

การผลิตบิวทานอลจากเปลือกถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117

Butanol production from soybean hulls by *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117

มานพ บุญเจริญ¹, ชุติมณฑน์ สติรพิพัฒนกุล²

หน่วยปฏิบัติการวิจัยวิศวกรรมเคมีเพื่อการผลิตมูลค่าเพิ่มจากทรัพยากรชีวภาพ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

¹ Manop.B@student.chula.ac.th

² Chutimon.S@chula.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาค้นคว้าการผลิตบิวทานอลจากเปลือกถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 โดยศึกษาสภาวะของการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายเปลือกถั่วเหลืองด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางและผลิตบิวทานอลจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พบว่า การย่อยสลายเปลือกถั่วเหลืองด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกร้อยละ 5 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในหม้อแรงดันสูง โดยผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 31.86 กรัมต่อลิตร อีกทั้งสารละลายน้ำตาลที่ได้การปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถนำมาใช้ผลิตบิวทานอลด้วยเชื้อ *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 (ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 30 กรัมต่อลิตร) คิดเป็นความเข้มข้นบิวทานอลเท่ากับ 11.82 กรัมต่อลิตร คิดเป็นความเข้มข้นตัวทำละลายรวมเท่ากับ 30.31 กรัมต่อลิตร

คำสำคัญ: บิวทานอล, ลิกโนเซลลูโลส, การหมัก

Abstract

Butanol production from soybean hulls by *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 was studied the condition of reducing sugar production of soybean hulls and butanol production from sugar solution by sulfuric acid hydrolysis. The optimal condition is solid/liquid ratio of 1:5 in 5%v/v sulfuric acid at 121°C 15 min high pressure and produce maximum reducing sugar concentration of 31.86 g/L. In addition, By cultivation of *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 using hydrolysate medium at the optimal initial sugar concentration (30 g/L) at 35 °C and pH 5.5, butanol concentration of 11.82 g/L and total solvent of 30.31 g/L

Keywords: butanol lignocellulosic biomass fermentation

1. บทนำ

บิวทานอล เป็นสารประกอบประเภทแอลกอฮอล์ นิยมนำมาใช้เป็นตัวทำละลายในกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมเคมี และเชื้อเพลิง เมื่อเปรียบเทียบกับเอทานอลในด้านเชื้อเพลิง บิวทานอลมีข้อดีหลายประการดังนี้ บิวทานอลมีพลังงานจากการสันดาปที่สูงกว่าเอทานอล

สามารถนำไปผสมในน้ำมันไบโอดีเซลเพื่อเพิ่มค่าออกเทนได้ มีความดันไอลดกว่าน้ำมันเบนซินเมื่อผสมกันจึงช่วยให้เครื่องยนต์ทำงานได้ดีกว่าเอทานอล ใช้เอทานอลผสม สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ดีกว่าเอทานอล เพราะออกซิเจนสามารถละลายได้มากกว่า ทำให้มีความเป็นพิษต่ำกว่าเอทานอลในขณะเกิดการสันดาป [1]

บิวทานอลจากกระบวนการหมักจำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยทางเศรษฐศาสตร์การลงทุน เช่น ค่าใช้จ่ายวัตถุดิบ, ค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงาน, ค่าติดตั้งอุปกรณ์ และค่าใช้จ่ายในการดำเนินการกระบวนการสำหรับกระบวนการหมักนั้น ค่าใช้จ่ายวัตถุดิบถือเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดสำหรับการเลือกกระบวนการผลิต [2] ดังนั้นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น เปลือกถั่วเหลืองจึงเป็นวัสดุเหมาะสม เพราะมูลค่าของวัสดุกลุ่มนี้มีราคาไม่แพง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงราคาตามความต้องการ และในกรณีประเทศเกษตรกรรมก็สามารถหาวัสดุดังกล่าวได้ตลอดทั้งปี

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการนำเปลือกถั่วเหลืองมาใช้ผลิตสารละลายน้ำตาลด้วยวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยกรดเจือจางและนำสารละลายน้ำตาลที่ได้มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตบิวทานอลด้วยเชื้อ *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 ในถังหมักแบบไร้อากาศที่มีการควบคุมอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับการหมัก

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 จุลินทรีย์

แบคทีเรีย *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 จาก American Type Culture Collection, Maryland, U.S.A.

