

การผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำโดยเชื้อ *Candida shehatae* TISTR 5843
ด้วยกระบวนการหมักแบบกะและกึ่งกะ*

Ethanol Production from Aquatic Weed Plants Using *Candida shehatae* TISTR 5843
by Batch and Fed-Batch Fermentation

สุจิตรา รวดหมวน**

ประภา โഴ๊ะสลาม***

รัชพล พะวงศรีรัตน์****

บทคัดย่อ

วัชพืชน้ำ 3 ชนิด ได้แก่ ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) จอกน้ำ (*Pistia stratiotes* L.) และธูปฤาษี (*Typha angustifolia* L.) ถูกใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843 โดยใช้กระบวนการหมักแบบกะและกึ่งกะ พบว่าที่สภาวะการหมักเอทานอล โดยปรับ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 เขย่าที่ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น และความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่สภาวะดังกล่าว พบว่าการหมักแบบกะผักตบชวาให้ความเข้มข้นของเอทานอล (P) ผลได้ของการผลิต (Y_{ps}) และอัตราการผลิตเอทานอล (Q_p) สูงสุดเท่ากับ 9.28 กรัมต่อลิตร 0.46 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ และ 0.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าผลของวัชพืชน้ำอื่นที่เหลือ ($p \leq 0.05$) ส่วนการหมักแบบกึ่งกะ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล ที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ด้วยการเติมอาหารจำนวน 2 ครั้ง (สัดส่วน 1:0.6:0.4 โดยปริมาตร) ให้ผลผลิตสูงสุดได้ ค่า P Y_{ps} และ Q_p เท่ากับ 13.54 กรัมต่อลิตร 0.48 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ และ 0.56 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการหมักแบบกึ่งกะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำในแง่ของความเข้มข้นของเอทานอล และประสิทธิภาพการหมักให้สูงขึ้น

* บทความนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้ผักตบชวาเพื่อการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์ร่วมกับถังหมักชีวภาพแบบตั้ง

** นิสิตระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

*** อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม หลักสูตรวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

**** อาจารย์ที่ปรึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140 โทร.034-281-105-7 ต่อ 7678 โทรสาร 034-351-402 E-mail: faasrpp@ku.ac.th

Abstract

Three types of aquatic plants namely; water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms), water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) and cattail (*Typha angustifolia* L.) were used as a substrate for ethanol production by *Candida shehatae* TISTR 5843 using batch and fed-batch fermentation. The optimum conditions for ethanol production were as follows: initial pH 5.0; shaking speed 120 rpm; temperature 30 °C; initial cell concentrations and reducing sugar concentrations in the batch fermentation were 1×10^8 cells/ml and 20 g/l respectively. At these conditions water hyacinth gave high concentration of ethanol (P), yield (Y_{ps}) and productivity (Q_p) of 9.28 g/l, 0.46 g/g_s and 0.39 g/l/h, respectively, compared with the others ($p \leq 0.05$). In fed-batch fermentation, the optimum substrate feeding strategy for ethanol production at initial sugar concentration of 20 g/l was two-time substrate feeding, (Ratio 1:0.6:0.4 by volume) where P Y_{ps} and Q_p were 13.54 g/l 0.48 g/g_s and 0.56 g/l/h, respectively. These findings suggested that fed-batch fermentation improves the efficiency of ethanol production from aquatic plants in terms of ethanol concentration and fermentation efficiency.

บทนำ

หน่วยงานด้านพลังงานของโลกสำนักงานพลังงานระหว่างประเทศ (Energy Information Administration : EIA) ระบุถึงปริมาณสำรองน้ำมันที่พิสูจน์แล้ว (proved reserves) ว่าน้ำมันโลกมีเหลืออยู่ 1,208 พันล้านบาร์เรล หรือมีพอใช้อีก 42 ปีข้างหน้า เนื่องจากวิกฤตพลังงานน้ำมันที่เกิดขึ้น ทำให้ทั่วโลกให้ความสนใจในการหาแหล่งพลังงานทดแทนใหม่ๆ ซึ่งเอทานอลเป็นแหล่งพลังงานทดแทนที่น่าสนใจ สามารถผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพหรือสารเติมแต่งน้ำมันเชื้อเพลิงได้ (คมสันต์ ศรีคงเพ็ชร, 2555) โดยภายในปี พ.ศ. 2565 ประเทศไทยมีการวางแผนที่จะผลิตเอทานอลให้ได้ 9 ล้านลิตรต่อวัน ซึ่งหากสามารถผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพดังกล่าวได้ตามแผนจริง จะทำให้ไทยขยับการจัดอันดับประเทศผู้ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพขึ้นไปอยู่ที่อันดับที่ 5 ของโลก และนั่นหมายถึงประเทศไทยจะกลายเป็นผู้นำในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของภาคพื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ธราพงษ์ วิจิตตานต์และคณะ, 2553) สำหรับประเทศไทยมีวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรอยู่มาก เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ชังข้าวโพด เศษไม้ เป็นต้น โดยวัตถุดิบดังกล่าวสามารถนำมาเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตเอทานอลได้ (คณะกรรมการการพลังงานสภาผู้แทนราษฎร, 2545) นอกจากนี้ยังได้มีการมองหาแหล่งวัตถุดิบชนิดอื่นที่นอกเหนือไปจากวัตถุดิบที่กล่าวไปแล้วนั้น วัชพืชน้ำ เช่น ผักตบชวา ฐูปญาณี จอกรน้ำเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจ และตั้งข้อสังเกตถึงศักยภาพในการใช้เป็นพืชพลังงาน เพราะสามารถเจริญเติบโตในเกือบทุกภูมิภาคเขตร้อน และยังเป็นการจัดการปัญหาของวัชพืชน้ำที่แพร่ระบาดซึ่งเป็นสิ่งกีดขวางต่อการคมนาคมทางน้ำ (อำพร คล้ายแก้ว, 2554) ได้มีกลุ่มงานนักวิจัยทำการศึกษา และพัฒนากระบวนการหมักสำหรับ

การผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำเพื่อให้มีประสิทธิภาพการหมักที่ดียิ่งขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่ในการผลิตเอทานอลจะมีขั้นตอนการใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในกระบวนการหมักแบบกะ (Batch fermentation) ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลได้ในระดับหนึ่ง (Ogbonna *et al.*, 2001) ทั้งนี้หากมีการพัฒนาและศึกษาหากระบวนการหมักที่เหมาะสมจะส่งผลให้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดผลผลิตเอทานอลได้มากขึ้น กระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) จึงเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล เพราะมีข้อดีหลายประการเมื่อเทียบกับการหมักแบบกะ เช่น ลดผลกระทบของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น ยืดการเจริญเติบโต และกระบวนการหมักโดยเชื้อยีสต์ออกไป ทำให้เชื้อยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบ และสารอาหารได้ในปริมาณสูง และเพิ่มผลผลิตเอทานอลให้สูงขึ้น

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้ คือ ศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำ ได้แก่ ผักตบชวา จอกน้ำ และรูกาชี เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำ โดยเชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843 โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักแบบกะ (Batch fermentation) และแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) ในแง่ของผลผลิตเอทานอล และอัตราการผลิตเอทานอล

วิธีการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1.2 เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) ของบริษัท Shimadzu (Class LC10 ประเทศญี่ปุ่น)

1.3 ยีสต์สายพันธุ์ *C. shehatae* TISTR 5843 (จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.))

1.4 วัชพืชน้ำ ได้แก่ ผักตบชวา จอกน้ำ รูกาชี

2. การเตรียมวัตถุดิบ และการปรับสภาพเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์

เก็บตัวอย่างวัชพืชน้ำ ได้แก่ ผักตบชวา จอกน้ำ รูกาชี จากแหล่งน้ำบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นำส่วนใบ และลำต้นนำไปล้างให้สะอาด ผึ่งลม ตากแดดให้แห้ง และนำไปบดเป็นชิ้นเล็กๆ (ขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร) อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ทำการปรับสภาพตัวอย่างวัชพืชน้ำโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Goshadrou *et al.* (2011) นำตัวอย่างวัชพืชน้ำ จำนวน 100 กรัม แช่สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.25 นอร์มัล (อัตราส่วน 1:10 ของแข็ง:ของเหลว) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที นำส่วนผสมที่ได้มาปรับค่า pH 5.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ จากนั้นนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (ค่ากิจกรรมเอนไซม์ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และเอนไซม์ไซแลนเนส (ค่ากิจกรรมเอนไซม์ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) (บริษัท genencor, USA) จำนวน 20 ยูนิตต่อกรัมตัวอย่าง และ 10 ยูนิตต่อกรัมตัวอย่าง

ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของวชิพชีน้ำแต่ละชนิดที่ผ่านการปรับสภาพและการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากผักตบชวา จอกน้ำ และธูปฤาษีเท่ากับ 59.60, 46.70 และ 55.30 กรัมต่อลิตร เก็บส่วนผสมทั้งหมดเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในขั้นตอนการผลิตเอทานอลเป็นลำดับต่อไป

3. การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์เริ่มต้น

ทำการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์เริ่มต้นทำโดยใช้เชื้อยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 จากอาหารยูน YMA (Yeast malt extract agar) จำนวน 1 loop ลงในอาหารเหลว YM (Yeast malt extract medium) ดัดแปลงจากวิธีการของเวสารัชและคณะ (2556) ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับค่า pH 5.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายกล้าเชื้อยีสต์ จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงในอาหาร YM ปริมาตร 96 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับค่า pH 5.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะคงที่ (ตั้งทิ้งไว้) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (วัดปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 1 กรัมหนักแห้งต่อลิตร หรือจำนวนเซลล์ประมาณ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) เซลล์ที่เจริญในอาหารเหลวจะถูกนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตเอทานอลต่อไป

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับกระบวนการผลิตเอทานอล

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอล โดยนำตัวอย่างวชิพชีน้ำที่ผ่านการปรับสภาพ และการไฮโดรไลซิสในข้อ.1 ปรับความเข้มข้นให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่ความเข้มข้น 10, 15 และ 20 กรัมต่อลิตร โดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเติม Yeast extract 1.0 กรัม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.0 กรัม KH_2PO_4 0.5 กรัม $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 กรัม ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตรการทำงานสุดท้ายเท่ากับ 200 มิลลิลิตร ปรับค่า pH 5.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับกระบวนการผลิตเอทานอลต่อไป

5. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตเอทานอลจากวชิพชีน้ำ

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตเอทานอล โดยพิจารณาผลของความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น (1×10^6 1×10^7 และ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และผลความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในอาหารสำหรับการผลิตเอทานอล (10 15 และ 20 กรัมต่อลิตร) ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่า pH 5.0 เวลาที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เก็บตัวครั้งละ 5 มิลลิลิตร ทุกๆ 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ และปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น

6. การศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำ

การศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำ โดยพิจารณากระบวนการหมักที่แตกต่างกัน คือ กระบวนการหมักแบบกะ และแบบกึ่งกะ โดยกระบวนการผลิตเอทานอลแบบกะ ทำโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลที่ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น และความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสม ในอาหารสำหรับการผลิตเอทานอล ในฟลากส์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่า pH 5.0 เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เก็บตัวครั้งละ 5 มิลลิลิตร ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ และปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ สำหรับกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ ทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากกระบวนการผลิตเอทานอลแบบกะ โดยเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลที่แตกต่างกัน 3 ชุด คือ ชุดที่ 1 เติมน้ำตาล 2 ครั้ง (สัดส่วน 1:1 โดยปริมาตร) ชุดที่ 2 เติมน้ำตาล 3 ครั้ง (สัดส่วน 1:0.5:0.5 โดยปริมาตร) และ ชุดที่ 3 เติมน้ำตาล 3 ครั้ง (สัดส่วน 1:0.6:0.4 โดยปริมาตร) โดยเริ่มต้นเติมน้ำตาลเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมน้ำตาลในส่วนที่เหลือที่ชั่วโมงที่ 6 และ 12 ตามสัดส่วน ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 200 มิลลิลิตร เก็บตัวครั้งละ 5 มิลลิลิตร ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ และปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น

7. การวิเคราะห์

การนับจำนวนเซลล์ยีสต์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer) วัดค่าความหนาแน่นของเซลล์ (turbidity) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร วัดน้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell dry weight) วิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลที่ได้ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic colorimetric method (DNS) ตามวิธีของ James (1995) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีไดโครเมต ซึ่งใช้ โพแทสเซียมไดโครเมตเป็นตัวออกซิไดส์ (Oxidizing agent) เอทานอลไปเป็นกรดคาร์บอกซิลิก เมื่อโครเมียมถูกรีดิวซ์จะเกิดการเปลี่ยนสีซึ่งเห็นได้ชัดเจนจากสีส้มเป็นสีเขียว โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Seo *et al.* (2009) โดยค่าพารามิเตอร์ผลผลิตเอทานอล (Y_{ps}) เป็นค่าของผลผลิตเอทานอลที่ผลิตที่เกิดขึ้น แสดงเป็นกรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ถูกใช้ (กรัมต่อกรัม) อัตราการผลิตเอทานอล (Q_p) เป็นค่าของเอทานอลที่ผลิตที่เกิดขึ้นจริงในช่วงเวลาหนึ่ง (กรัมต่อชั่วโมง) และร้อยละของประสิทธิภาพการหมัก (E_y) เป็นค่าร้อยละของผลผลิตเอทานอลเทียบกับค่าที่ได้ทางทฤษฎี คำนวณโดยสมการดังนี้

$$Q_p = \frac{P}{t} \quad \text{และ} \quad E_y = \frac{Y_{ps} \times 100}{0.51}$$

P คือความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตที่เกิดขึ้นจริง (กรัมต่อลิตร), t คือเวลาของการผลิตเอทานอลที่ทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด และค่า 0.51 เป็นค่าคงที่ของผลผลิตเอทานอลทางทฤษฎีโดยเทียบกับน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม

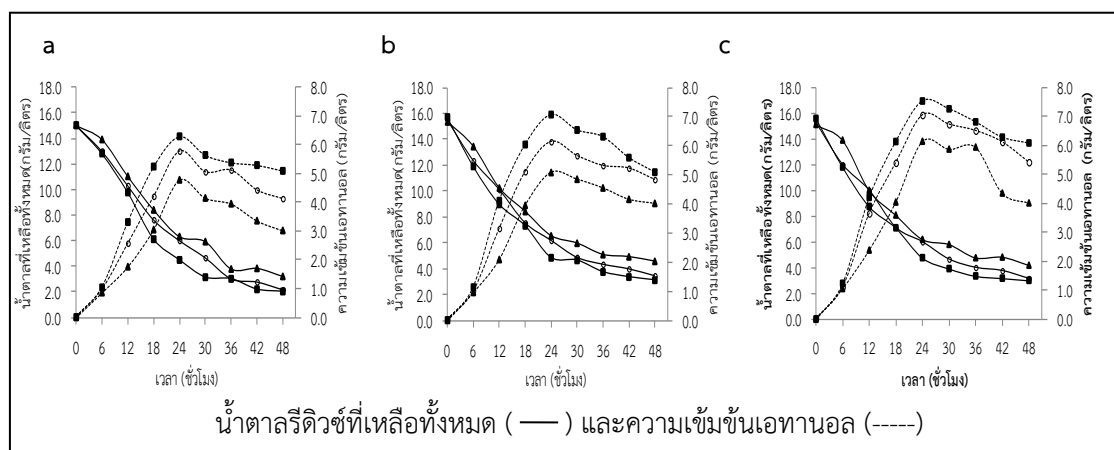
8. การใช้สถิติในการวิเคราะห์ผลข้อมูล

ขั้นตอนในการวิจัยและผลการทดลองทั้งหมดจากการวิจัยทำทั้งหมด 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของสองชุดข้อมูลโดยวิธี t-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95.0 เปอร์เซนต์ ($p < 0.05$)

