344	0.115

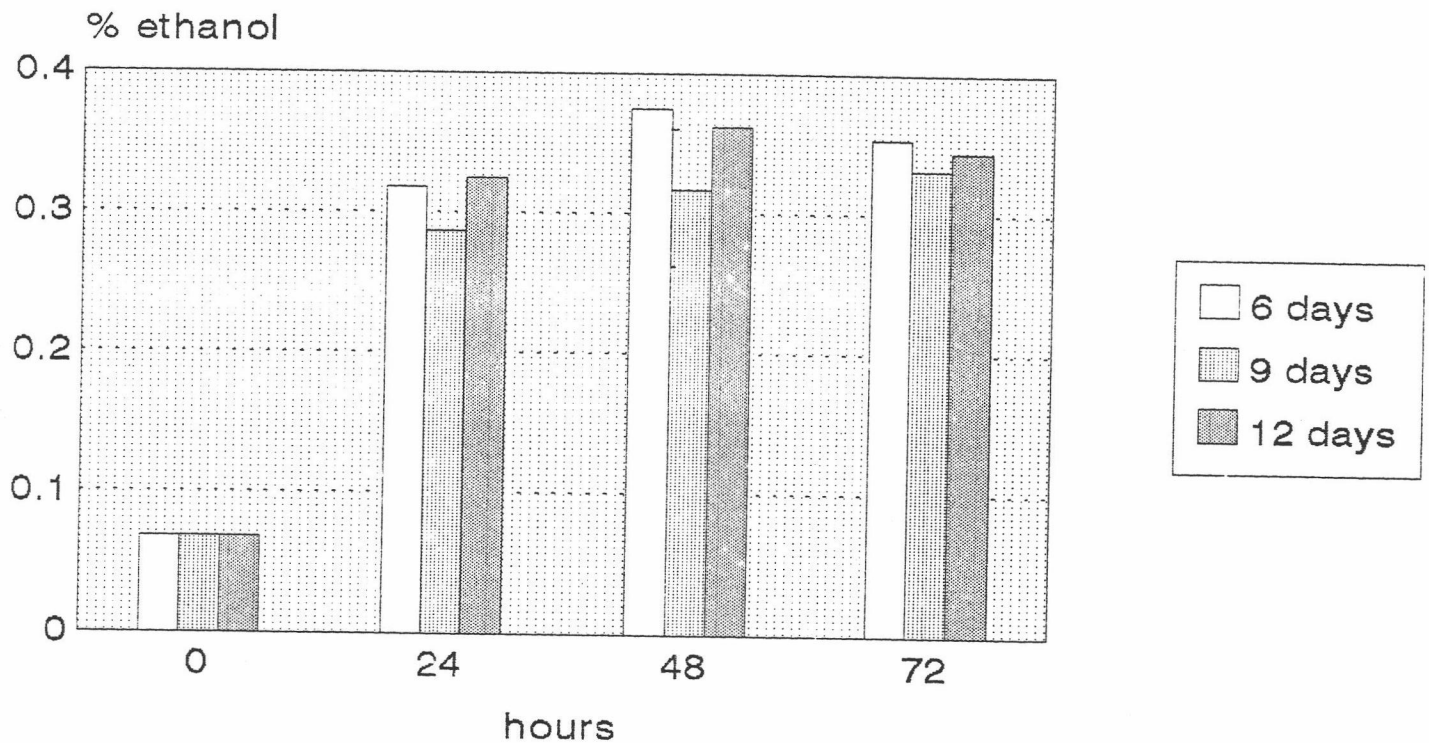
* คือ จำนวนเซลล์ยีสต์ที่คำนวณจาก inoculum ที่เติมลงไปจำนวน 10% (v/v)

Y p/s คือ ปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 14 แสดงการหมักเอทธานอลแบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้เชื้อราที่มีอายุแตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 40°ซ