2.2 การเตรียมเปลือกถั่วเหลืองและไฮโดรไลซิสด้วยกรด

นำเปลือกถั่วเหลืองมาบดให้มีขนาด 40 mesh และอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บในโถสุญญากาศ จากนั้นแช่เปลือกถั่วเหลืองในสารละลายกรดซัลฟิวริก ใช้สัดส่วนน้ำหนักเปลือกถั่วเหลืองแห้ง 1 กรัมต่อน้ำหนักสารละลายกรด 10 กรัม ที่ความเข้มข้นกรดต่างๆ นำไปไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายในหม้อแรงดันสูง สภาวะไฮโดรไลซิสที่ศึกษาแสดงดังตารางที่ 1

2.3 การกำจัดสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

นำสารละลายน้ำตาลปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8 ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และปล่อยให้เกิดการตกตะกอน 30 นาที กรอง

แยกตะกอนออก ปรับค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายให้เท่ากับ 5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร

ตารางที่ 1 สภาวะการไฮโดรไลซิสเปลือกถั่วเหลือง

สภาวะ	
ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (ร้อยละโดยปริมาตร)	0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5
เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (นาท)	15, 30, 45 และ 60
อัตราส่วนน้ำหนักของแข็งต่อน้ำหนักสารละลาย	1:5 และ 1:10

2.4 การเตรียมต้นเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Reinforced clostridium Medium (RCM) แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และใช้ริงส์ลัดตราไวโอเล็ตฆ่าเชื้อเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง จากนั้นนำกล้าเชื้อที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาทำการ heat shock ที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาแช่ในถังน้ำแข็งทันที จากนั้นทำการถ่ายเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านแก๊สไนโตรเจนในอัตราการใช้ 0.1 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 115 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.5 การเตรียมเชื้อในระดับขวดเขย่าและถึงหมัก 1 ลิตร

เตรียมสูตรอาหารที่มีส่วนประกอบดังนี้ : สารสกัดยีสต์ 0.504 กรัม, ไอรอนซัลเฟต 0.006 กรัม, แอมโมเนียมอะซิเตต 0.18 กรัม, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.018 กรัม และไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.03 กรัม ในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตรต่อ 1 ฟรากส์ นำไปฆ่าเชื้อตามวิธีข้อ 2.4 แล้วผ่านแก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 15 นาที ก่อนถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองที่ร้อยละ 10 โดยปริมาตรในอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 115 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วิธีการเตรียมเชื้อในถึงหมัก 1 ลิตร ใช้วิธีคล้ายคลึงกันเพียงแต่แยกการฆ่าเชื้อสารละลายน้ำตาลออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนจะนำมาผสมกันในตู้ปลอดเชื้อ แล้วผ่านแก๊สไนโตรเจน 20 นาที ก่อนจะถ่ายเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตรเข้าสู่อาหารผสม โดยมีตัวแปรควบคุมดังต่อไปนี้ ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 5.0 และควบคุมค่าความเป็นกรดต่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 นอร์มอลลิต์ และเก็บตัวอย่างครั้งละ 5 มิลลิลิตร ทุกๆ 6-12 ชั่วโมง

2.6 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

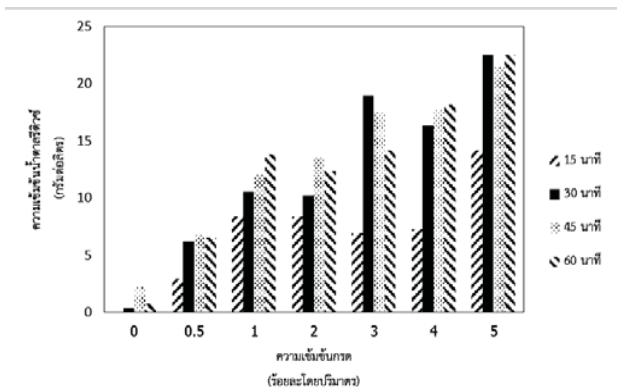
วิเคราะห์ความเข้มข้นเฟอร์ฟูรัลใช้การวิเคราะห์ค่าความขุ่นสารละลายเจือจางด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร วิเคราะห์ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร วิเคราะห์ความเข้มข้นเซลล์ด้วยวิธีการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง วัดค่าความขุ่นของเซลล์แห้งที่ค่าความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อสภาวะไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลือง

3.1.1 ผลของความเข้มข้นกรด

การศึกษาผลของความเข้มข้นกรดจากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 โดยปริมาตร ที่สภาวะเวลาในการทำปฏิกิริยาและอัตราส่วนของแข็งต่อสารละลายกรดเท่ากัน พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของกรดส่งผลให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเกิดได้มาก ทำให้มีน้ำตาลรีดิวซ์เป็นผลิตภัณฑ์สูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นกรด ดังรูปที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ R. Aguilar และคณะ [3] พบว่า ผลของความเข้มข้นกรดที่มากขึ้นส่งผลให้ได้น้ำตาลไฮโดรไลซิสที่สูงขึ้นตาม โดยที่ความเข้มข้นกรดเท่ากับร้อยละ 5 โดยปริมาตร เป็นความเข้มข้นกรดให้ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด เพราะเป็นการเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกรดให้สูงขึ้นตามการเพิ่มความเข้มข้นกรดเริ่มต้น แต่การเพิ่มความเข้มข้นกรดเริ่มต้นมีแนวโน้มจะทำให้เกิดสารอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัลมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ [4] นอกจากนี้ในงานวิจัยของ P. Lenihan และคณะ [5] ได้สรุปว่า การเพิ่มความเข้มข้นของกรดในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิสูงเป็นการเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น ในขณะที่เดียวกันการใช้กรดความเข้มข้นต่ำในการทำปฏิกิริยาสามารถช่วยให้น้ำตาลที่เกิดขึ้นไม่เกิดปฏิกิริยาเป็นสารข้างเคียง



รูปที่ 1 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากเปลือกถั่วเหลืองที่อัตราส่วนของแข็งต่อสารละลายกรด 1 ต่อ 10

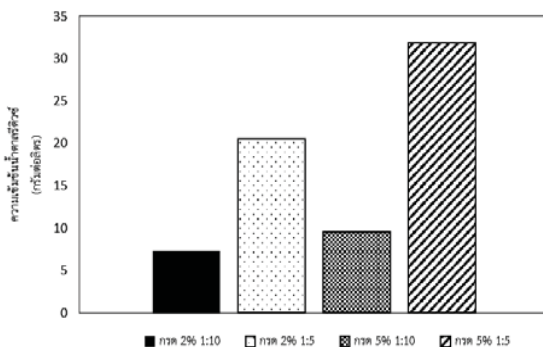
3.1.2 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

พิจารณาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลืองที่เวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นกรดและอัตราส่วนของแข็งต่อสารละลายกรดเท่ากัน พบว่า ช่วงความเข้มข้นกรดต่ำกว่าร้อยละ 2 โดยปริมาตร เวลาในการทำปฏิกิริยามีผลต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่าช่วงความเข้มข้นกรดสูงกว่าร้อยละ 2 โดย

ปริมาตร ดังรูปที่ 1 และน้ำตาลรีดิวซ์มีความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 22.5 กรัมต่อลิตร จากสภาวะปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ความเข้มข้นกรดร้อยละ 5 โดยปริมาตร เวลา 30 นาที ซึ่งข้อมูลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Abelardo Herrera และคณะ [6] ที่พบว่า ช่วงความเข้มข้นกรดร้อยละ 2 โดยปริมาตร ผลของเวลาการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกรดมีแนวโน้มการเกิดน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่าช่วงความเข้มข้นกรดร้อยละ 4 และ 6 โดยปริมาตร และเมื่อระยะเวลาในการทำปฏิกิริยามากขึ้นที่ความเข้มข้นกรดสูงจะมีน้ำตาลบางส่วนที่ถูกย่อยสลายเป็นผลิตภัณฑ์ข้างเคียงจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เช่น สารประกอบเฟอร์ฟูรัล