ผลการวิจัยและอภิปราย

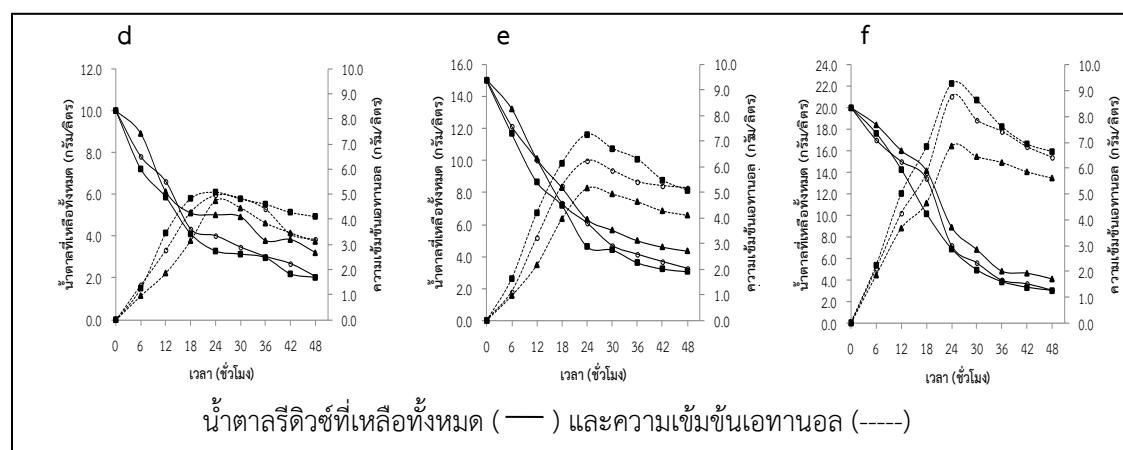
1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตเอทานอล

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำด้วยการหมักแบบกะ โดยใช้ยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 เลี้ยงในอาหารสำหรับผลิตเอทานอล โดยศึกษาความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น และความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น พบว่า เมื่อมีความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นเพิ่มมากขึ้นจะมีแนวโน้มส่งผลให้ความเข้มข้นเอทานอลมากขึ้นด้วย (ภาพที่ 1, a-c) โดยที่ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ผลผลิตความเข้มข้นเอทานอลสูงที่สุด โดยพบในผักตบชวาคิดเป็น 7.54 ± 0.14 กรัมต่อลิตร ในช่วงเวลาที่ 24 ของการหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เหลือ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lakkana *et al.*, (2007) ซึ่งพบว่าเซลล์ยีสต์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานโดยใช้กระบวนการหมักแบบกะ คือ ให้ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นที่ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีผลทำให้ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้รับสูงกว่าการให้ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นที่ 1×10^6 และ 1×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยการให้ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นที่ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะทำให้มีอัตราการใช้น้ำตาลเพิ่มขึ้นจึงทำให้ความเข้มข้นเอทานอลเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นที่ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จึงเหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลในการทดลองขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 1 ผลของความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) 1×10^6 (a) 1×10^7 (b) และ 1×10^8 (c) ต่อการหมักเอทานอลจากวัชพืชน้ำโดยยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 15 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง กำหนดให้: ผักตบชวา (■) จอกน้ำ (▲) และ รุปรุยา (○)

ในทำนองเดียวกับผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (ภาพที่ 2, d-f) เมื่อความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นเพิ่มมากขึ้นจะมีแนวโน้มส่งผลให้การผลิตเอทานอลมากขึ้น พบว่า ที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นที่ 20 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด พบในผักตบชวา จอกน้ำ และรูปฤาษีคิดเป็น 9.28 ± 0.60 , 6.86 ± 0.14 และ 8.78 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก ซึ่งหลังจาก 24 ชั่วโมงของการหมักมีการผลิตเอทานอลลดลงเนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือไม่เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์จึงทำให้เกิดการผลิตเอทานอลได้น้อยลง เมื่อพิจารณาถึงปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากวัชพืชน้ำแต่ละชนิด พบว่าผักตบชวาให้ผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดและจอกน้ำให้ผลผลิตเอทานอลน้อยที่สุดเนื่องจากองค์ประกอบเส้นใยของวัชพืชน้ำแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ซึ่งองค์ประกอบที่สำคัญสามารถเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและไซโลสได้คือเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส พรชัย ไพบูลย์และคณะ (2555) ในเส้นใยวัชพืชน้ำที่ได้จากการปรับสภาพและการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ของผักตบชวาและรูปฤาษีในงานวิจัยนี้มีปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่ใกล้เคียงกัน ส่วนจอกน้ำมีปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่น้อยกว่า จึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสและไซโลสน้อยกว่าซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 ที่ใช้สำหรับการผลิตเอทานอล สำหรับการทดลองนี้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นมีผลต่อค่าจลศาสตร์ของการหมักส่งผลให้มีปริมาณเอทานอลที่สูงขึ้น (รัชพล พะวงศรีรัตน์, 2554) ดังนั้นความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่ 20 กรัมต่อลิตร จึงเหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลในการทดลองขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร) 10 (d) 15 (e) และ 20 (f) ต่อการหมักเอทานอลจากวัชพืชน้ำโดยยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 ที่ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง กำหนดให้ : ผักตบชวา (■) จอกน้ำ (▲) และ รูปฤาษี (○)

