การผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราเหลือทิ้งโดยเชื้อยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูง *Scheffersomyces shehatae* TTC79

Ethanol Production from Rubber Sawdust Waste by Thermotolerant *Scheffersomyces shehatae* TTC79

กมลชนก ธรรมโม[1] อานนท์ ธรรมสิทธิรงค์[1,2] และ สุทธิชา ณ ระนอง ธรรมสิทธิรงค์[1,2]*

Kamonchanok Tummo[1], Anon Thammasittirong[1,2] and Sutticha Na-Ranong Thammasittirong[1,2]*

[1] *โครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน*

[2] *หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพจุลินทรีย์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน*

[1]*Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus*

[2]*Microbial Biotechnology Unit, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus*

Received : 12 June 2017

Accepted : 11 July 2017

Published online : 7 August 2017

บทคัดย่อ

วัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นวัสดุที่มีปริมาณมาก ราคาถูกและสร้างทดแทนใหม่ได้สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับผลิตเอทานอลได้ ในงานวิจัยนี้ได้นำขี้เลื่อยไม้ยางพาราซึ่งเป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทำเฟอร์นิเจอร์มาศึกษาเพื่อใช้เป็นแหล่งของน้ำตาลสำหรับการผลิตเอทานอล จากผลของการย่อยขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบสโดยเอนไซม์พบว่าให้น้ำตาลสูงและมีสารพิษน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยขี้เลื่อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด และการศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการหมักแบบที่มีกระบวนการย่อยและกระบวนการหมักในขั้นตอนเดียวจากขี้เลื่อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบสโดยเชื้อยีสต์ทนอุณหภูมิสูง *Scheffersomyces shehatae* TTC79 ได้ผลการทดลอง ดังนี้ ความเข้มข้นเอทานอล, ผลผลิตเอทานอล, อัตราการผลิตเอทานอลและผลผลิตเอทานอลทางทฤษฎีสูงสุดเท่ากับ 2.14 กรัมต่อลิตร, 0.33 กรัมต่อกรัม, 0.18 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 65.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ : เอทานอล ขี้เลื่อยไม้ยางพารา เชื้อยีสต์ทนร้อน
การหมักแบบที่มีกระบวนการย่อยและกระบวนการหมักในขั้นตอนเดียว

***Corresponding author. E-mail** : sutticha.n@ku.ac.th

Abstract

Lignocellulosic materials are the most abundant, cheap and renewable feedstocks for ethanol production. In this study, rubber sawdust, a lignocellulosic waste of furniture manufacturers was investigated as a source of fermentable sugars for ethanol production. Enzyme hydrolysis of alkaline pretreated sawdust showed high sugar content and low amount of toxic compounds compared with the acid pretreated sawdust. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) studies were carried out to produce ethanol from alkaline pretreated sawdust waste using thermotolerant yeast, *Scheffersomyces shehatae* TTC79. The maximum ethanol concentration, ethanol yield, productivity and theoretical yield were 2.14 g/l, 0.33 g/g, 0.18 g/l/h and 65.13%, respectively.

Keywords : ethanol, rubber sawdust, thermotolerant yeast, simultaneous saccharification and fermentation

บทนำ

ในปัจจุบันการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงเป็นสิ่งที่จำเป็นมากในการดำเนินชีวิตโดยเฉพาะการนำไปเป็นเชื้อเพลิงในยานพาหนะต่าง ๆ ประเทศต่างๆ ทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยประสบปัญหาจากราคาเชื้อเพลิงปิโตรเลียมที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เหตุเนื่องจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียมมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นทุกประเทศทั่วโลกจึงพยายามหาแหล่งพลังงานทดแทนอื่นๆ มาทดแทนเชื้อเพลิงปิโตรเลียมจากฟอสซิล