(1) 6 วัน (2) 9 วัน (3) 12 วัน



รูปที่ 15 ผลของอายุเชื้อราเริ่มต้นต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์แบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันระหว่างเชื้อรา *Acrophialophora* sp. และยีสต์ *Candida brassicae* ที่อุณหภูมิ 40°ซ

2.ผลการศึกษาความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสม

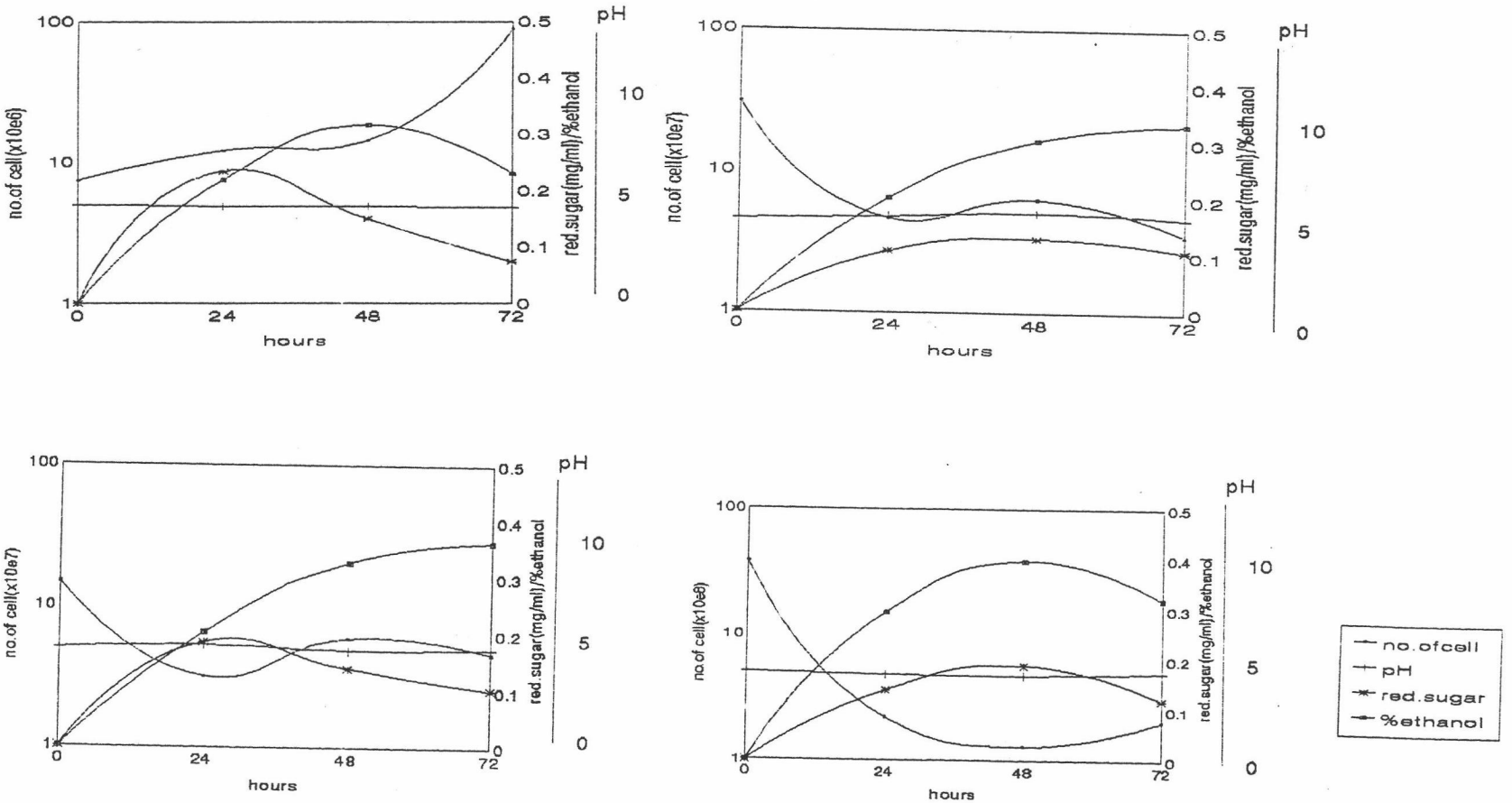
เมื่อใช้วัสดุหมักและภาวะเหมาะสมในข้อ 1.โดยวัดค่า activity ของเอนไซม์ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.015 U/ml CMCase เท่ากับ 0.092 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.642 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10^7 10^8 10^9 10^{10} เซลล์/มล. จำนวน 10 มล. โดยสามารถนับจำนวนเซลล์ยีสต์แต่ละความเข้มข้นได้ดังนี้ 7.952×10^7 เซลล์/มล. 3.05×10^8 เซลล์/มล. 1.47×10^9 เซลล์/มล. และ 3.85×10^{10} เซลล์/มล. พบว่ายีสต์ความเข้มข้น 10^7 เซลล์/มล. ผลิตเอทธานอลได้ 0.3155 กรัม/100มล. ความเข้มข้น 10^8 เซลล์/มล. ผลิตได้ 0.3036 กรัม/100มล. ความเข้มข้น 10^9 เซลล์/มล. ผลิตได้ 0.3639 กรัม/100มล.และความเข้มข้น 10^{10} เซลล์/มล. ผลิตเอทธานอลได้สูงสุดคือ 0.3977 กรัม/100มล. หรือ 0.1325 กรัม/กรัมสับสเตรท ดังแสดงในตารางที่ 8 และรูปที่ 16,17

เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้น มีผลต่อการผลิตเอทธานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 8 ผลของความเข้มข้นยีสต์ต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันระหว่าง เชื้อรา *Acrophialophora* sp. ที่มีอายุ 6 วัน และยีสต์ *Candida brassicae*

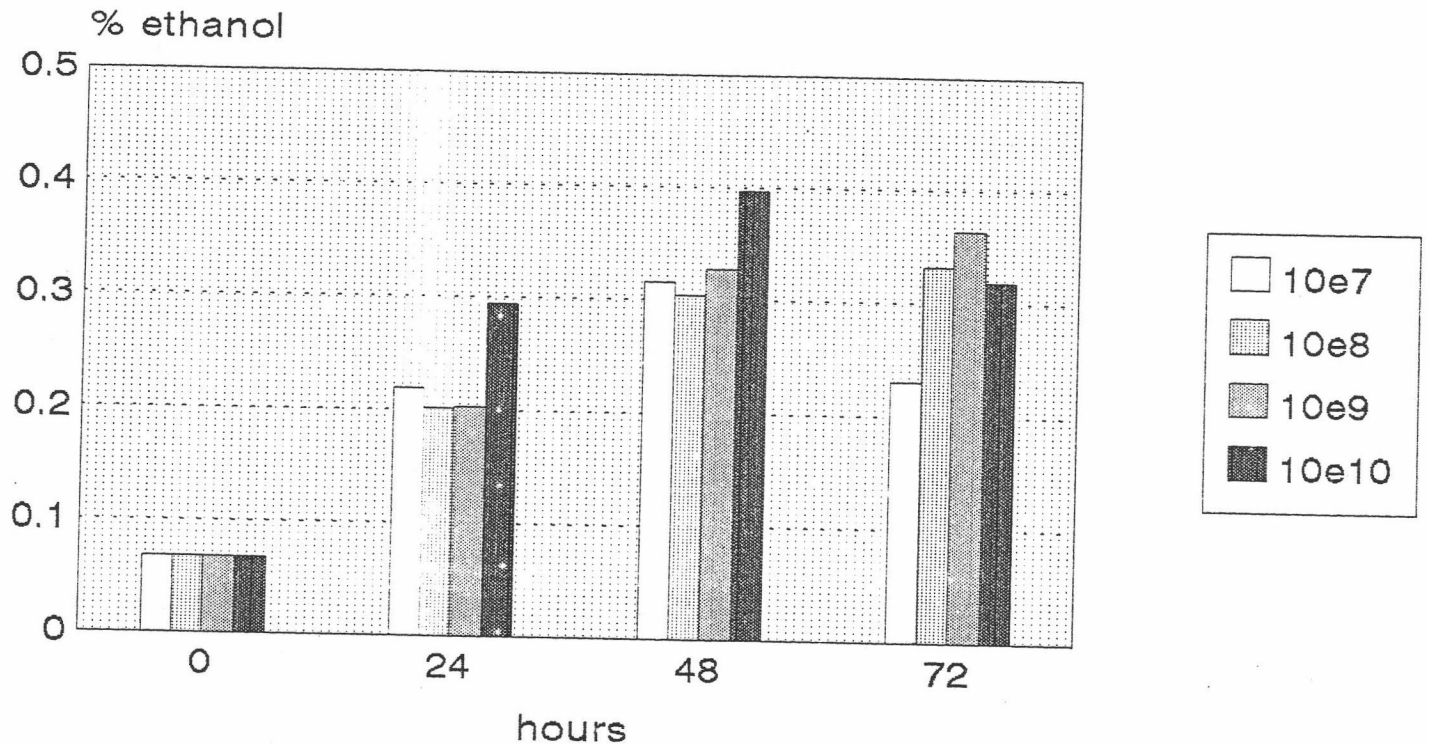
จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์/ มล.)				
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล.)	10^7	10^8	10^9	10^{10}
เวลา(ชม.)				
0	$7.5x10^6$	$3.05x10^7$	$1.47x10^8$	$3.85x10^9$
24	$1.21x10^7$	$4.62x10^6$	$3.19x10^7$	$2.21x10^8$
48	$1.44x10^7$	$6.3x10^6$	$5.93x10^7$	$1.3x10^8$
72	$8.92x10^7$	$3.93x10^6$	$4.63x10^7$	$2.06x10^8$
pH				
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล.)	10^7	10^8	10^9	10^{10}
เวลา(ชม.)				
0	5.0	4.52	5.0	5.0
24	4.875	4.775	5.27	4.8
48	4.875	5.06	4.87	4.77
72	4.775	4.65	5.0	5.0
น้ำตาลรีดิวซ์ (มก./ มล.)				
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล)	10^7	10^8	10^9	10^{10}
เวลา(ชม.)				