3.1.3 ผลของอัตราส่วนน้ำหนักรของแข็งต่อสารละลายกรด

การศึกษาผลของอัตราส่วนน้ำหนักรของแข็งต่อสารละลายกรด จากการทำให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นกรดร้อยละ 2 และ 5 เวลา 15 นาที โดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อสารละลายกรดเท่ากับ 1 : 5 และ 1 : 10 แสดงได้ดังรูปที่ 2 พบว่า การเพิ่มอัตราส่วนของแข็งต่อสารละลายกรดสามารถเพิ่มการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากขึ้น และได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 31.86 กรัมต่อลิตร ที่สภาวะอัตราส่วนของแข็งต่อสารละลายกรดเท่ากับ 1 : 5 ความเข้มข้นกรดร้อยละ 5 โดยปริมาตร ผลของอัตราส่วนน้ำหนักรของแข็งต่อสารละลายมีผลต่อความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้เนื่องจากการลดลงของปริมาณสารละลายกรด ทำให้ปริมาณตัวทำละลายลดลงตามไปด้วย ซึ่งเป็นผลให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้นตามโดยสอดคล้องกับผลการทดลองของการปรับสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวในงานวิจัยของ Xue-bing Zhao และคณะ [7] ซึ่งได้อธิบายว่าเป็นผลของการเพิ่มสารตั้งต้นที่เกิดขึ้นจากการลดลงของตัวทำละลาย ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์มากขึ้น

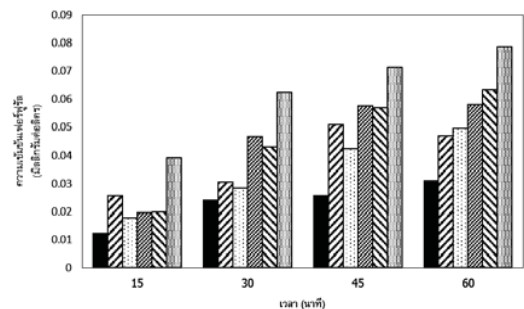


รูปที่ 2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากเปลือกถั่วเหลืองที่อัตราส่วนของแข็งต่อสารละลายกรด 1 ต่อ 10 และ 1 ต่อ 5

3.1.4 การเกิดสารยับยั้งเชื้อในระหว่างไฮโดรไลซิสด้วยกรด

การศึกษาผลของสภาวะปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พิจารณาการเกิดสารประกอบเฟอร์ฟูรัล โดยวัดความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ฟูรัลในแต่ละสภาวะในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลืองที่กรดซัลฟิวริก

ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 โดยปริมาตร ที่เวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที พบว่า สารประกอบเฟอร์ฟูรัลที่เกิดขึ้นในระหว่างปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นกรดแบบแปรผันตรง ในทำนองเดียวกันกับเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดสารยับยั้งเชื้อจึงเท่ากับ 15 นาที และที่สภาวะของการไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกร้อยละ 5 โดยปริมาตร เวลา 60 นาที ให้สารประกอบเฟอร์ฟูรัลสูงที่สุดเท่ากับ 0.0789 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 3 ซึ่งจากงานวิจัยของ Sjolander และคณะ [8] ได้พบว่าสารประกอบเฟอร์ฟูรัลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของวัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นสารยับยั้งเชื้อ *C.acetobutyricum* ในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Baugh และคณะ [9] ที่กล่าวว่าการเกิดสารประกอบเฟอร์ฟูรัลระหว่างปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลายที่อุณหภูมิสูง พบว่ามีน้ำตาลในเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสบางส่วนถูกเปลี่ยนเป็นเฟอร์ฟูรัล โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสารประกอบเฟอร์ฟูรัล ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นกรด และเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส



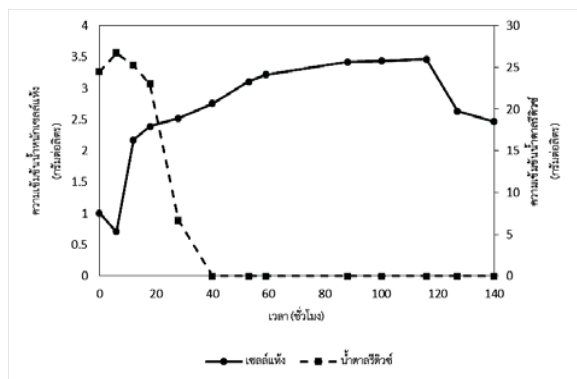
รูปที่ 3 ความเข้มข้นของสารประกอบเฟอร์ฟูรัลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่สภาวะต่างๆ

3.2 ผลการศึกษาการผลิตบิวทานอลจากสารละลายไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลือง

การศึกษาการผลิตบิวทานอลจากสารละลายไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลืองโดย *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 ในกระบวนการหมักแบบกะ ที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร ควบคุมสภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ที่สภาวะไร้ออกซิเจน ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.0 เป็นระยะเวลา 132 ชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 4 และ 5 ดังนี้

3.2.1 การใช้ น้ำตาลรีดิวซ์และการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการหมัก

น้ำตาลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลืองถูกใช้ในระหว่างการหมักและการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ แสดงดังรูปที่ 4 พบว่า ช่วงเวลาที่ 0 ถึง 12 ชั่วโมง อัตราการใช้น้ำตาลของเซลล์เป็นช่วงระยะของการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเซลล์ที่ไม่มีการเพิ่มจำนวน จากนั้นจึงมีการใช้น้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาที่ 18 ถึง 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์และสร้างผลิตภัณฑ์ จากเอกสารของ Mitchell [10] อธิบายไว้ว่า น้ำตาลในช่วงระยะเพิ่มจำนวนเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นไพรูเวตผ่านการเมตาโบไลต์ด้วยกระบวนการเอนโดเมเยอร์ฮอฟ-พานาส และผลิตเป็นผลิตภัณฑ์กรดและตัวทำละลายต่อไป สุดท้ายน้ำตาลถูกใช้จนหมดที่ช่วงเวลาที่ 40 ชั่วโมง และเริ่มเข้าสู่มีเซลล์หยุดการเพิ่มจำนวนและมีเซลล์บางส่วนที่เริ่มตาย ที่ช่วงเวลาที่ 116 ชั่วโมง

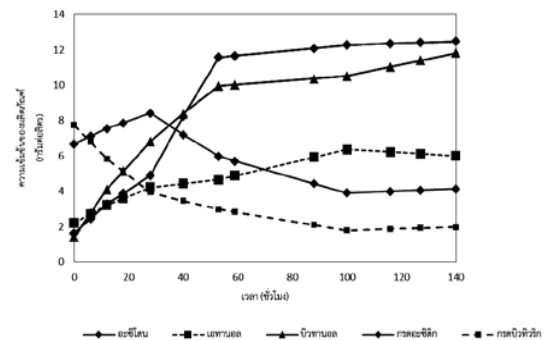


รูปที่ 4 น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้และปริมาณเซลล์ที่สร้างขึ้นระหว่างการหมักน้ำตาลจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 30 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดต่าง 5.0

3.2.2 ผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมัก

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักน้ำตาลที่ได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเปลือกถั่วเหลือง แสดงดังรูปที่ 5 พบว่า ช่วงเวลาที่ 0 ชั่วโมง ตัวทำละลาย (อะซิโตน เอทานอล และบิวทานอล) ยังไม่ถูกผลิต แต่มีความเข้มข้นกรด (อะซิติก และบิวทริก) เริ่มต้นที่สูง หลังจากช่วงเวลาที่ 18 ชั่วโมง มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยเซลล์ที่เพิ่มจำนวนจะเปลี่ยนกรดให้เป็นตัวทำละลายส่งผลให้ตัวทำละลายที่ช่วงเวลาดังกล่าวมีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นในขณะที่ความเข้มข้นกรดลดลง หลังจากน้ำตาลเริ่มหมดยังคงมีเซลล์บางส่วนที่ช่วงเวลาที่ 40 ถึง 53 ชั่วโมง สามารถเปลี่ยนกรดให้เป็นตัวทำละลายได้บางส่วน แต่เมื่อถึงช่วงเวลาหลังจาก 53 ชั่วโมง เป็นต้นไปเซลล์ไม่สามารถเปลี่ยนกรดให้เป็นตัวทำละลายได้เนื่องจากการขาดน้ำตาลในระบบ ส่งผลให้อัตราการผลิตกรดและผลิตภัณฑ์เริ่มคงที่ โดยพบว่าที่ชั่วโมงที่ 140 ซึ่งเป็นเวลาสุดท้ายของการหมักพบว่ามีปริมาณตัวทำละลายอะซิโตน เอทานอล และบิวทานอลเท่ากับ 12.48, 6.01 และ 11.82 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยคิดเป็นปริมาณตัวทำละลายรวมเท่ากับ 30.31 กรัมต่อลิตร

