



การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุในกระบวนการปรับสภาพและย่อย
เส้นใยปาล์มด้วยเอนไซม์เพื่อการผลิตเอทานอล

**Application of Nonionic Surfactants in Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of
Palm Fiber for Ethanol Production**

จตุพร ปานทอง

Jatuporn Parnthong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Engineering in Chemical Engineering

Prince of Songkla University

2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุในกระบวนการปรับสภาพและ
 ย่อยเส้นใยปาล์มด้วยเอนไซม์เพื่อการผลิตเอทานอล

ชื่อผู้เขียน นางสาวจตุพร ปานทอง

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....

.....ประธานกรรมการ

(ดร.สุรัสวดี กังสนันท์)

(รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ)

.....กรรมการ

(ดร.สุรัสวดี กังสนันท์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทิมา ชั่งสิริพร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สินินาฏ จงคง)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
 เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ดร.สุรัสวดี กังสนันท์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวจตุพร ปานทอง)

นักศึกษา

(4)

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวจตุพร ปานทอง)

นักศึกษา

| | |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อวิทยานิพนธ์ | การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุในกระบวนการปรับสภาพและ ย่อยเส้นใยปาล์มด้วยเอนไซม์เพื่อการผลิตเอทานอล |
| ชื่อผู้เขียน | นางสาวจตุพร ปานทอง |
| สาขาวิชา | วิศวกรรมเคมี |
| ปีการศึกษา | 2556 |

บทคัดย่อ

งานวิจัยการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์ม ในการทดลองทำการศึกษาวิธีการปรับสภาพเส้นใยปาล์มที่เหมาะสมโดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และสารละลายสารลดแรงตึงผิว Triton X-100 ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากผลการทดลองพบว่า การปรับสภาพเส้นใยปาล์มโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถลดปริมาณลิกนินและเพิ่มปริมาณเซลลูโลสของเส้นใยปาล์มได้มากที่สุด จากนั้นศึกษาการย่อยเส้นใยปาล์มโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichogerna reesei* ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว โดยเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุสองชนิดคือ Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อย ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 5 ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว และเวลา จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม คือ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม กรณีใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการย่อย 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เวลาที่เหมาะสมในการย่อย 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 10.75 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 55.79 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว ส่วนกรณีใช้สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการย่อย 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เวลาที่เหมาะสมในการย่อย 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 10.05 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 45.65 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว จากนั้นศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดในกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยเปรียบเทียบการหมัก 3 วิธี คือ Separated

Hydrolysis and Fermentation (SHF), Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) และแบบมีการย่อยก่อนเข้าSSF ผลการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มปริมาณเอทานอลได้ทั้ง 3 วิธี โดยการหมักแบบSSF ได้เอทานอลปริมาณสูงสุดและใช้เวลาในการหมักน้อยที่สุด ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ให้ปริมาณเอทานอล 6.43 กรัมต่อลิตรหรือคิดเป็น 15.99 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว ส่วนระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ให้ปริมาณเอทานอล 6.02 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 23.89 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว ทั้งสองระบบใช้เวลาในการหมัก 48 ชั่วโมงเท่ากัน จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มการผลิตเอทานอลได้ เนื่องจากช่วยลดการดูดซับของเอนไซม์บนลิกนินในขั้นตอนการย่อย ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยดีขึ้น โดยสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลมากกว่าสารลดแรงตึงผิว Tween 80 เนื่องจากใช้ปริมาณน้อยกว่า นอกจากนี้จากการประเมินต้นทุนเบื้องต้นโดยพิจารณาจากสถานะการหมักที่เหมาะสม พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวจะช่วยลดต้นทุนการผลิตเอทานอลได้ อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตทั้งหมดจะมีความคุ้มค่าเชิงเศรษฐศาสตร์มากขึ้นหากมีการนำเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวมาใช้ใหม่ได้

Thesis Title Application of Nonionic Surfactants in Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis
 of Palm Fiber for Ethanol Production

Author Miss Jatuporn Parnthong

Major Program Chemical Engineering

Academic Year 2013

ABSTRACT

The nonionic surfactants were applied in the ethanol production from palm fibers. In the pretreatment step, the palm fibers were added with 10 %w/v pretreatment solutions which were sodium hydroxide, ammonium hydroxide, and Triton X-100. The mixture was stirred at 90 °C for 15 min. The result shows that sodium hydroxide was the most suitable pretreatment solution to removal lignin from palm fibers. Then, the nonionic surfactants--Tween80 and Tergitol 15-s-9 were selected to use in enzymatic hydrolysis of palm fibers at 50 °C and pH 5. The results showed that the optimum enzyme loading was 10 FPU/g palm fiber. The hydrolysis time was 72 hours. By adding with 0.25 %w/v of Tween80, 10.75 g/L of glucose could be produced which is 55.79% greater than the system without surfactant. In addition, the suitable concentration of Tergitol 15-s-9 was observed at 0.1 %w/v. This could produce 10.05 g/L of glucose which is 46.65% higher than that without surfactant. Subsequently, the effect of both surfactants on ethanol fermentation was examined. Three methods for ethanol production were selected which were Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF), Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) and prehydrolysis prior SSF. The results showed that both of Tween 80 and Tergitol 15-s-9 could enhance ethanol production for all methods as compared with those without surfactants. The SSF was the most suitable one due to providing the highest ethanol content and the fastest reaction time. The optimum condition for the system using Tween 80 is 4 %w/v yeast and 48 hours fermentation time. This could provide 6.02 g/L of ethanol concentration which is 15.99% higher than the one without surfactant. The optimum condition for the system using Tergitol 15-s-9 is 4 %w/v yeast and 48 hours fermentation time. As high as 6.43 g/L of ethanol concentration could be obtained. This is considered to be 23.89% greater than the

system without surfactant. The Tergitol 15-s-9 showed the greater performance on ethanol production than the Tween 80 due to producing similar ethanol content with using low concentration. However, from the preliminary economic assessment, it should be noted that the addition of surfactants could reduce the cost of the ethanol production process due to the increasing in ethanol productivity. However, in order to make the process economically feasible, the enzyme and surfactants could be recycled and reused.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.สุรัสวดี กังสนันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำความรู้และเอกสารข้อมูลที่เกี่ยวข้องในการทำงานวิจัย รวมทั้งแนะแนวทางในการแก้ปัญหา กระบวนการคิด ตลอดจนตรวจทานแก้ไขรายงานวิทยานิพนธ์ให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พกามาศ เกษณ์พัฒนานนท์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทิมา ชั่งสิริพร และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สินินาฏ จงคง คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาและให้คำแนะนำ เพื่อใช้ในการแก้ไขรายงานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ถูกต้องมากขึ้น

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยก๊าซชีวภาพ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ

ขอขอบพระคุณ บริษัท ทักษิณปาล์ม (2521) จำกัด จังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่สนับสนุนทุนวิจัยและอนุเคราะห์วัสดุดิบ ได้แก่ เส้นใยปาล์ม

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัยและคณะวิศวกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้จัดสรรทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สนับสนุนการทำวิจัยและทุนสนับสนุนการศึกษาในระหว่างการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณบุคลากรทุกท่านในภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด ตลอดจนขอขอบคุณทุกท่านที่มีได้กล่าวมา ณ ที่นี้ด้วย ที่มีส่วนช่วยเป็นกำลังใจในการทำวิจัยและให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