0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.2342	0.131	0.186	0.140
48	0.1495	0.108	0.14	0.189
72	0.074	0.023	0.103	0.121
ปริมาณเอทธานอล				
ความเข้มข้นยีสต์(เซลล์/มล.)	10^7	10^8	10^9	10^{10}
เวลา(ชม.)	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s	ก./100มล. Y p/s
0	0.0 0.0	0.0 0.0	0.0 0.0	0.0 0.0
24	0.2189 0.073	0.2017 0.067	0.2032 0.068	0.2947 0.0982
48	0.3155 0.1052	0.3036 0.1012	0.3274 0.1019	0.3977 0.1325
72	0.2303 0.077	0.3320 0.1107	0.3639 0.1213	0.3193 0.1064

Y p/s คือ ปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate



รูปที่ 16 แสดงการหมักเอทธานอลแบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้เชื้อรา *Acrophialophora* sp. ที่มีอายุ 6 วัน และเติมยีสต์ *Candida brassicae* ที่ความเข้มข้นยีสต์แตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 40°ซ

(1) 10^7 (2) 10^8 (3) 10^9 (4) 10^{10}



รูปที่ 17 ผลของความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์แบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกัน โดยใช้เชื้อรา *Acrophialophira* sp. ที่มีอายุ 6 วัน ที่อุณหภูมิ 40°ซ