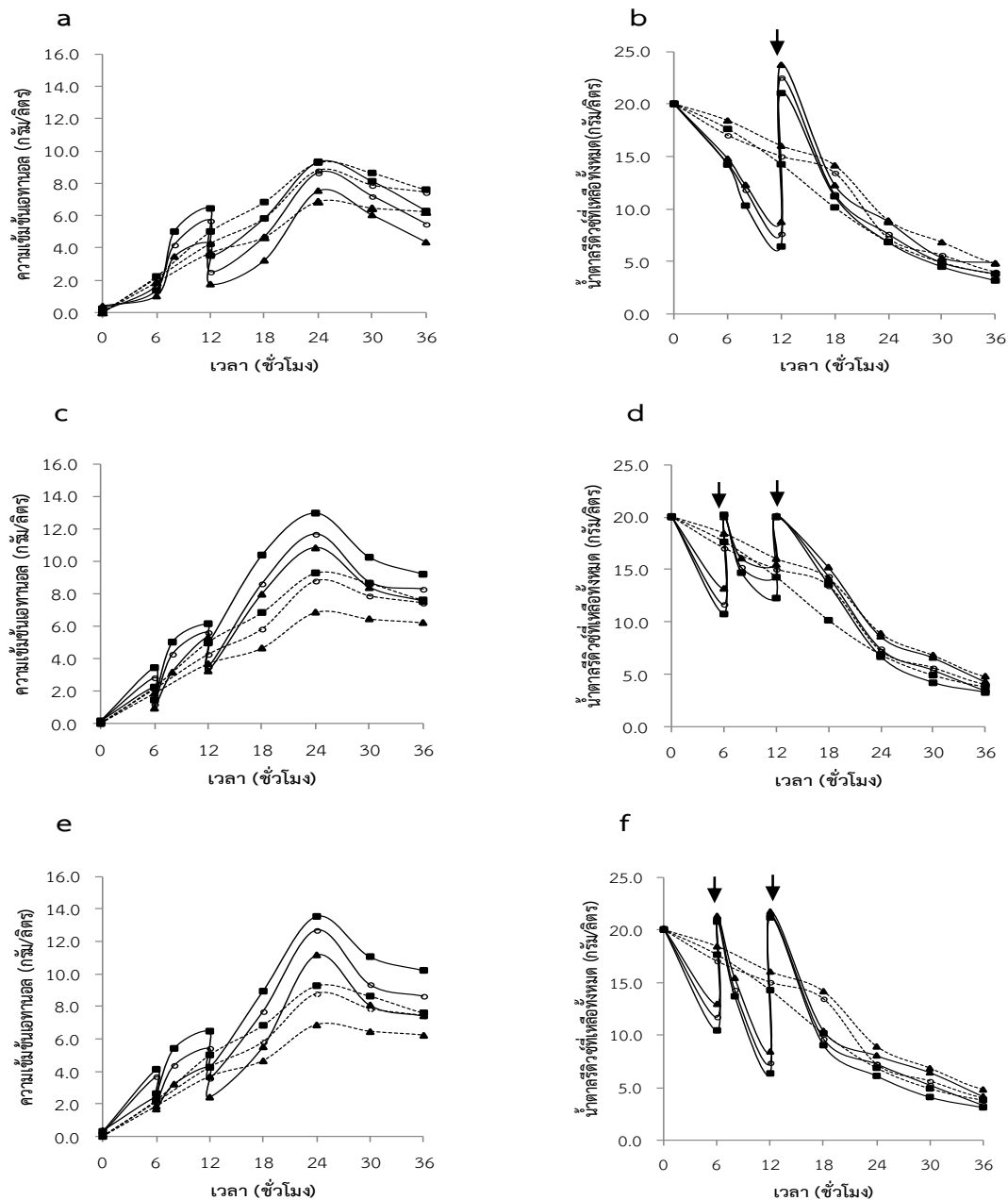
2. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำโดยกระบวนการหมักแบบกะ และแบบกึ่งกะ จากตารางที่ 1 พบว่าเมื่อทำการผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมักแบบกะ ให้ค่าพารามิเตอร์ผลผลิตเอทานอล (Y_{ps}) อัตราการผลิตเอทานอล (Q_p) และร้อยละของประสิทธิภาพการหมัก (E_y) จากวัชพืชน้ำทั้ง 3 ชนิด โดยผักตบชวาให้ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด มีค่าเท่ากับ 9.28 ± 0.60 กรัมต่อลิตร ให้ค่า Y_{ps} และ Q_p มีเท่ากับ 0.46 ± 0.01 กรัม/กรัม และ 0.39 ± 0.01 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง ตามลำดับ และจอกน้ำให้ความเข้มข้นเอทานอลต่ำสุด ที่ความเข้มข้นเอทานอล มีค่าเท่ากับ 6.86 ± 0.54 กรัม/ลิตร โดยจากกระบวนการหมักดังกล่าวคิดเป็นประสิทธิภาพการหมัก (E_y) มีค่าเท่ากับร้อยละ 67-90 ของผลผลิตทางทฤษฎีที่ได้สูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลง และคงที่หลังจากชั่วโมงที่ 24 ในน้ำหมักของวัชพืชน้ำทั้ง 3 ชนิด (ไม่ได้แสดงข้อมูล) โดยที่ปริมาณเอทานอลเริ่มจะคงที่เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Zoecklein *et al.* (1995); Amutha and Gunasekaran (2001); Goksungur and Zorlu (2001) ที่กล่าวว่าอาจจะเป็นเพราะเกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้อื่นๆ ในระหว่างการหมัก เช่น glycerol, succinate, alpha-ketogutarate, butanediol และ diacetyl ซึ่งมีผลทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตเอทานอลได้

ในทำนองเดียวกันกับกระบวนการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะ โดยทำการศึกษาสัตส่วนที่เหมาะสมในการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลที่แตกต่างกัน 3 วิธี (ภาพที่ 3 และตารางที่ 2) ซึ่งพบว่าเมื่อเติมอาหารในสัดส่วนที่แตกต่างกันจะมีผลให้การผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น โดยวิธีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอล 1 ครั้ง (ชุดที่ 1) และการเติมอาหาร 2 ครั้ง (ชุดที่ 2 และ 3) จะส่งผลกระทบต่อค่าพารามิเตอร์ P Y_{ps} และ Q_p อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองพบว่า วิธีการที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลในการหมักแบบกึ่งกะเป็นการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลจำนวน 2 ครั้ง โดยชุดที่ 3 (สัดส่วน 1:0.6:0.4 โดยปริมาตร) จะให้ผลผลิตเอทานอลที่สูงด้วยวิธีดังกล่าวพบว่า ผักตบชวาให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด มีค่าเท่ากับ 13.54 ± 0.62 กรัม/ลิตร ผลผลิตเอทานอลจากธูปฤาษีเท่ากับ 12.68 ± 0.49 กรัม/ลิตร และจอกน้ำให้ผลผลิตเอทานอลต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 11.17 ± 0.79 กรัม/ลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลจำนวน 2 ครั้ง ยังให้ค่าประสิทธิภาพการหมัก (E_y) ในผักตบชวา ที่สูงกว่าการเติมแบบ 1 ครั้ง เนื่องจากวิธีการเติมอาหารครั้งเดียวในชุดที่ 1 มีการออกแบบการทดลองโดยการเติมอาหารในชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก เมื่อดูผลการทดลองจากภาพที่ 3 กราฟ a และ b พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือทั้งหมดในชั่วโมงที่ 12 เหลืออยู่ที่ 5-6 กรัมต่อลิตร จากนั้นจึงมีการเติมอาหารเข้าไปใหม่ 1 ครั้ง ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ส่วนการเติมอาหาร 2 ครั้ง (ชุดที่ 2 และ 3) จะทำการเติมอาหารในชั่วโมงการหมักที่ 6 และ 12 ซึ่งในชั่วโมงที่ 6 ของการหมักยังมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์อยู่ที่ 10-12 กรัมต่อลิตร จึงเป็นข้อสังเกตว่าการเติมอาหารครั้งเดียวในชั่วโมงที่ 12 เป็นการเติมอาหารที่เข้าไป ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออยู่ไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการสร้างเอทานอลของยีสต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Altintas

et al. (2002) กล่าวว่าวิธีการเติมอาหารให้เหมาะสมต่อระบบการหมักเอทานอลสามารถปรับปรุงการผลิตในกระบวนการหมักเอทานอลให้ได้ผลผลิตที่ดีขึ้นได้ และที่สำคัญควรคำนึงถึงช่วงเวลาของการเติมอาหารที่เหมาะสมด้วย ซึ่งจากการทดลองทำให้ประสิทธิภาพการหมักดีขึ้นโดยการเติมอาหาร 2 ครั้ง ในชุดที่ 3 ของผักตบชวา จอกน้ำ และธูปาซีมีค่าเท่ากับร้อยละ 94.82 ± 0.01 , 78.22 ± 0.00 และ 88.80 ± 0.01