จตุพร ปานทอง

สารบัญ

| เรื่อง | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| สารบัญ | (10) |
| รายการตาราง | (12) |
| รายการภาพประกอบ | (13) |
| บทที่ | |
| 1. บทนำ | 1 |
| 1.1 บทนำตั้งเรื่อง | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ | 2 |
| 1.3 ขอบเขตงานวิจัย | 3 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 3 |
| 2. ตรวจสอบเอกสาร | 5 |
| 2.1 ปาล์มน้ำมัน | 5 |
| 2.2 องค์ประกอบของพืช | 6 |
| 2.3 เอทานอล | 11 |
| 2.4 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส | 12 |
| 2.5 สารลดแรงตึงผิว | 21 |
| 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 28 |
| 3. วิธีการวิจัย | 38 |
| 3.1 วัสดุ | 38 |
| 3.2 อุปกรณ์ | 38 |
| 3.3 สารเคมี | 41 |
| 3.4 วิธีดำเนินการวิจัย | 42 |
| 4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง | 49 |
| 4.1 ผลการปรับสภาพเส้นใยปาล์ม | 49 |
| 4.2 ผลการศึกษาปริมาณเอโนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม | 51 |
| 4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวและเวลาที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม | 53 |

สารบัญ (ต่อ)

| เรื่อง | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------|------|
| 4.4 ผลการศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมต่อการย่อยเส้นใยปาล์ม | 57 |
| 4.5 ผลการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอล | 57 |
| 4.6 ผลการประเมินต้นทุนเบื้องต้นในการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในการผลิตเอทานอล | 65 |
| 5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ | 69 |
| 5.1 สรุปผลการทดลอง | 69 |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ | 70 |
| บรรณานุกรม | 71 |
| ภาคผนวก | 76 |
| ภาคผนวก ก | 76 |
| ภาคผนวก ข | 81 |
| ภาคผนวก ค | 83 |
| ภาคผนวก ง | 91 |
| ภาคผนวก จ | 93 |
| ภาคผนวก ฉ | 96 |
| ประวัติผู้เขียน | 100 |

รายการตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|------------------------------------------------------------------|------|
| 2-1 | องค์ประกอบของพืชชีวมวล | 11 |
| 2-2 | ข้อดีและข้อเสียของวิธีการปรับสภาพแต่ละวิธี | 14 |
| 2-3 | โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ | 23 |
| 2-4 | คุณสมบัติที่สำคัญต่างๆของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ | 24 |
| 2-5 | สรุปสถานะในขั้นตอนต่างๆของการผลิตเอทานอลจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 35 |
| 4-1 | องค์ประกอบของเส้นใยปาล์ม | 49 |
| 4-2 | องค์ประกอบของเส้นใยปาล์มก่อนและหลังปรับสภาพ | 50 |
| 4-3 | ต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธี SSF | 66 |
| 4-4 | ต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธี SSF | 66 |
| 4-5 | ต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธี SSF with prehydrolysis | 67 |

รายการภาพประกอบ

| | ภาพประกอบที่ | หน้า |
|------|------------------------------------------------------------------|------|
| 1-1 | แผนผังสรุปขอบเขตของงานวิจัย | 4 |
| 2-1 | ลักษณะโครงสร้างของพีชติกโนเซลลูโลส | 7 |
| 2-2 | ลักษณะโครงสร้างของเซลลูโลส | 8 |
| 2-3 | ลักษณะโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส | 9 |
| 2-4 | ลักษณะโครงสร้างของลิกนิน | 10 |
| 2-5 | โครงสร้างของเส้นใยพีชก่อนและหลังปรับสภาพ | 13 |
| 2-6 | กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส | 17 |
| 2-7 | การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล | 18 |
| 2-8 | วิธีการหมักเอทานอล | 20 |
| 2-9 | โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว | 22 |
| 2-10 | การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวในสถานะต่างๆ | 25 |
| 2-11 | การเกิดไมเซลในสารละลายของสารลดแรงตึงผิว | 25 |
| 2-12 | ลักษณะของไมเซล | 26 |
| 2-13 | ตัวอย่างรูปร่างไมเซลของสารลดแรงตึงผิว | 26 |
| 2-14 | การจับกันของน้ำมันและส่วนที่ไม่มีขั้วของสารลดแรงตึงผิว | 27 |
| 3-1 | ลักษณะของเส้นใยปาล์ม | 38 |
| 3-2 | เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) | 40 |
| 3-3 | เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer รุ่น HP 8453 | 40 |
| 3-4 | เครื่อง GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 | 40 |
| 3-5 | เส้นใยปาล์มหลังลดขนาด | 42 |
| 3-6 | ทะลายปาล์มในสารละลายที่ใช้ปรับสภาพ | 43 |
| 3-7 | เส้นใยปาล์มอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ | 44 |
| 3-8 | ขวดตัวอย่างการย่อยเส้นใยปาล์ม (ขนาดขวดตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร) | 45 |
| 3-9 | ขวดตัวอย่างการหมักเอทานอลแบบ SHF (ขวดตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร) | 46 |
| 3-10 | ขวดตัวอย่างการหมักเอทานอลแบบ SSF (ขวดตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร) | 47 |

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

| ภาพประกอบที่ | หน้า | |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4-1 | ลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์มก่อนและหลังปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ | 51 |
| 4-2 | ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเทียบกับเวลาจากการย่อยเส้นใยปาล์ม โดยใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสต่างกัน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 52 |
| 4-3 | ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเทียบกับเวลาจากการย่อยเส้นใยปาล์ม โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน pH 5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 54 |
| 4-4 | ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเทียบกับเวลาจากการย่อยเส้นใยปาล์ม โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน pH 5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 54 |
| 4-5 | ลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์มหลังผ่านการย่อย | 56 |
| 4-6 | ปริมาณเอทานอล ณ เวลาต่างกัน จากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 58 |
| 4-7 | ปริมาณเอทานอล ณ เวลาต่างกัน จากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 58 |
| 4-8 | ปริมาณเอทานอล ณ เวลาต่างกัน จากการหมักเอทานอลด้วยสารละลายที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวเปรียบเทียบกับหมักที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว ที่ปริมาณยีสต์ขุ่นมบ่ง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 59 |

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

| ภาพประกอบที่ | | หน้า |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 4-9 | ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักแบบ SSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tween 80 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 61 |
| 4-10 | ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักแบบ SSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 61 |
| 4-11 | ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักเอทานอลแบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tween 80 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิการ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 63 |
| 4-12 | ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักเอทานอลแบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที | 63 |
| 4-13 | ปริมาณเอทานอลที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมักเปรียบเทียบระหว่างการหมักแบบ SHF SSF และแบบ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF | 65 |
| 4-14 | แผนผังสรุปกระบวนการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์ม | 68 |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

เอทานอล (Ethanol) นับเป็นทางเลือกหนึ่งของพลังงานทดแทนพลังงานจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียมที่น่าสนใจ โดยเอทานอลสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับยานยนต์ได้โดยตรงเพื่อทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล หรืออาจนำมาผสมกับน้ำมันเบนซินกลายเป็นน้ำมันเชื้อเพลิงที่เรียกว่าแก๊สโซฮอล์ ซึ่งเอทานอลสามารถทดแทนสารเพิ่มค่าออกเทน คือ Methyl Tertiary Butyl Ether (MTBE) สามารถช่วยลดปัญหามลพิษทางอากาศ เนื่องจากสาร MTBE เป็นสารที่ก่อให้เกิดมลภาวะ ช่วยประหยัดเงินตราต่างประเทศในการนำเข้า MTBE และน้ำมันเชื้อเพลิงได้ เอทานอลสามารถผลิตได้จากพืชผลทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของแป้งและน้ำตาลสูง เช่น ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง เป็นต้น เป็นการช่วยแก้ปัญหาผลผลิตทางการเกษตรล้นตลาด ส่งผลให้ผลผลิตทางการเกษตรเหล่านี้จำหน่ายได้ในราคาที่ดีขึ้น เป็นการสร้างความมั่นคงทางด้านพลังงานจากการใช้วัตถุดิบที่ผลิตได้ภายในประเทศ แต่อย่างไรก็ตามพืชผลทางการเกษตรเหล่านี้จัดเป็นพืชที่อยู่ในวงจรอาหาร หากนำมาผลิตเป็นเอทานอลอาจส่งผลกระทบต่อปริมาณความต้องการในด้าน การบริโภคถ้าปริมาณการเพาะปลูกมีไม่เพียงพอ