3.ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

เมื่อใช้วัสดุหมักและภาวะเหมาะสมในข้อ 2. โดยวัดค่า activity ของเอนไซม์ได้ค่า FPA เท่ากับ 0.016 U/ml CMCase เท่ากับ 0.046 U/ml และปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.680 มก./มล. และเติมยีสต์ความเข้มข้น $3.67x10^{10}$ เซลล์/มล. จำนวน 10 มล. โดยมีเส้นใยป่านศรนารายณ์เป็นวัสดุหมัก และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 37°ซ 40°ซ 43°ซ และ 45°ซ พบว่าที่อุณหภูมิ 45°ซ ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.7822 กรัม/100มล. หรือ 0.2607 กรัม/กรัมสับสเตรท ที่อุณหภูมิ 37°ซ ผลิตได้ 0.533 กรัม/100มล. ที่อุณหภูมิ 40°ซ ผลิตได้ 0.3961 กรัม/100มล. และที่อุณหภูมิ 43°ซ ผลิตได้ 0.3635 กรัม/100มล. ดังแสดงในตารางที่ 8 และรูปที่ 16,17

เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าอุณหภูมิในการหมักมีผลต่อการผลิตเอทธานอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่อุณหภูมิที่ 45°ซ จะผลิตเอทธานอลได้สูงสุด อุณหภูมิที่ 37°ซ ผลิตได้รองลงมา และอุณหภูมิที่ 40°ซ และ 43°ซ ผลิตได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

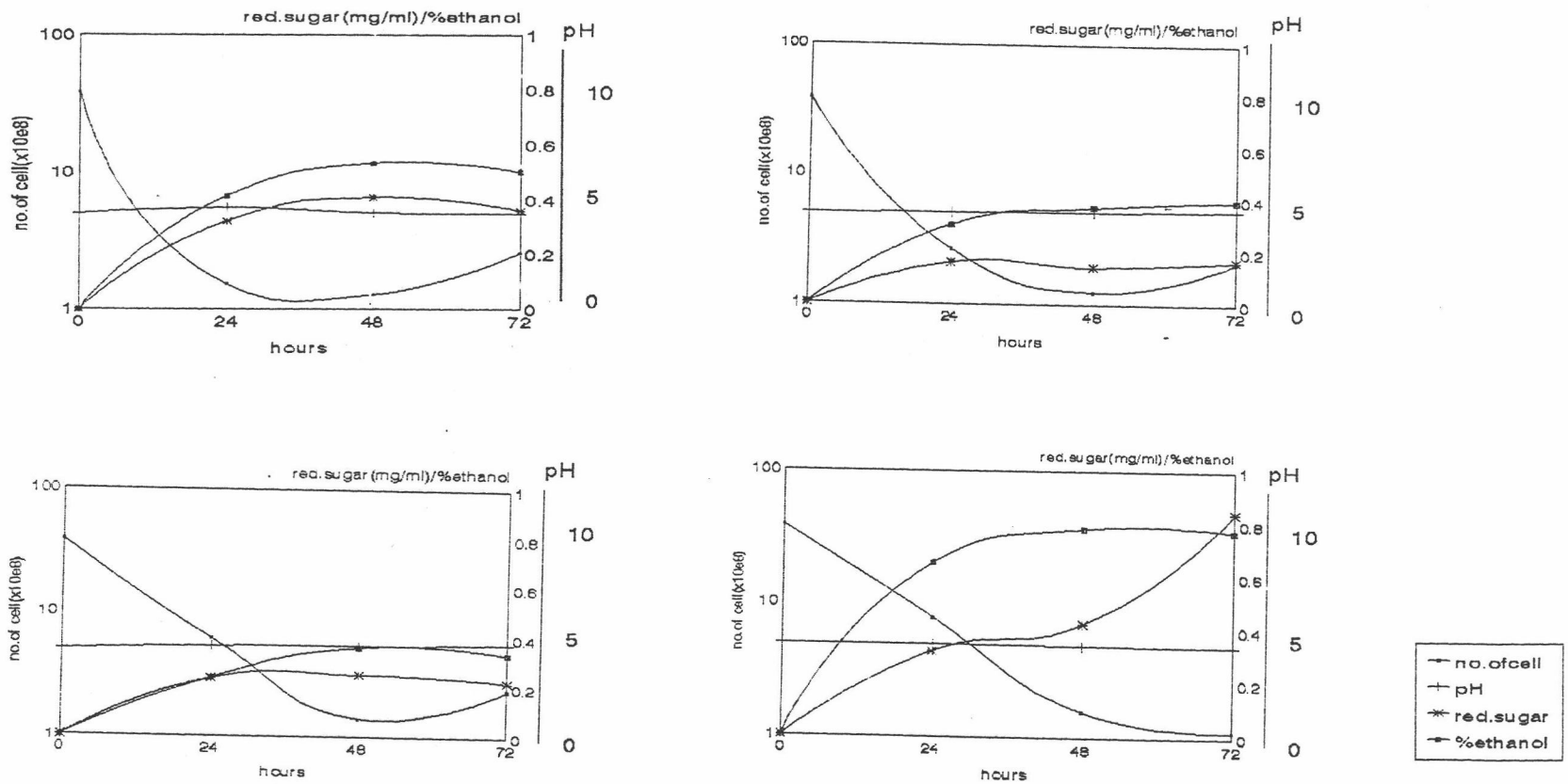
ตารางที่ 9 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันระหว่างเชื้อรา *Acrophialophora* sp. ที่มีอายุ 6 วัน และยีสต์ *Candida brassicae* ความเข้มข้น $3x10^{10}$ เซลล์/มล. ที่ pH 5.0