เอทานอลเป็นพลังงานทดแทนที่สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ เอทานอลสามารถผลิตจากทรัพยากรธรรมชาติที่สร้างขึ้นมาทดแทนใหม่ได้ (Renewable resource) หลายชนิด วัสดุทางการเกษตรที่สามารถนำมาผลิตเอทานอลได้มี 3 กลุ่มหลักๆ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่มีน้ำตาล เช่น อ้อย ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่มีแป้ง เช่น ข้าว ข้าวโพด เป็นต้น และกลุ่มที่ 3 กลุ่มวัสดุลิกโนเซลลูโลส เช่น ชานอ้อย ฟางข้าว ซังข้าวโพด เป็นต้น (Maurya *et al*., 2015) ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมอีกประเทศหนึ่งที่มีวัสดุลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้งทางการเกษตรจำนวนมาก วัสดุลิกโนเซลลูโลสมีส่วนประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ที่ให้น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสที่นำมาใช้สำหรับการผลิตเอทานอลได้ (Govumoni *et al*., 2013) แต่วัสดุลิกโนเซลลูโลสมีข้อจำกัดคือ ต้องมีการปรับสภาพก่อนที่จะย่อยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ โดยการย่อยวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสนั้นต้องใช้อุณหภูมิสูงในการทำปฏิกิริยา เนื่องจากเอนไซม์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วง 45-50 องศาเซลเซียส (Choudhary *et al*., 2016) ดังนั้นจึงส่งผลต่อกิจกรรมและการรอดชีวิตของเชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ในกระบวนการหมักแบบมีกระบวนการย่อย และกระบวนการหมักในขั้นตอนเดียว (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) และประเทศไทยเป็นประเทศเขตร้อนอุณหภูมิภายในถังหมักอาจสูงถึง 40 องศาเซลเซียส (Shahsavarani *et al*., 2013) ดังนั้นการใช้เชื้อยีสต์ที่สามารถผลิตเอทานอลในสภาวะอุณหภูมิสูงจึงมีความสำคัญต่อการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม

ขี้เลื่อยไม้ยางพาราเป็นวัสดุเหลือทิ้งอีกชนิดหนึ่งที่มีปริมาณมาก โดยไม้ยางพาราเป็นไม้ที่นิยมนำมาใช้ทำเฟอร์นิเจอร์ไม้คุณภาพสูง เนื่องจากคุณสมบัติเด่นของไม้ยาง เช่น ความหนาแน่นของเนื้อไม้ สีสันที่สวยงาม มีการหดตัวน้อย และสามารถตกแต่งผิวได้ง่าย ส่วนต่างๆ ของไม้ยางพารา ทั้งส่วนของยางและส่วนของลำต้นสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งสิ้น (Oseghale and Sideso, 2011) เมื่อไม้ยางพาราผ่านการแปรรูปเป็นเฟอร์นิเจอร์จึงมีเศษขี้เลื่อย

เหลือทิ้งเป็นจำนวนมากประมาณ 1 แสนตันต่อปี ทำให้การกำจัดขี้เลื่อยจึงเป็นปัญหาหลักๆ อย่างหนึ่งของโรงงาน ขี้เลื่อยจึงเป็นอีกแหล่งหนึ่งของวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่มีราคาถูกและไม่ส่งผลกระทบต่ออาหารของมนุษย์ เช่น การผลิตเอทานอลจากพืชบางชนิด เช่น อ้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำขี้เลื่อยไม้ยางพาราเหลือทิ้งมาทำการวิจัยเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้เชื้อยีสต์ทนร้อน *Scheffersomyces shehatae* TTC79 ที่สามารถหมักเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสได้สูง

วิธีดำเนินการวิจัย

จุลินทรีย์

นำเชื้อยีสต์ *Scheffersomyces shehatae* TTC79 (Senatham *et al*., 2016) ที่เก็บรักษาสายพันธุ์ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในกลีเซอรอล 15% มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Yeast peptone dextrose (YPD) (yeast extract 10 กรัมต่อลิตร, peptone 20 กรัมต่อลิตร, glucose 20 กรัมต่อลิตร และ agar 20 กรัมต่อลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนการผลิตเอทานอลต่อไป

การเตรียมตัวอย่างขี้เลื่อย

นำขี้เลื่อยไม้ยางพาราเหลือทิ้งที่ได้มาทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บใส่ถุงป้องกันความชื้น เมื่อจะนำขี้เลื่อยมาทำการทดลองจะทำการอบแห้งอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพขี้เลื่อย

นำขี้เลื่อยไม้ยางพารามาทำการปรับสภาพ 2 สภาวะ ได้แก่

1) การปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับการให้ความร้อน ทำโดยชั่งตัวอย่างขี้เลื่อยไม้ยางพารามาแช่กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 2% ในอัตราส่วนขี้เลื่อยต่อกรดซัลฟูริกเท่ากับ 1:20 (Nopphakao *et al*., 2014) ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2) การปรับภาพด้วยเบส ทำโดยชั่งตัวอย่างขี้เลื่อยไม้ยางพารามาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3% ในอัตราส่วนขี้เลื่อยต่อเบสเท่ากับ 1:10 นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

นำขี้เลื่อยจากการปรับสภาพข้างต้นมากรองผ่านผ้าขาวบาง นำส่วนน้ำที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลและสารพิษโดยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) (Senatham *et al*., 2016) สำหรับส่วนของแข็งนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จนกระทั่ง pH เป็นกลาง นำขี้เลื่อยที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปศึกษาการย่อยขี้เลื่อยด้วยเอนไซม์ต่อไป

การศึกษาการย่อยขี้เลื่อยด้วยเอนไซม์

ในการศึกษาการย่อยขี้เลื่อยด้วยเอนไซม์ใช้ขี้เลื้อยไม้ยางพาราที่ผ่านการปรับสภาพในสภาวะต่างๆ 5% (w/v) มาย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 30 FPU/ g glucan ในสารละลายโซเดียมซิเตรตบัฟเฟอร์ 0.05 M (pH 4.8) บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไฮโดรไลเสทที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโดยเทคนิค HPLC (Senatham *et al*., 2016)

การศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูงของเชื้อยีสต์ S. shehatae TTC79 ในอาหาร YPD ที่มีน้ำตาลกลูโคส 8%

เลี้ยงกล้าเชื้อยีสต์ในอาหารเหลว YPD บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมานับจำนวนเซลล์โดยใช้ Haemacytometer จากนั้นเพาะเชื้อยีสต์ในอาหาร YPD ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 8% โดยให้มีเซลล์ความเข้มข้นเริ่มต้น $5x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลและเอทานอลโดยเทคนิค HPLC (Senatham *et al*., 2016)

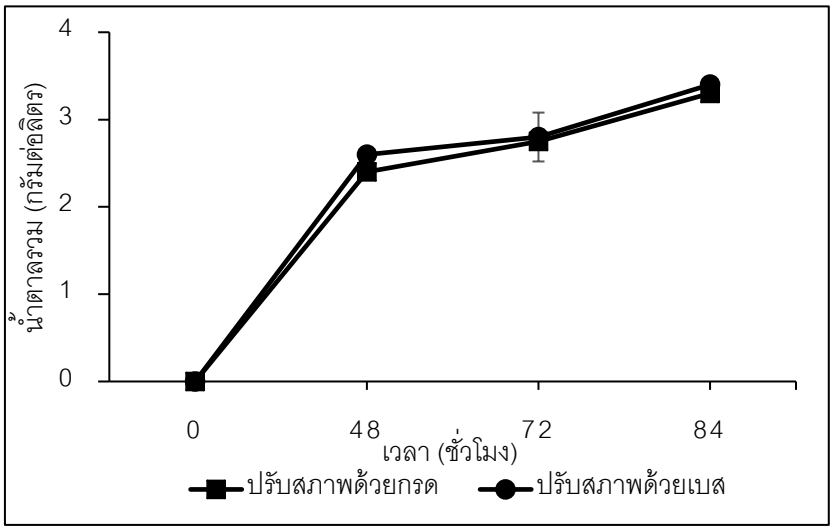
การศึกษาการผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราโดยการหมักแบบมีกระบวนการย่อยและกระบวนการหมักในขั้นตอนเดียว (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