นอกจากพืชผลทางการเกษตรข้างต้นเส้นใยประเภทเซลลูโลสจากวัสดุชีวมวลเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ชานอ้อย ฟางข้าว ชังข้าวโพด ชี้เลื่อย เส้นใยปาล์ม ทะลายปาล์ม ยังสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้เช่นเดียวกัน โดยการนำเส้นใยเหล่านี้มาผ่านการปรับสภาพ (Pretreatment) เพื่อสลายโครงสร้างที่เป็นอุปสรรคต่อการย่อย เช่น การใช้กรด ค่างไอน้ำ เป็นต้น จากนั้นก็จะนำวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพแล้วมาเข้าสู่กระบวนการย่อย (Hydrolysis) เส้นใยพวกเซลลูโลสจากพืชชีวมวลให้กลายเป็นโมเลกุลของน้ำตาล ก่อนที่จะนำไปหมักเป็นเอทานอลต่อไป เทคนิคที่ใช้ในการย่อยเส้นใย มีด้วยกันหลายวิธี เช่น การใช้กรดแก่ กรดอ่อน เอนไซม์ เป็นต้น

เส้นใยปาล์มเป็นวัสดุเหลือทิ้งประเภทลิกโนเซลลูโลส พบเป็นจำนวนมากตามโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โรงงานผลิตไบโอดีเซล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งมีความเป็นไปได้ในการนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล ถือเป็น การเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งและสร้างรายได้ให้กับโรงงานอีกทางหนึ่งได้ การผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มสามารถ

ทำได้โดยนำเอนไซม์มาใช้ในขั้นตอนของการย่อย เนื่องจากเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพสูง ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีความจำเพาะ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงและมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่การผลิตเอนไซม์โดยใช้เอนไซม์มีต้นทุนที่ค่อนข้างสูง อันเนื่องมาจากราคาของเอนไซม์ที่มีราคาแพง ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การเติมสารลดแรงตึงผิวในขั้นตอนการย่อยเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดต้นทุนการผลิตเอนไซม์ได้ เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้ได้ปริมาณเอนไซม์สูงขึ้นด้วย โดยสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ได้ดีที่สุด

งานวิจัยนี้สนใจศึกษาการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุในกระบวนการผลิตเอนไซม์จากเส้นใยปาล์ม โดยศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพเส้นใยปาล์มที่แตกต่างกัน คือ การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และสารละลายสารลดแรงตึงผิว Triton X-100 โดยเลือกวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสและลดปริมาณลิกนินของเส้นใยปาล์มได้มากที่สุดเป็นวิธีที่เหมาะสม ในขั้นตอนการย่อยทำการศึกษาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อ *Trichoderma reesei* ชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุซึ่งมีโครงสร้างแตกต่างกันต่อการย่อย คือ Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 และเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อย ตลอดจนศึกษาผลของการใช้สารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอนไซม์ด้วยวิธีหมักแบบ Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF), Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) และการหมักแบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้าSSF และการประเมินต้นทุนเบื้องต้น ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในกระบวนการผลิตเอนไซม์จากเส้นใยปาล์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาวิธีการปรับสภาพเส้นใยปาล์มที่เหมาะสมก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยสำหรับการผลิตเอนไซม์

1.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์มด้วยเอนไซม์ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลที่มากที่สุด

1.2.3 ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอนไซม์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพเส้นใยปาล์มที่เหมาะสมโดยเปรียบเทียบการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และสารละลายสารลดแรงตึงผิว Triton X-100 ณ ความเข้มข้นของสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

1.3.2 ศึกษาตัวแปรที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์ม อาทิ ปริมาณเอนไซม์ เซลลูเลส เวลา ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวพร้อมทั้งศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลที่มากที่สุด ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 5 อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

1.3.3 ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอลด้วยระบบ SHF เปรียบเทียบกับระบบ SSF และระบบที่มีการ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF ณ pH 5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

1.3.4 ประเมินต้นทุนเบื้องต้นในการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในการผลิตเอทานอล
แผนผังสรุปขอบเขตของงานวิจัยแสดงดังภาพประกอบที่ 1-1

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

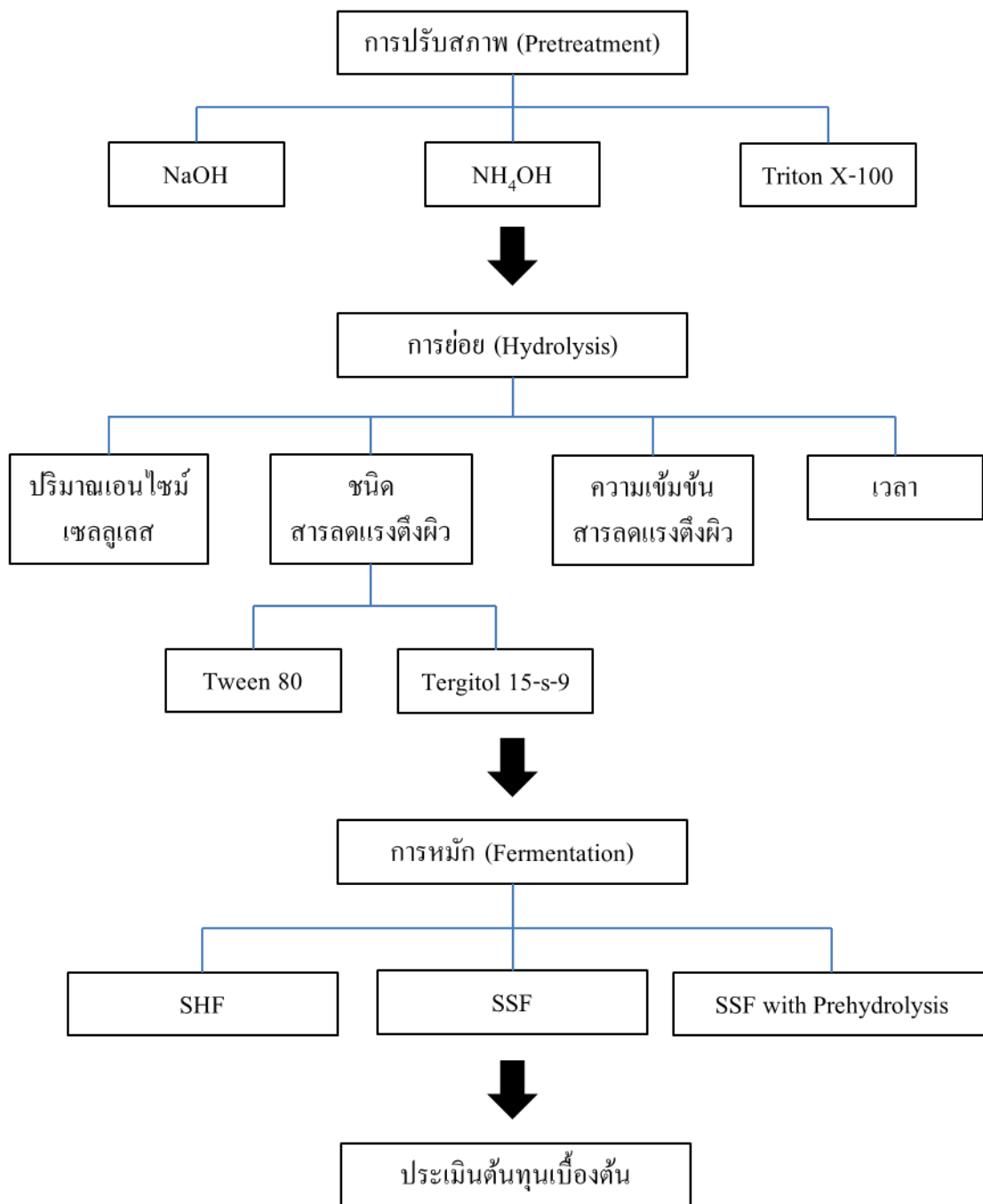
1.4.1 สร้างองค์ความรู้ใหม่ในการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในการผลิตเอทานอลจากพืชชีวมวล