จำนวนเซลล์ยีสต์(เซลล์/มล.)				
อุณหภูมิ	37°ซ	40°ซ	43°ซ	45°ซ
เวลา(ชม.)				
0	$3.85x10^{9}$*	$3.85x10^{9}$*	$3.85x10^{9}$*	$3.85x10^{9}$*
24	$1.53x10^{8}$	$2.67x10^{8}$	$6.25x10^{8}$	$7.87x10^{8}$
48	$1.28x10^{8}$	$1.24x10^{8}$	$1.41x10^{8}$	$1.56x10^{8}$
72	$2.60x10^{8}$	$2.09x10^{8}$	$2.39x10^{8}$	$1.11x10^{8}$
pH				
อุณหภูมิ	37°ซ	40°ซ	43°ซ	45°ซ
เวลา(ชม.)				
0	5.0	5.0	5.0	5.0
24	5.525	5.1	5.425	4.975
48	5.1	5.15	5.475	4.85
72	5.0	5.275	5.7	4.80
น้ำตาลรีดิวซ์(มก./มล.)				
อุณหภูมิ	37°ซ	40°ซ	43°ซ	45°ซ
เวลา(ชม.)				
0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.323	0.161	0.236	0.321
48	0.409	0.144	0.252	0.425
72	0.361	0.168	0.224	0.842

ปริมาณเอทธานอล								
อุณหภูมิ	37°ซ		40°ซ		43°ซ		45°ซ	
เวลา(ชม.)	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s	ก./100มล.	Y p/s
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.4138	0.1379	0.3062	0.1021	0.2384	0.079	0.6555	0.2185
48	0.5333	0.1776	0.3733	0.1244	0.3635	0.1212	0.7822	0.2607
72	0.501	0.167	0.3968	0.1322	0.3364	0.1121	0.7722	0.2574