นอกจากนี้ยังพบว่า มีปริมาณกรดอะซิติก และบิวทริกเท่ากับ 4.13 และ 1.98 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นปริมาณกรดรวมเท่ากับ 6.11 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 5 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักน้ำตาลจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 60 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดต่าง 5.0

4.สรุป

จากผลการทดลองการผลิตบิวทานอลจากเปลือกถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยเชื้อ *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 โดยศึกษาสภาวะของการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายเปลือกถั่วเหลืองด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางและผลิตบิวทานอลจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลาย พบว่า การย่อยสลายเปลือกถั่วเหลืองด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางที่สภาวะเหมาะสม คือ ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกร้อยละ 5 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในหม้อแรงดันสูง โดยผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 31.86 กรัมต่อลิตร อีกทั้งสารละลายน้ำตาลที่ได้การปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถนำมาใช้ผลิตบิวทานอลด้วยเชื้อ *Clostridium saccharobutyricum* ATCC BAA117 (ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 30 กรัมต่อลิตร) คิดเป็นความเข้มข้นบิวทานอลเท่ากับ 11.82 กรัมต่อลิตร คิดเป็นความเข้มข้นตัวทำละลายรวมเท่ากับ 30.31 กรัมต่อลิตร

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากคณะวิศวกรรมศาสตร์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] A. Herrera, S. J. Tellez-Luis, Juan J. G. Cabriaes, J. A. Ramirez, M.Vazquez. "Effect of the Hydrochloric Acid Concentration on the Hydrolysis of Sorghum Straw at Atmospheric Pressure." *Journal of Food Engineering* 63, 2004, pp 103-109.
- [2] D.T.Jones, D. R.Woods. *Acetone-Butanol Fermentation Revisited*. American Society for Microbiology, 1986.
- [3] E. Palmqvist, B.H. Hagerdal. "Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates. II: Inhibitors and Mechanisms of Inhibition." *Bioresource Technology* 74, 2000, pp 25-33.
- [4] L. T. Fan, Y. H. Lee, M. M. Gharpuray. "The Nature of Lignocellulosics and Their Pretreatments for Enzymatic Hydrolysis." *Adv. Biochem. Eng.* 23, 1982, pp 158-187.
- [5] N. Qureshi, X. L. Li, S. Hughes, B. C. Saha and M. A. Cotta. "Butanol Production from Corn Fiber Xylan Using *Clostridium Acetobutylicum*." *Biotechnology Progress* 22, 2006, pp 673-680.
- [6] P. Lenihan, A. Orozco, E. O'Neil, M.N.M. Ahmad, D.W. Rooney, G.M. Walker. "Dilute Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass." *Chemical Engineering Journal* 156, 2010, pp 395-403.
- [7] Xue-bing Zhao, L. W. a. D.-h. L. "Effect of several factors on peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 82, 2007, pp 1115-1121
- [8] Sjolander N.O., Langlykke A.F., Peterson W.H., "Butyl Alcohol Fermentation of Wood Sugar." *Ind. Eng. Chem.* 30, 1938, pp 11.
- [9] Baugh, K. D. (1983) Rate of formation/decomposition and methane fermentability of autohydrolysis product from lignocellulose, Stanford University.
- [10] Mitchell W.J, *Physiology of carbohydrates to solvent conversion by clostridia*. Adv Microb Physio, 39, 1998, pp 31-130.