1.4.2 สามารถเพิ่มมูลค่าพืชชีวมวลเหลือทิ้งในท้องถิ่นได้

1.4.3 เป็นการเพิ่มทางเลือกในการผลิตพลังงานทดแทน

1.4.4 สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการประกอบอาชีพได้

แผนผังสรุปขอบเขตของงานวิจัย



ภาพประกอบที่ 1-1 แผนผังสรุปขอบเขตของงานวิจัย

บทที่ 2

ตรวจสอบเอกสาร

2.1 ปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมัน (Oil palm) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกาเป็นพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่สูงกว่าพืชน้ำมันทุกชนิด สามารถนำมาแปรรูปเป็นทั้งในรูปแบบของน้ำมันพืชที่ใช้ในการประกอบอาหาร และใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ขนมขบเคี้ยว บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป นมข้นหวาน ครีมและเนยเทียม เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทนไบโอดีเซลเพื่อช่วยลดการใช้ น้ำมันดีเซลถือเป็นการเพิ่มความมั่นคงทางด้านพลังงานให้กับประเทศ (ตลาดไทยรอบรู้, 2556)

2.1.1 การปลูกปาล์มน้ำมัน

การปลูกปาล์มน้ำมันเหมาะสมกับสภาพอากาศร้อนชื้น โดยเฉพาะในแถบบริเวณประเทศเขตร้อนชื้น ดังนั้นปาล์มน้ำมันจึงเจริญเติบโตได้ดีในภาคใต้ของประเทศไทย สำหรับการปลูกปาล์มน้ำมันในภาคใต้ เริ่มเมื่อประมาณปี พ.ศ. 2511 ในพื้นที่จังหวัดสตูลและจังหวัดกระบี่ การปลูกและอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันได้พัฒนาขึ้นมาอย่างต่อเนื่อง ในปี พ.ศ. 2544 การปลูกปาล์มน้ำมันได้กระจายไปหลายจังหวัดในพื้นที่ภาคใต้ คาดว่ามีพื้นที่ปลูกกว่า 1.8 ล้านไร่ โดยเป็นปาล์มที่ให้ผลผลิตแล้วประมาณ 1.3 ล้านไร่ คิดเป็นผลผลิตทะลายปาล์มสดประมาณ 3.7 ล้านตัน ส่งผลให้ภาคใต้จัดเป็นภาคที่ผลิตน้ำมันปาล์มมากที่สุด บริเวณพื้นที่ที่ปลูกมากที่สุดคือจังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูลและจังหวัดตรัง โดยจังหวัดกระบี่ เป็นจังหวัดที่ปลูกมากที่สุดจำนวน 537,657 ไร่ คิดเป็น 39.40 เปอร์เซ็นต์ และรองลงมา ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 405,213 ไร่ และจังหวัดชุมพร จำนวน 216,798 ไร่ คิดเป็น 29.70 และ 15.89 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศตามลำดับ (คลังข้อมูลระดับภูมิภาค (ภาคใต้), 2556)

ในภาคใต้ของประเทศไทยจึงมีโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม โรงงานผลิตไบโอดีเซลตั้งอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งในกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มนอกจากได้น้ำมันปาล์มเป็นผลผลิตหลักแล้วยังก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งจากการสกัดน้ำมันปาล์มอีกเป็นจำนวนมาก

2.1.2 วัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (ยุทธศักดิ์, 2550)

2.1.2.1 ทะลายปาล์ม (Bunch trash) ถูกแยกออกมาหลังจากอบนึ่งแล้วมีประมาณ 55-58 เปอร์เซ็นต์ของปาล์มทั้งทะลาย

2.1.2.2 กากเยื่อใยปาล์ม (Palm press fiber, PPF) เป็นส่วนของเปลือกผลปาล์มที่หีบน้ำมันออกมาแล้ว มีประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ของปาล์มทั้งทะลาย

2.1.2.3 กากเมล็ดปาล์มน้ำมัน (Oil palm seed meal, PSM) ได้จากการสกัดน้ำมันของเมล็ดในปาล์ม ซึ่งจะมีทั้งกะลาและเนื้อปาล์ม

2.1.2.4 เนื้อในเมล็ดปาล์ม (Palm kernel) เป็นส่วนที่แยกกะลาออกแล้วมีประมาณ 4-5 เปอร์เซ็นต์ของปาล์มทั้งทะลาย

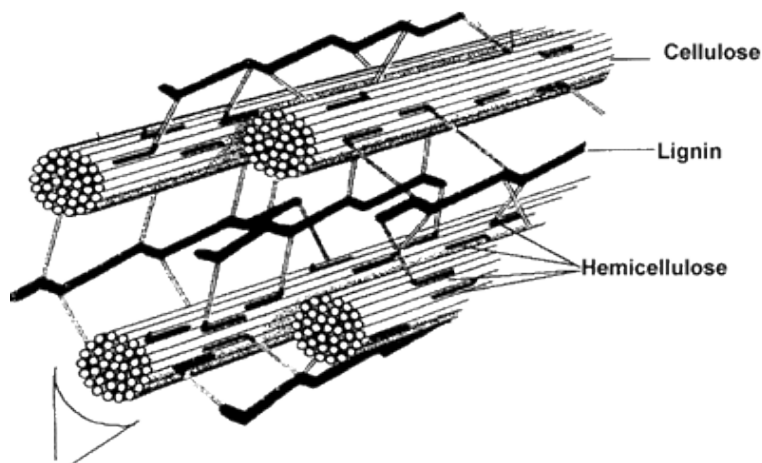
2.1.2.5 กากผลปาล์ม (Oil palm meal, PM) จะประกอบด้วยเปลือกนอก (Husk) กะลา (Nut shell) และเนื้อในของเมล็ด (Palm kernel)

2.1.2.6 กะลาปาล์ม มีประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ของผลปาล์มทั้งทะลาย

กากปาล์มน้ำมันที่ได้จากการสกัดน้ำมันปาล์มดิบทั้งในส่วนของเส้นใย กะลาและทะลายเปล่านั้น สามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ เรียกว่า “ชีวมวล” พลังงานชีวมวลเป็นพลังงานที่สะสมอยู่ในพืช โดยพืชจะเปลี่ยนพลังงานจากแสงอาทิตย์มาเก็บไว้ในส่วนต่างๆ เช่น ต้นปาล์ม น้ำมันจะสะสมพลังงานไว้ทุกส่วน ตั้งแต่ผลปาล์ม เส้นใย กะลาปาล์ม และทะลายปาล์มเปล่า ดังนั้นเศษเหลือใช้ของต้นปาล์มน้ำมันจึงสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อให้พลังงานได้ เรียกว่า “พลังงานชีวมวล” (คลังข้อมูลระดับภูมิภาค (ภาคใต้), 2556) โดยส่วนใหญ่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจะนำวัสดุเหล่านี้ไปใช้เป็นเชื้อเพลิงให้กับหม้อผลิตไอน้ำ (Boiler) เพื่อนำไอน้ำไปนึ่งทะลาย และผลิตกระแสไฟฟ้าสำหรับใช้ในโรงงาน นอกจากนี้ก็มีการนำไปเป็นวัสดุในการเพาะเห็ด และเป็นส่วนผสมในการทำปุ๋ย เป็นต้น (ธีระพงศ์, 2551)