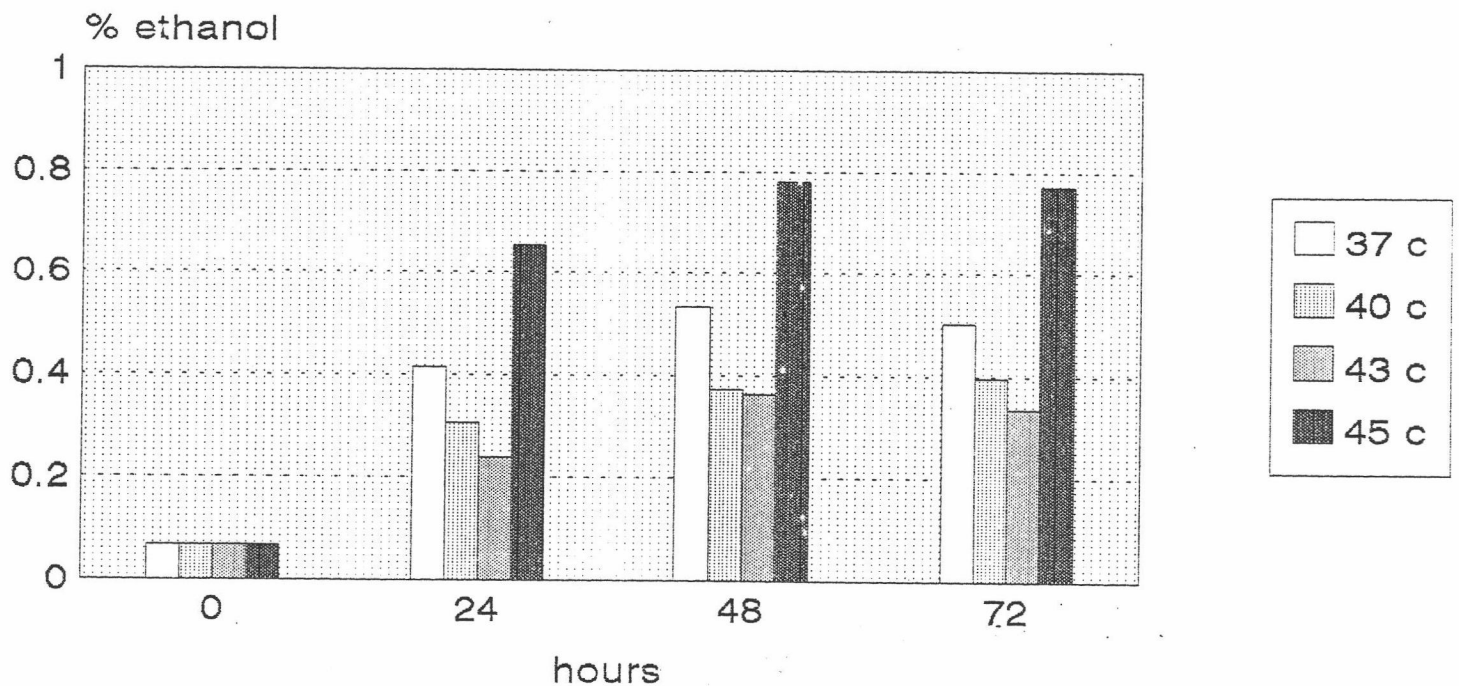
* คือ จำนวนเซลล์ยีสต์ที่คำนวณจาก inoculum ที่เติมลงไปจำนวน 10% (v/v)