ในการศึกษาการผลิตเอทานอลใช้ขี้เลื่อย 10% (w/v) และมีการเติม KH_2PO_4 5 กรัมต่อลิตร, $(NH_4)_2SO_4$ 2 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 กรัมต่อลิตร, peptone 1 กรัมต่อลิตร, yeast extract 5 กรัมต่อลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 4.8 ด้วยสารละลายโซเดียมซิเตรตบัฟเฟอร์ 0.05 M นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมเอนไซม์ Accellerase 30 FPU/g glucan นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยบ่มแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นทำการเพาะเชื้อยีสต์ *S. shehatae* TTC79 โดยให้มีเซลล์ความเข้มข้นเริ่มต้น $5x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และทำการหมักเอทานอลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยบ่มแบบเขย่าความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลและเอทานอลโดยเทคนิค HPLC (Senatham *et al*., 2016)

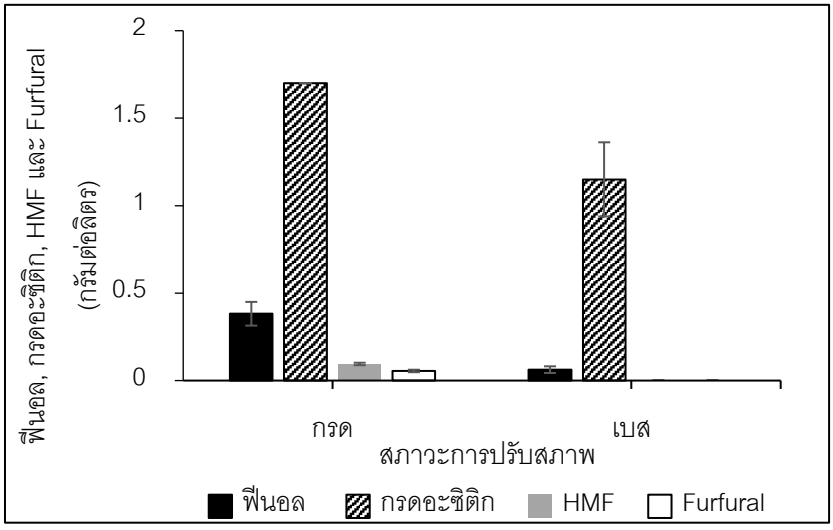
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพขี้เลื่อย

จากการศึกษาการปรับสภาพของขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยกรดและเบสพบว่าเมื่อนำขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบสมาย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 30 FPU/g glucan โดยใช้ขี้เลื่อย 5% (w/v) ให้น้ำตาลสูงเท่ากับ 3.40 กรัมต่อลิตรที่ 84 ชั่วโมง ของการย่อย (ภาพที่ 1) และตรวจพบสารพิษที่เกิดขึ้นจากกระบวนการปรับสภาพ เช่น ฟีนอล, กรดอะซิติก, Hydroxyl methylfurfural (HMF) และ Furfural น้อยกว่าการปรับสภาพด้วยกรด (ภาพที่ 2) เนื่องจากในกระบวนการปรับสภาพด้วยกรดจะทำให้น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลกลูโคสถูกย่อยสลายเป็นสารพิษดังข้างต้น ซึ่งส่งผลยับยั้งการเจริญและการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ (Zheng *et al*., 2014) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการกัดกร่อนถังหมักในระบบอุตสาหกรรม (Zheng *et al*., 2009) สำหรับการปรับสภาพด้วยเบสมีรายงานว่าช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยา และสารละลายเบสยังเข้าไปละลายลิกนินโดยทำลายพันธะ ester bonds cross-linking ลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส ทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยสลายเซลลูโลสได้ง่าย (Jonsson and Martin, 2016) ดังนั้นจึงได้เลือกการปรับสภาพด้วยเบสในการปรับสภาพขี้เลื่อยไม้ยางพารา