2.2 องค์ประกอบของพืช

พืชมีลักษณะ โครงสร้างอยู่ในรูปของผลึกเชิงซ้อนอันประกอบไปด้วยเซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin) หรือรวมกันเรียกว่าลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ดังภาพประกอบที่ 2-1 เปอร์เซ็นต์ของแต่ละองค์ประกอบจะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของพืชโดยส่วนใหญ่พืชจะมีองค์ประกอบของเซลลูโลสประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 20-30 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 10-20 เปอร์เซ็นต์ (อรุณี, 2555)



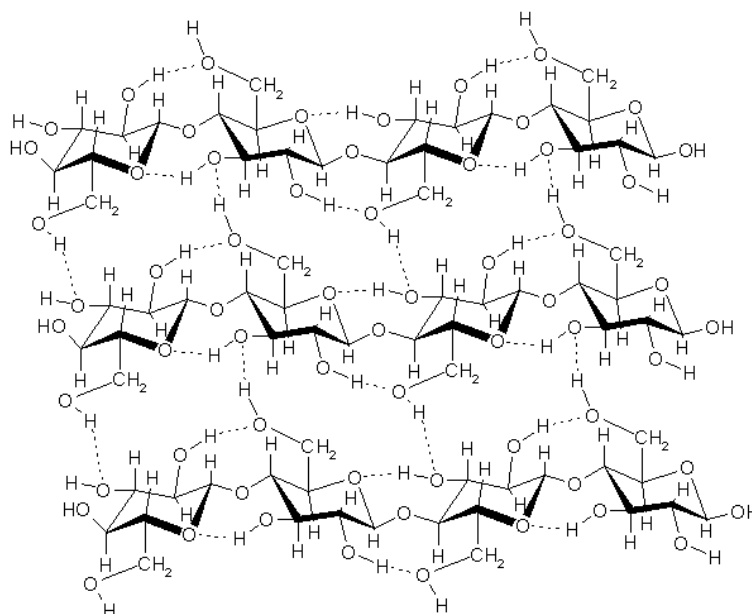
ภาพประกอบที่ 2-1 ลักษณะโครงสร้างของพืชลิกโนเซลลูโลส

ที่มา: <http://lignofuel.wordpress.com/2010/09/15/lignocellulose>

(สืบค้นเมื่อ 28 มกราคม 2557)

2.2.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส (Glucose) มีลักษณะเป็นลูกโซ่ของดีกลูโคส (D-glucose) เรียงตัวเกาะกันด้วยพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิก (B-1,4-glycosidic bond) ซึ่งมีความยาวต่างกันไป และจับกับลูกโซ่ข้างเคียงด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) เกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่า ไฟบริล (Fibrils) และแต่ละไฟบริลจะเรียงต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนซึ่งทำให้เกิดการติดกันขึ้นมา เซลลูโลสจะฝังตัวอยู่ในของเหลวที่มีรูปร่างไม่แน่นอน เรียกว่า เมทริกซ์พอลิแซ็กคาไรด์ (Matrix polysaccharide) เซลลูโลสในรูปอิสระมักรวมกับลิกนิน เฮมิเซลลูโลส เพนโตแซน ยางเหนียว แทนนิน ไบมัน และสารเกิดสี โครงสร้างทางกายภาพของผนังเซลล์พืชมีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบที่สำคัญซึ่งเป็นหน่วยเล็กๆที่ประกอบรวมเป็นเนื้อเยื่อพืช ในเซลล์พืชมีโปรโตพลาสซึมและสารหล่อเลี้ยงในเซลล์ โดยมีเยื่อบางๆที่ไม่มีสี เรียกว่า เซลล์เมมเบรน (Cell membrane) ห่อหุ้มอยู่ เซลลูโลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ที่แตกต่างกับแป้ง คือ มีการจัดเรียงตัวที่แตกต่างกัน เอนไซม์ที่สามารถย่อยเป็นน้ำตาลได้จึงเป็นคนละชนิดกัน เอนไซม์ที่ย่อยเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยว คือ เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase enzyme) (นคร, 2550) ลักษณะทางกายภาพของเซลลูโลสและการเรียงตัวของกลูโคสในเซลลูโลสแสดงดังภาพประกอบที่ 2-2



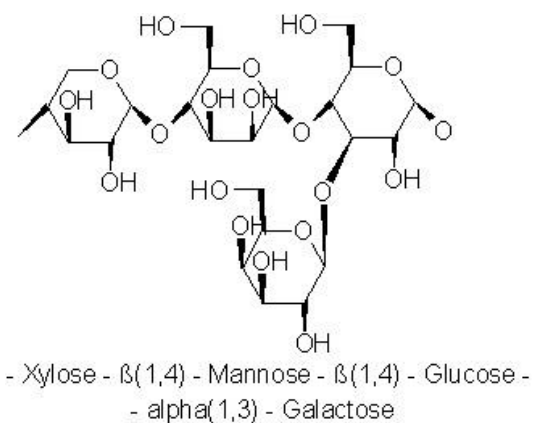
ภาพประกอบที่ 2-2 ลักษณะโครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา: http://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/wood/structure_wood_pt1.php

(สืบค้นเมื่อวันที่ 10 ธันวาคม 2556)

2.2.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

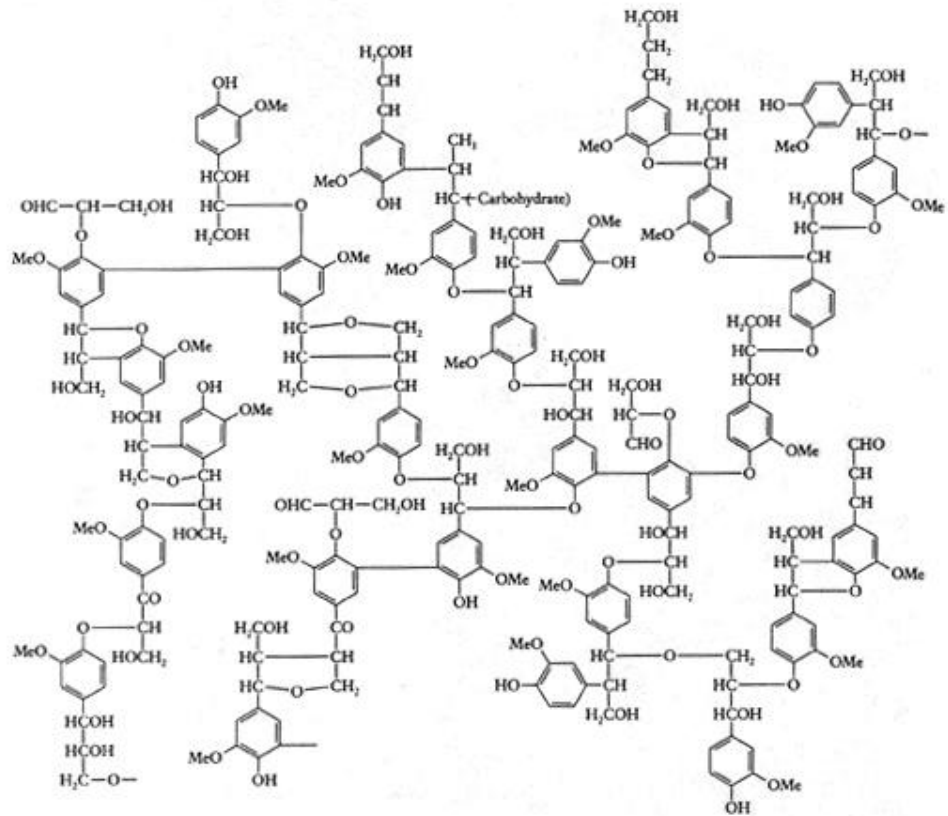
เป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงพบมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ประกอบด้วยไซแลน (Xylans) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส (Xylose) แมนแนน (Mannans) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส (Mannose) และกาแล็กแทน (Galactans) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกาแล็กโทส (Galactose) นอกจากนี้ยังมีกลูโคแมนแนนซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแมนโนส ไซโลกลูแคนประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลกลูโคส และแคลโลส (Callose) จัดเป็นเฮมิเซลลูโลสซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสที่เกาะกันด้วยพันธะเบต้า-1,3-ไกลโคซิดิก (B-1,3-glycosidic bond) ซึ่งจะพบบริเวณปลายเซลล์ของท่ออาหาร สามารถถูกย่อยด้วยสารละลายกรดเจือจางและสามารถละลายได้ดีในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นคร, 2550) โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสแสดงดังภาพประกอบที่ 2-3