ดังนั้นจะเห็นว่ากระบวนการผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะสามารถปรับปรุงกระบวนการหมักให้ดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับแบบกะ ($p \leq 0.05$) โดยการผลิตเอทานอลในการหมักแบบกึ่งกะของชุดที่ 3 สามารถให้ผลผลิตเอทานอลที่สูงกว่าการหมักแบบกะ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ogbonna *et al.* (2001) ที่พบว่าผลผลิตเอทานอลสูงสุดจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้ยีสต์สายผสมในกระบวนการผลิตเอทานอลหมักแบบกึ่งกะ จะให้ผลผลิตสูงกว่าการหมักแบบกะ คิดเป็น 0.49 และ 0.44 กรัมเอทานอลต่อกรัมสารตั้งต้น ตามลำดับ ทำนองเดียวกับงานวิจัยของพุทธิพร ศรวรเวทย์ (2552) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวา และวัสดุเหลือทิ้งจากมันสำปะหลัง โดยใช้กระบวนการหมักแบบทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces diastaticus* KM 2047 พบว่าได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดจากผักตบชวาเท่ากับ 5.10 กรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงสุดคือ 67.28 เปอร์เซ็นต์ และนอกจากนี้การศึกษาของเสรี มหาวิชัย (2555) พบว่าการผลิตลิกลินเซลลูโลสเอทานอลจากสารละลายที่ได้จากการย่อยลำต้นมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักแบบกะด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5048 ให้ผลผลิตเป็นเอทานอลเท่ากับ 0.070 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง คิดเป็นผลผลิตเอทานอลเมื่อเทียบกับค่าในทางทฤษฎีเท่ากับ 74.3 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3 ผลของการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลโดยสัดส่วนที่แตกต่างกัน (a, b) ชุดที่ 1 (สัดส่วน 1:1 โดยปริมาตร); (c, d) ชุดที่ 2 (สัดส่วน 1:0.5:0.5 โดยปริมาตร) และ (e, f) ชุดที่ 3 (สัดส่วน 1:0.6:0.4 โดยปริมาตร) ในกระบวนการผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะจากวัชพืชที่ขึ้น ที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล (a, c, e) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (b, d, f) โดยใช้ยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 กำหนดให้: ผักตบชวา (■); จอกน้ำ (▲) และ ฐูปฤาษี (○): กระบวนการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะ (—) และกระบวนการหมักเอทานอลแบบกะ (---) ลูกศรชี้ลงเป็นการเติมอาหารในระหว่างกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ

ตารางที่ 1 ค่าพารามิเตอร์ของการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำในกระบวนการผลิตเอทานอลแบบกะ โดยใช้ยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 ที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง

ค่าตัวแปร	ผักตบชวา	จอกน้ำ	รูปถ่าย
P (กรัม/ลิตร)	9.28±0.60 ^a	6.86±0.54 ^b	8.78±0.11 ^a
Y _{ps} (กรัม/กรัม)	0.46±0.01 ^a	0.34±0.01 ^b	0.44±0.01 ^{ab}
Q _p (กรัม/ลิตร ชั่วโมง)	0.39±0.01 ^a	0.29±0.01 ^b	0.37±0.01 ^{ab}
E _y (%)	90.98±0.01 ^a	67.25±0.01 ^c	86.08±0.00 ^b

หมายเหตุ: a, b, c ในแนวนอนเป็นค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ของการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำในกระบวนการผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะ โดยใช้ยีสต์ *C. shehatae* TISTR 5843 ที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง

ค่าตัวแปร	ผักตบชวา			จอกน้ำ			รูปถ่าย		
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3
P (กรัม/ลิตร)	9.33 ±0.33 ^b	12.96 ±1.00 ^a	13.54 ±0.62 ^a	7.54 ±0.44 ^b	10.82 ±0.83 ^a	11.17 ±0.79 ^a	8.64 ±0.91 ^b	11.66 ±0.81 ^a	12.68 ±0.49 ^a
Y _{ps} (กรัม/กรัม)	0.47 ±0.01 ^a	0.46 ±0.01 ^{ab}	0.48 ±0.01 ^a	0.38 ±0.01 ^a	0.39 ±0.01 ^a	0.40 ±0.01 ^a	0.43 ±0.01 ^a	0.42 ±0.01 ^{ab}	0.45 ±0.01 ^a
Q _p (กรัม/ลิตร ชั่วโมง)	0.39 ±0.01 ^b	0.54 ±0.01 ^a	0.56 ±0.01 ^a	0.31 ±0.01 ^b	0.45 ±0.01 ^a	0.47 ±0.01 ^a	0.37 ±0.01 ^b	0.47 ±0.01 ^a	0.50 ±0.01 ^a
E _y (%)	91.47±0.00 ^{ab}	90.76±0.01 ^{ab}	94.82±0.01 ^a	73.92±0.01 ^{ab}	75.77±0.00 ^{ab}	78.22±0.00 ^a	84.71±0.01 ^a	81.65±0.02 ^{ab}	88.80±0.01 ^a

หมายเหตุ: a, b, c ในแนวนอนของวัชพืชน้ำแต่ละชนิดเป็นค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($p \leq 0.05$) โดยทำการศึกษาสัดส่วนการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอลที่แตกต่างกัน 3 ชุด คือ ชุดที่ 1 (สัดส่วน 1:1 โดยปริมาตร) ชุดที่ 2 (สัดส่วน 1:0.5:0.5 โดยปริมาตร) และ ชุดที่ 3 (สัดส่วน 1:0.6:0.4 โดยปริมาตร)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า วัชพืชน้ำทั้ง 3 ชนิด มีศักยภาพและมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เพื่อผลิตเอทานอล โดยเฉพาะจากผักตบชวา ซึ่งจากการศึกษาพบว่า สภาพการหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลจากวัชพืชน้ำ คือ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 ความเร็วรอบที่ 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น และความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น เท่ากับ 1×10^8