ภาพที่ 1 น้ำตาลรวมที่ได้จากการย่อยขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับการให้ความร้อน และขี้เลื่อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบส ด้วยเอนไซม์ Accellerase 30 FPU/g glucan

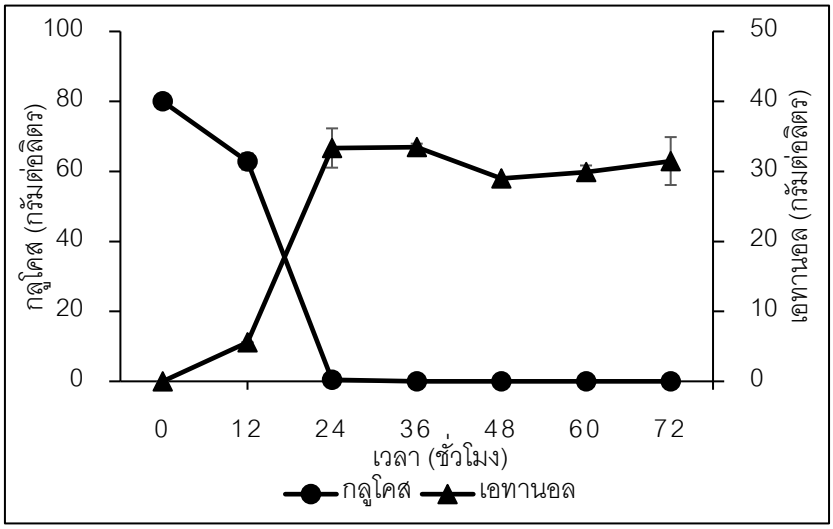


ภาพที่ 2 สารพิษที่เกิดจากการปรับสภาพขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยกรดร่วมกับการให้ความร้อนและจากการปรับสภาพด้วยเบส

การศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูงของเชื้อยีสต์ S. shehatae TTC79 ในอาหาร YPD ที่มีน้ำตาลกลูโคส 8%

โดยทั่วไปเชื้อยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส (Auesukaree *et al*., 2012) การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูง 40 องศาเซลเซียส ในอาหาร YPD ที่มีน้ำตาลกลูโคส 8% พบว่าเชื้อยีสต์ *S. shehatae* TTC79 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้หมดภายในชั่วโมงที่ 24 ของการหมักและผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 33.35 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3)

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า *S. shehatae* TTC79 มีประโยชน์ในการนำไปใช้ผลิตเอทานอลในสภาวะที่อุณภูมิสูง การใช้เชื้อยีสต์ที่ผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูงมีข้อดีหลายประการ เช่น ช่วยลดต้นทุนในการติดตั้งระบบหล่อเย็น ช่วยลดการปนเปื้อนและมีประโยชน์ในการหมักแบบ SSF (Kim *et al*., 2015)