ภาพประกอบที่ 2-3 ลักษณะโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส (Dutta และคณะ, 2012)

2.2.3 ลิกนิน (Lignin)

เป็นพอลิเมอร์ของหน่วย P-Hydroxyphenylpropane เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ C-C และพันธะ C-O-C อาจกล่าวได้ว่าลิกนินเป็นพอลิเมอร์พวกฟีนอลิกที่เป็นสามมิติ (Three dimension phenolic compounds) ซึ่งมีโครงสร้างที่แข็งแรง ไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น เอทานอลหรือเมทานอลที่ร้อนหรือในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นคร, 2550) โครงสร้างของลิกนินแสดงดังภาพประกอบที่ 2-4



ภาพประกอบที่ 2-4 ลักษณะ โครงสร้างของลิกนิน

ที่มา: <http://www.lignoworks.ca/content/what-lignin>

(สืบค้นเมื่อ 21 มกราคม 2557)

โดยพืชชีวมวลแต่ละชนิดจะมีปริมาณองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินไม่เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 องค์ประกอบของพืชชีวมวล

| ชีวมวล | องค์ประกอบ (เปอร์เซ็นต์) | | |
|--------------------|--------------------------|--------------|--------|
| | เซลลูโลส | เฮมิเซลลูโลส | ลิกนิน |
| ลำต้นไม้เนื้อแข็ง* | 40-55 | 24-40 | 18-25 |
| ลำต้นไม้เนื้ออ่อน* | 45-50 | 25-35 | 25-35 |
| เปลือกถั่ว* | 25-30 | 25-30 | 30-40 |
| แกนฝักข้าวโพด* | 45 | 35 | 15 |
| หญ้า* | 25-40 | 35-50 | 10-30 |
| เส้นใยปาล์ม** | 42.7 | 33.5 | 13.2 |

ที่มา: * (Sun และคณะ, 2002) ** (Shinoj และคณะ, 2013)

2.3 เอทานอล

เอทานอล หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ คือ แอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งซึ่งเกิดจากการนำเอาพืชมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นจึงเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้เอนไซม์หรือกรดบางชนิดช่วยย่อย เพื่อทำให้เป็นแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์โดยการกลั่น มีสูตรเคมีคือ C_2H_5OH มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ติดไฟง่าย มีความไวไฟและค่าออกเทนสูง มีน้ำหนักโมเลกุล 46.07 ความหนาแน่น 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว -114.1 องศาเซลเซียส จุดเดือด 78.5 องศาเซลเซียส สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย อาทิ ใช้ผลิตอาหาร และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม เป็นต้น (วิโรจน์, 2553) นอกจากนี้เอทานอลยังมีประโยชน์ในด้านการนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนพลังงานจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียมได้อีกด้วย

2.3.1 ประโยชน์ของเอทานอลในด้านเชื้อเพลิง

เอทานอลที่นำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงมีความบริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์ และ 99.5-99.6 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ 3 รูปแบบ ดังนี้ (นคร, 2550)

2.3.1.1 เอทานอลความบริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้โดยตรงเพื่อทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล ใช้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง สำหรับในเครื่องยนต์ดีเซลสามารถใช้เอทานอลบริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์ ผสมในน้ำมันดีเซลเรียกว่า ดีโซฮอล์ ในอัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำมันดีเซล 15:85 และเพิ่มสารปรับปรุงคุณสมบัติบางตัวอีก 1-2 เปอร์เซ็นต์

2.3.1.2 เอทานอลความบริสุทธิ์ 99.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ผสมในน้ำมันเบนซินเรียกว่า แก๊สโซฮอล์ โดยทั่วไปใช้เอทานอลผสมกับน้ำมันเบนซินอัตราส่วน 10:90 ในลักษณะของสารเติมแต่งเพื่อปรับปรุงค่าออกเทนของน้ำมันเบนซิน ซึ่งสามารถนำมาใช้งานกับเครื่องยนต์ทั่วไปไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์แต่อย่างใด

2.3.1.3 เป็นสารเคมีเพิ่มค่าออกเทนแก่เครื่องยนต์ โดยการเปลี่ยนรูปเอทานอลมาเป็นสาร Ethyl Tertiary Butyl Ether (ETBE) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE ซึ่งเป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้เนื่องจากเป็นสารที่ก่อให้เกิดมลภาวะทางอากาศมากกว่าสารอื่นๆ

2.3.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล (บทความวิชาการ.คอม, 2551) แบ่งได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

2.3.2.1 วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ธัญพืช ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ เป็นต้น

2.3.2.2 วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล บีทรูท ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น

2.3.2.3 วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ชังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ เศษกระดาษ ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ เป็นต้น งานวิจัยนี้สนใจผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มซึ่งจัดเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส มีข้อดี คือ เป็นวัตถุดิบที่ไม่จัดอยู่ในวงจรอาหารทำให้ไม่เกิดผลกระทบต่อปริมาณความต้องการในด้านการบริโภค

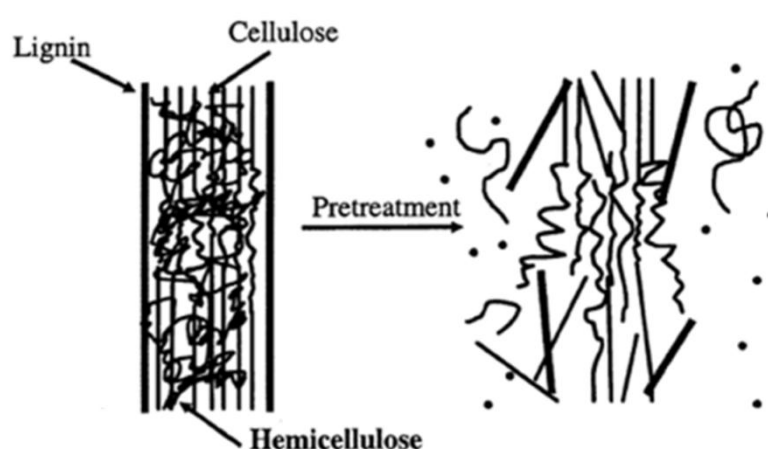
2.4 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส

สำหรับการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนหลัก คือ ขั้นตอนการปรับสภาพ (Pretreatment) เป็นการสลายโครงสร้างที่เป็นอุปสรรคต่อการย่อย ช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสทำให้สามารถย่อยได้ง่ายขึ้น ขั้นตอนการย่อย

(Hydrolysis) เป็นขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงจากเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส และสุดท้ายคือ ขั้นตอนการหมัก (Fermentation) เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอล

2.4.1 การปรับสภาพ (Pretreatment)