เซลล์ต่อมิลลิตร และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า กระบวนการผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวักซ์พืชน้ำให้เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตเอทานอลแบบกะ ดังนั้นจึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในการประยุกต์ใช้เพื่อการผลิต และพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้ในการบริหารจัดการวักซ์พืชน้ำอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สวพ. มก.) ปี 2555

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

คณะกรรมการการพลังงานสภาผู้แทนราษฎร. (2545). “พลังงานทดแทนเอทานอล และไบโอดีเซล”.

กรุงเทพฯ: แปลน พรินต์

คมสันต์ ศรีคงเพชร. (2555). “เอทานอล: โอกาสและความท้าทายของนโยบายพลังงานไทย.” ธนาคร

แห่งประเทศไทย อ.เมืองขอนแก่น: หจก. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา

ธราพงษ์ วิจิตตานันต์ นวตล เหล่าศิริพจน์ และประเสริฐ เรียบร้อยเจริญ. (2553). “รายงานสถานภาพของ

งานวิจัยและผลิตเอทานอลไบโอดีเซล ไบโอดีเซล และน้ำมันชีวภาพในประเทศไทย”. สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว)

พุทธิพร ศรเวทย์. (2552). “การพัฒนาการผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาและวัสดุเหลือทิ้งมัน

สำปะหลังโดยกระบวนการหมักโดยอะไมโลไลติกยีสต์”. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

พรชัย ไพบูลย์ พรณิ ชื่นนคร และสุนทรียัง ชัยชาลย์. (2555). “การคัดเลือกพืชให้เซลล์สูงสำหรับเป็น

วัตถุดิบทางเลือกในการผลิตเอทานอล”. ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน จ.นครปฐม

รัชพล พะวงศ์รัตน์. (2554). “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลสผักตบชวาโดยหม้อ

นึ่งไอน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตเอทานอล”. วารสารวิชาการ Veridian E-Journal SU 4(1):891-900

เวสารัช สุทธชัยบุญ อรอนงค์ อินทร์ตา สุทธิเดช ปรีชารัมย์ และรัชพล พะวงศ์รัตน์. (2556). “การผลิตเอ

ทานอลจากใบตองในถังหมักแบบแพคเบตด้วยเชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843 ที่ถูกตรึงรูปบนซังข้าวโพด”. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก 6(2):21-29

เสรี มหาวิชิต และเฉลิม เรืองวิริยะชัย.(2555.). “การผลิตลิกลินเซลลูโลสจากเอทานอลจากสารละลายที่ได้จากการย่อยลำต้นมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักแบบกะด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048”. วารสารวิชาการ Veridian E-Journal SU 5(3):429-445

อำพร คล้ายแก้ว.(2554.). “ฝ่าวิกฤติพลังงานด้วยการผลิต เอทานอล จากวัชพืชน้ำ: อีกทางเลือกในการควบคุมการแพร่ระบาดของวัชพืชร้ายแรงในพื้นที่ชลประทาน”. โครงการวิจัยของกรมชลประทานปี 2554 สำนักวิจัยและพัฒนากรมชลประทาน นนทบุรี

ภาษาต่างประเทศ

Altintas M.M., et al. (2002.). “Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors”. **Enzyme Microb Technol.** 31, pp. 640–647.

Amutha R, and Gunasekaran P.(2001.). “Production of ethanol from liquefied cassava starch using co-immobilized cells of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces diastaticus*”. **J Biosci Bioeng.** 92, pp. 560–564.

AOAC. (1990.). “Standard method for examination of water and waste water”. **American Public Health Assosiation**, Washington, DC.

Goksungur Y, Zorlu N. (2001.). “Production of ethanol from beet molasses by Ca-alginate immobilized yeast cells in a packed-bed bioreactor”. **Turk J Biol.** 25, pp. 265-275.

Goshadrou A, Karimi K and Taherzadeh MJ.(2011.). “Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*”. **Ind Crops Prod.** 34, 1219–1225.

James, C. S. (1995.). “Analytical chemistry of foods”. London: Chapman & Hall, pp. 124–125.

Lakkana L, et al.(2007.). “Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae*”. **World J Microbiol Biotechnol.** 23, pp1497-1501.

Ogbonna JC, Mashima H, Tanaka H. (2001.). “Scale up of fuel ethanol production from sugar beet juice using loofa sponge immobilized bioreactor”. **Biores Technol.** 76, pp. 1-8.

- Seo Beom H., et al.(2009.). “Measurement of ethanol concentration using solvent extraction and dichromate oxidation and its application to bioethanol production process”. **J Ind Microbiol Biotechnol.** 36, pp.285-292.
- Zoecklien B.W., et al.(1995.). “Laboratory procedures. In: Wine analysis and production”. **Chapman & Mall**, New York, pp. 310-516.