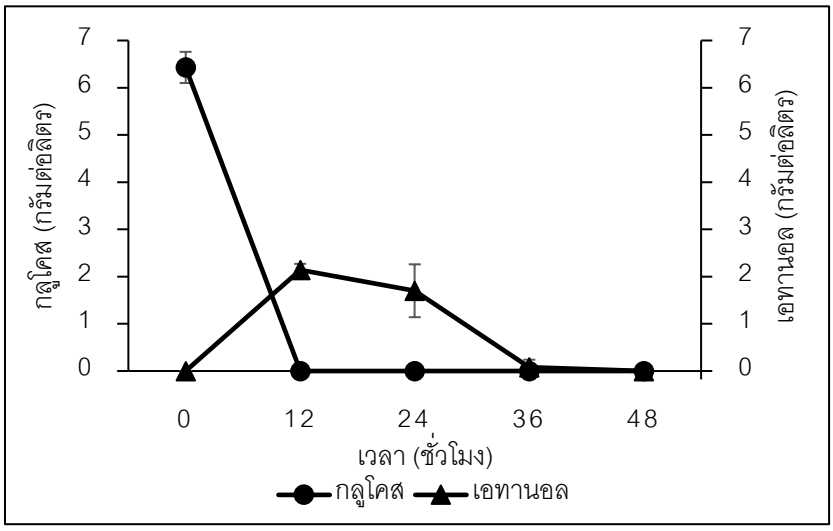


ภาพที่ 3 การผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ *S. shehatae* TTC79 จากอาหาร YPD ที่มีน้ำตาลกลูโคส 8% ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

การศึกษาการผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราโดยการหมักแบบมีกระบวนการย่อยและกระบวนการหมักในขั้นตอนเดียว (SSF)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยไม้ยางพารา โดยใช้ขี้เลื่อย 10% (w/v) มาทำการหมักแบบ SSF ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อยีสต์ *S. shehatae* TTC79 ใช้น้ำตาลกลูโคสหมดที่ 12 ชั่วโมงของการหมัก (ภาพที่ 4) ผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุด 2.14 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเอทานอล 0.33 กรัมต่อกรัม ผลผลิตเอทานอลทางทฤษฎี 65.13 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการผลิตเอทานอล 0.18 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง หลังจาก12 ชั่วโมงของการหมักพบว่าปริมาณเอทานอลลดลงอาจเนื่องมาจากยีสต์สามารถใช้เอทานอลในการเจริญหรือมีการระเหยของเอทานอลระหว่างการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบเอทานอลที่ได้จากขี้เลื่อยกับวัสดุลิกโนเซลลูโลสชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าขี้เลื่อยเหลือทิ้งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลได้ดี เชื้อยีสต์ *S. shehatae* TTC79 มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูงได้ดี มีผลผลิตเอทานอล ผลผลิตเอทานอลทางทฤษฎี และอัตราการผลิตเอทานอล สูงกว่าที่มีรายงานโดย Mussatto *et al*. (2012) และ Singh and Bishnoi (2013)



ภาพที่ 4 การผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราโดยการหมักแบบ SSF ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยเชื้อยีสต์ *S. shehatae* TTC79

ตารางที่ 1 การผลิตเอทานอลจากวัสดุลิกโนเซลลูโลสชนิดต่างๆ

วัสดุลิกโนเซลลูโลส	เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้	น้ำตาลรวมเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	ผลผลิตเอทานอล (กรัมต่อกรัม)	ผลผลิตเอทานอลทางทฤษฎี (เปอร์เซ็นต์)	แหล่งที่มา
ขี้เลื่อย	*S. shehatae* TTC79	6.43	2.14±0.13	0.18	0.33	65.13	การศึกษานี้
ผักตบชวา	*S. stipitis*[1]	35.0	6.20±1.90	0.17	0.26	50.0	Singh and Bishnoi (2013)
ฟางข้าว	*C. shehatae*[2]	24.45	9.81±0.40	-	0.46	-	Nopphakao *et al*. (2014)
เยื่อหุ้มกาแฟ	*P. stipitis*[3]	22.0	1.0	0.04	0.11	21.0	Mussatto *et al*. (2012)

หมายเหตุ: 1. หมายเลข [1] หมายถึง *Scheffersomyces stipitis*

2. หมายเลข [2] หมายถึง *Candida shehatae*

3. หมายเลข [3] หมายถึง *Pichia stipitis*

สรุปผลการวิจัย

การปรับสภาพขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยเบสสามารถให้น้ำตาลสูง 3.40 กรัมต่อลิตร และเกิดสารพิษน้อยกว่าการปรับสภาพขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยกรด เมื่อนำขี้เลื่อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบสมาผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อยีสต์ *S. shehatae* TTC79 สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 2.14 กรัมต่อลิตรที่ 12 ชั่วโมงของการหมัก จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ขี้เลื่อยไม้ยางพาราเหลือทิ้งสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ ทั้งนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและการย่อยขี้เลื่อยด้วยเอนไซม์เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้สำหรับการผลิตเอทานอล