Y p/s คือ ปริมาณเอทธานอลที่คำนวณเป็น g / g substrate

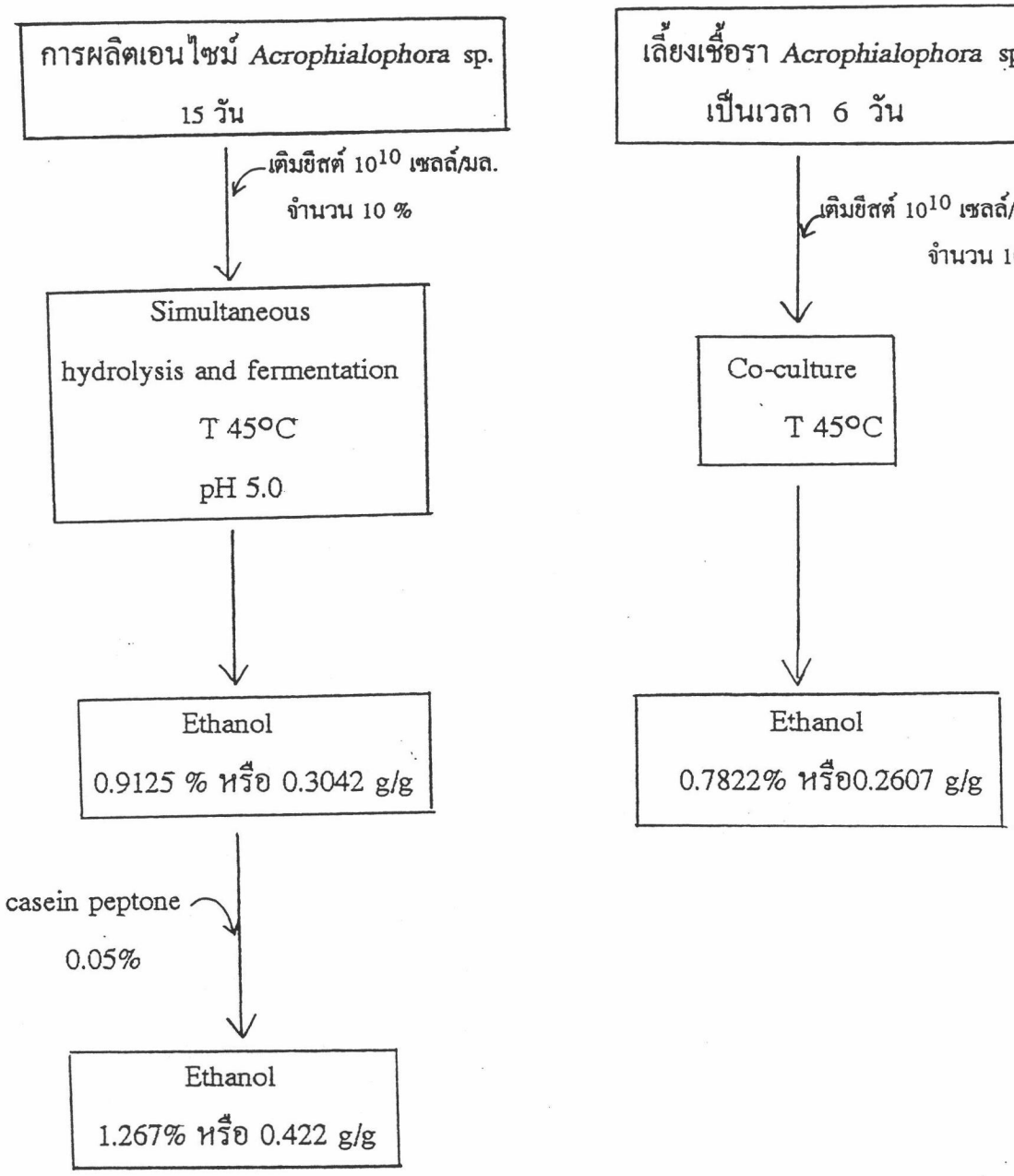


รูปที่ 18 แสดงการหมักเอทธานอลแบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้เชื้อรา *Acrophialophora* sp. ที่มีอายุ 6 วัน และเติมยีสต์ *Candida brassicae* ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10 % (v/v) โดยใช้อุณหภูมิในการหมักแตกต่างกัน

(1) 37°ซ (2) 40°ซ (3) 43°ซ (4) 45°ซ



รูปที่ 19 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทธานอลจากเส้นใยป่านศรนารายณ์แบบใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกันโดยใช้เชื้อรา *Acrophialophora* sp. ที่มีอายุ 6 วัน และเติมยีสต์ *Candida brassicae* ความเข้มข้น $3x10^{10}$ cell/ml. จำนวน 10% (v/v)



ก. ข.

รูปที่ 20 แผนภูมิการผลิตเอทธานอลจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส

ก. กระบวนการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่อง (SHF)

ข. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกัน (Co-culture)