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา “ทุน 72 ปี มก.” ประเภทที่ 1 ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. งบประมาณประจำปี 2560 (รหัสโครงการ ว-พ(ด) 15.60)

เอกสารอ้างอิง

Auesukaree, C., Koedrith, P., Saenpayavai, P., Asvarak, T., Benjaphokee, S., Sugiyama, M., Kaneko, Y., Harashima, S. and Boonchird, C. (2012). Characterization and gene expression profiles of thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* isolates from Thai fruits. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *114*(2), 144-149.

Choudhary, J., Singh, S. and Nain, L. (2016). Thermotolerant fermenting yeasts for simultaneous saccharification fermentation of lignocellulosic biomass. *Electronic Journal of Biotechnology*, *21*, 82-92.

Govumoni, S. P., Koti, S., Kothagouni, S. Y., Venkateshwar, S. and Linga, V. R. (2013). Evaluation of pretreatment methods for enzymatic saccharification of wheat straw for bioethanol production. *Carbohydrate Polymers*, *91*(2), 646-650.

Jonsson, L. J., and Martín, C. (2016). Pretreatment of lignocellulose: formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. *Bioresource Technology*, *199*, 103-112.

Kim, I., Lee, I., Jeon, S. H., Hwang, T., and Han, J. I. (2015). Hydrodynamic cavitation as a novel pretreatment approach for bioethanol production from reed. *Bioresource Technology*, *192*, 335-339.

Liu, Y., Zhang, G., Sun, H., Sun, X., Jiang, N., Rasool, A., Lin, Z. and Li, C. (2014). Enhanced pathway efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* by introducing thermo-tolerant devices. *Bioresource Technology*, *170*, 38-44.

Maurya, D. P., Singla, A., and Negi, S. (2015). An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech*, *5*(5), 597-609.

Mussatto, S. I., Machado, E. M., Carneiro, L. M., and Teixeira, J. A. (2012). Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strains from coffee industry wastes hydrolysates. *Applied Energy*, *92*, 763-768.

Nopphakao, C., Yuvadetkun, P., Keawlor, N., Thamnasrirangkul, T., Poobudcha, Y. and Boonmee, M. (2014). Evaluation of agricultural wastes for the use in ethanol production by *Candida shehatae* TISTR 5843. *KKU Research Journal, 12*, 11-18.

Oseghale, C.I. and Sideso, M.M. (2011). Effect of Temperature Variation on the Production of Ethanol from Sawdust. *Research Journal of Applied Sciences*, *6*(3), 205-208.

Senatham, S., Chamduang, T., Kaewchingduang, Y., Thammasittirong, A., Srisodsuk, M., Elliston, A., Roberts, L., Waldron, K. and Thammasittirong, N.S. (2016). Enhanced xylose fermentation and hydrolysate inhibitor tolerance of *Scheffersomyces shehatae* for efficient ethanol production from non-detoxified lignocellulosic hydrolysate. *SpringerPlus. 5*, 1040.

Shahsavarani, H., Hasegawa, D., Yokota, D., Sugiyama, M., Kaneko, Y., Boonchird, C. and Harashima, S. (2013). Enhanced bio-ethanol production from cellulosic materials by semi-simultaneous saccharification and fermentation using high temperature resistant *Saccharomyces cerevisiae* TJ14. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *115*(1), 20-23.

Singh, A., and Bishnoi, N. R. (2013). Comparative study of various pretreatment techniques for ethanol production from water hyacinth. *Industrial Crops and Products*, *44*, 283-289.

Zheng, Y., Pan, Z., and Zhang, R. (2009). Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, *2*(3), 51-68.

Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., and Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, *42*, 35-53.