การปรับสภาพ เป็นขั้นตอนของการสลายโครงสร้างที่เป็นอุปสรรคต่อการย่อย คือ พวกลิกนินและเฮมิเซลลูโลส อันเป็นการแยกลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสออกจากโครงสร้างก่อน เพื่อลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสทำให้กรดหรือเอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยให้กลายเป็นกลูโคสได้ง่ายขึ้น (Mosier และคณะ, 2009) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-5



ภาพประกอบที่ 2-5 โครงสร้างของเส้นใยพืชก่อนและหลังปรับสภาพ (Chaula และคณะ, 2014)

วิธีการปรับสภาพ (ภูมิหทัย, 2554) แบ่งได้เป็น 4 วิธี คือ

2.4.1.1 การปรับสภาพด้วยวิธีการทางกายภาพ (Physical Pretreatment)

เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออก เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เช่น การตัด การบด การใช้ความร้อน เป็นต้น

2.4.1.2 การปรับสภาพด้วยวิธีการทางเคมี (Chemical Pretreatment) เป็น

การปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้สารละลายกรด สารละลายด่าง โอโซน ตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นต้น เพื่อแยกเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากเซลลูโลส ในกรณีใช้สารละลายกรดจะพบว่าเป็นการเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสสามารถย่อยสลายในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลส หรือใช้สารละลายด่างเพื่อเพิ่มการย่อยสลายของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน

2.4.1.3 การปรับสภาพด้วยวิธีการทางเคมีกายภาพ (Physico-Chemical

Pretreatment) เป็นการใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี เช่น การใช้ไอน้ำความดันสูง ซึ่งมีการเติมสารเคมีลงไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ เช่น การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion) เป็นต้น ซึ่งมีต้นทุนที่ค่อนข้างสูง

2.4.1.4 การปรับสภาพด้วยวิธีการทางชีวภาพ (Biological Pretreatment) เป็นการใช้อินไซม์จากจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยน โครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสให้อยู่ในรูปโชนตรง และช่วยลดความเป็นผลึก

จากที่กล่าวมาข้างต้น กระบวนการในการปรับสภาพพืชชีวมวลมีหลายวิธีซึ่งให้ผล ต่อโครงสร้างเซลลูโลสต่างกัน ข้อดีและข้อเสียของวิธีการปรับสภาพแต่ละวิธีแสดงตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 ข้อดีและข้อเสียของวิธีการปรับสภาพแต่ละวิธี (Arrisa, 2556)

| วิธีการปรับสภาพ | ข้อดี | ข้อเสีย |
|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| วิธีการทางกายภาพ (Physical Pretreatment) | - เพิ่มพื้นที่ผิว - ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส - ไม่ต้องใช้สารเคมี | - ใช้พลังงานสูง - ไม่สามารถกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส |
| วิธีการทางเคมี (Chemical Pretreatment) | - สามารถกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส | - เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม |
| วิธีการทางเคมีกายภาพ (Physico-Chemical Pretreatment) | - ประสิทธิภาพสูง - สามารถกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส - ใช้เวลาเร็ว | - เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม - สภาพารุนแรง - ต้องใช้สารเคมี - ต้นทุนสูง |
| วิธีการทางชีวภาพ (Biological Pretreatment) | - ใช้พลังงานต่ำ - ไม่ต้องใช้สารเคมี - เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม | - ใช้เวลานาน |

วิธีการปรับสภาพเส้นใยปาล์มที่เป็นที่นิยม คือ วิธีการปรับสภาพเชิงเคมีกายภาพ เช่น การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อน แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อน เป็นต้น

2.4.2 กระบวนการย่อย (Hydrolysis)

การย่อยเป็นกระบวนการเปลี่ยนจากเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ (เสรี, 2555)

2.4.2.1 การย่อยด้วยสารเคมี (Chemical hydrolysis) เป็นการใช้สารเคมีในการย่อย เช่น สารละลายกรดหรือด่าง ซึ่งในการย่อยจะเกิดปฏิกิริยาการทำลายพันธะไกลโคสิติก

(Glycosidic bond) ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 กับออกซิเจน ถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส

2.4.2.2 การย่อยด้วยเอนไซม์ (Enzymatic hydrolysis) เป็นการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสเพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาภายในเซลล์ เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพสูง ในสภาวะการทำงานที่เหมาะสมจะสามารถเร่งปฏิกิริยาได้เร็วถึง 10^8 ถึง 10^{11} เท่า เมื่อเทียบกับปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีความเฉพาะ (Specificity) ต่อปฏิกิริยาหนึ่ง ๆ เท่านั้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้เอนไซม์ในการย่อย เนื่องจากเอนไซม์เป็นเสมือนตัวเร่งปฏิกิริยาทั่วไปให้เกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้น ซึ่งไม่มีผลต่อความสมดุลของปฏิกิริยาเคมี อีกทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองก็ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่ทนต่อการกัดกร่อน

2.4.3 การย่อยด้วยเอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysis)

เอนไซม์ที่ใช้ย่อยเซลลูโลส คือ เอนไซม์เซลลูเลส มีคุณสมบัติเป็นสารประกอบเชิงซ้อนพบได้ทั่วไปในจุลินทรีย์ โดยพบมากในพวกเชื้อรา (พัคตร์ประไพ, 2546)

2.4.3.1 ชนิดและตำแหน่งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

- เอ็นโดกลูคาเนส (Endoglucanase) หรือ Endo B-1,4-glucan glucanohydrelase หรือ EBG หรือ C_x ทำหน้าที่ตัดพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิกภายในเซลลูโลสบริเวณโครงสร้างอะมอร์ฟัส โดยตำแหน่งการย่อยเกิดขึ้นแบบสุ่ม (Randomly acting) ทำให้เกิดปลายอิสระขึ้น ส่งผลให้ได้เซลโลไบโอส (Cellobiose) โอลิโกเซลลูโลส (Oligocellulose) และกลูโคสในปริมาณที่น้อยมาก โดยจะย่อยสลายจากทางด้านปลายรีดิวซ์ (Reducing end) ของสายโซ่เซลลูโลส

- เอ็กโซกลูคาเนส (Exoglucanase) หรือ Exo B-1,4-glucan cellobiohydrelase หรือ CBH หรือ C_1 ทำหน้าที่ย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ และเซลลูโลสให้เปลี่ยนเป็นเซลโลไบโอส ตำแหน่งที่เกิดการย่อยเป็นแบบสุ่ม

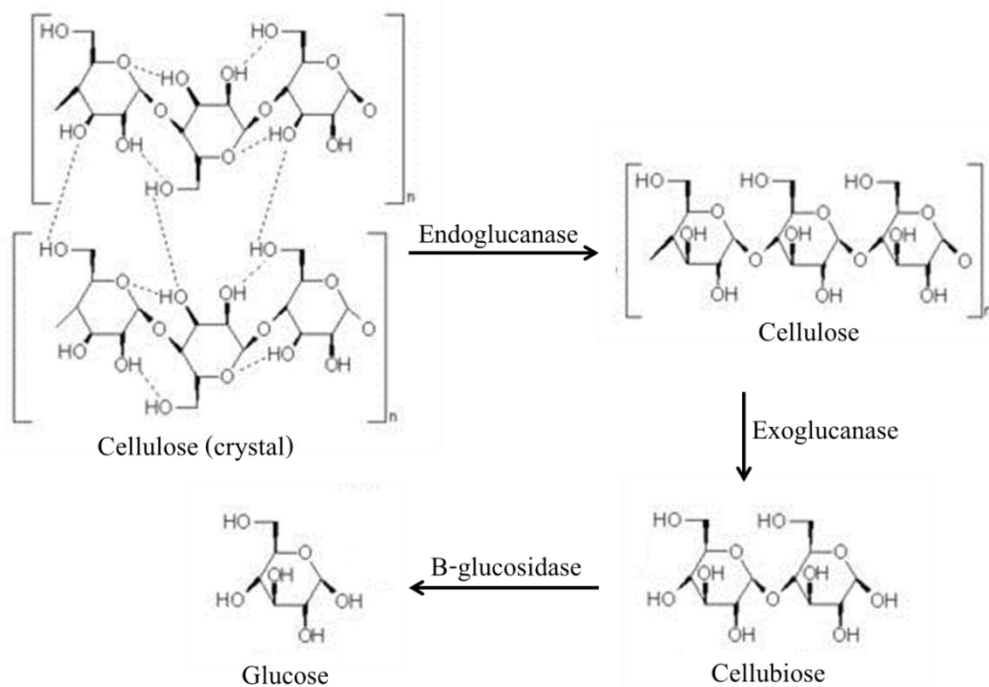
- เบต้ากลูโคซิเดส (B-glucosidase) หรือ เซลโลไบโอเอส (Cellobiase) ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสให้เปลี่ยนเป็นกลูโคส ซึ่งเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสจะเป็นตัวส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์เอ็นโดกลูคาเนสและเอนไซม์เอ็กโซกลูคาเนส ทำให้ย่อยสลายได้กลูโคสมากขึ้น การย่อยเซลลูโลสจะได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสมากหรือน้อยขึ้นกับสัดส่วนของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสในเซลลูเลสว่ามีมากหรือน้อย ดังนั้นเอนไซม์ตัวนี้จึงเป็นตัวสำคัญในการย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส

เอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า (Commercial cellulase enzyme) ที่นิยมนำมาใช้ย่อยเซลลูโลสได้แก่ *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger* และ *Trichoderma viride* เป็นต้น ความสามารถในการย่อยหรือกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสมักแสดงในหน่วย FPU (Filter Paper Unit) โดยเอนไซม์ 1 หน่วย (FPU) หมายถึงปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสลายสารตั้งต้น (กระดาษกรอง Whatman NO.1) ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที

สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสจะแสดงในหน่วย IU (International Unit) โดยเอนไซม์ 1 หน่วย (IU) หมายถึงปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสลายสารตั้งต้น (เซลลูไบโอส) ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส 2 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที

2.4.3.2 การเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์

การย่อยเซลลูโลสจะต้องใช้เอนไซม์เซลลูเลสเนื่องจากโครงสร้างของเซลลูโลสจะเป็นพอลิเมอร์ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของดีกลูโคสด้วยพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิกเป็นโซ่ยาว เอนไซม์เซลลูเลสจะเข้าไปสลายพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิกเพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคส แต่การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสอาจถูกยับยั้งด้วยปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น คือ เอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสจะถูกยับยั้งด้วยปริมาณกลูโคสที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีผลยับยั้งต่อเนื่องทำให้มีการสะสมของเซลโลไบโอส ซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอ็นโดกลูคาเนส และเอ็กโซกลูคาเนส ทำให้ปฏิกิริยาช้าลงและยุติในที่สุด เอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้จึงต้องทำงานร่วมกันจึงจะมีประสิทธิภาพในการย่อยได้ดี แต่เมื่อแยกชนิดใดชนิดหนึ่งออกไปจะมีผลทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยลดลง ซึ่งลักษณะการทำงานของเอนไซม์แสดงดังภาพประกอบที่ 2-6



ภาพประกอบที่ 2-6 กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

ที่มา: <http://www.indogulfgroup.com/AE%20-%20Enzymes%20-%20Cellulase.asp>

(สืบค้นเมื่อ 10 ธันวาคม 2556)

2.4.3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ (ปริญญา, 2550)

- อุณหภูมิ (Temperature) อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าในทุกๆอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิหนึ่ง เรียกว่า ค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (Optimum temperature) เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าจุดนี้ อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะช้าลง เพราะเอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (Denaturation) หรืออยู่ในสถานะที่ไม่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา โดยเอนไซม์เซลลูเลส จะเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยเซลลูโลส คือ 50 องศาเซลเซียส

- ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่ pH ค่าหนึ่งเรียกว่า ค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงาน ณ จุดที่ pH มีค่าสูงหรือต่ำกว่าค่านี้ กิจกรรม (Activity) ของเอนไซม์จะลดลง เอนไซม์เซลลูเลสจะทำงานได้ดีที่สุดที่ค่า pH ระหว่าง 5.0-9.0

- ความเข้มข้นของซับสเตรต (Substrate) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวัตถุดิบหรือซับสเตรต อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะมีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกและลดลงเมื่อความเข้มข้นของซับสเตรตสูงขึ้นจนในที่สุดอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้นอีก

- ปริมาณเอนไซม์ (Enzyme loading) เมื่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาดำเนินไปจนถึงจุดสูงสุดพบว่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะมีค่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของเอนไซม์

- ผลของสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme Inhibitor) เป็นตัวแปรหนึ่งที่ใช้ในการอธิบายกระบวนการทำงานของเอนไซม์ ลักษณะความจำเพาะของเอนไซม์ต่อซับสเตรท และลักษณะของ Function group ที่บริเวณ Active side ทำให้เข้าใจและสามารถควบคุมกระบวนการที่เกิดขึ้นได้

2.4.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเสถียรภาพของเอนไซม์

เนื่องจากเอนไซม์เป็นตัวโปรตีนชนิดหนึ่ง ปัจจัยที่มีผลต่อการเสถียรภาพของโปรตีนจึงมีผลต่อการเสถียรภาพของเอนไซม์ด้วย เช่น สภาพความเป็นกรด่าง ยูเรีย (Urea) ความร้อนหรือรังสีอัลตราไวโอเล็ต เป็นต้น (ฉัตรชัย, 2548)

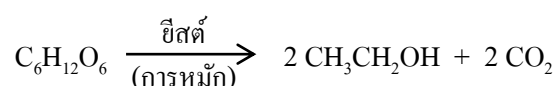
2.4.3.5 สมบัติของซับสเตรทที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

- ความเป็นผลึก วัตถุประสงค์ที่ีความเป็นผลึกอยู่มากจะทำให้เกิดการย่อยยาก
- พื้นที่ผิวสัมผัส ถ้าพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรทมีมาก โอกาสที่เกิดปฏิกิริยาจะมากขึ้นตามไปด้วย ปริมาณลิแกนด์และเฮมิเซลลูโลสทำให้เกิดการย่อยได้ยาก

- องศาการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชัน (Degree of polymerization) โมเลกุลของเซลลูโลสมีลักษณะเป็นเส้นใยที่แข็งแรงเนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนยึดอยู่จึงถูกย่อยได้ยาก การเพิ่มการเกิดองศาพอลิเมอร์ไรเซชันทำให้เส้นใยมีความแข็งแรงมากขึ้นกว่าเดิม จึงถูกย่อยได้ยากขึ้น (ฉัตรชัย, 2548)

2.4.4 กระบวนการหมัก (Fermentation)

สำหรับกระบวนการหมักเอทานอล เป็นการผลิตแอลกอฮอล์ (เอทานอล) จากน้ำตาลโดยยีสต์ ประกอบด้วยสองขั้นตอน ขั้นตอนแรกยีสต์จะใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) เป็นอาหารและเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่าไกลโคไลซิส (Glycolysis) ในสถานะที่ไม่มีออกซิเจน โดยน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล เมื่อนำมาหมักเป็นเอทานอล จะได้เอทานอล 2 โมเลกุล และคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล ดังภาพประกอบที่ 2-7



(1) น้ำตาลกลูโคส (2) เอทานอล + (2) คาร์บอนไดออกไซด์

ภาพประกอบที่ 2-7 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล (นคร, 2550)

ตามทฤษฎีน้ำตาลกลูโคส 100 เปอร์เซ็นต์ จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอล เท่ากับ 48.89 เปอร์เซ็นต์ และ 51.11 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ แต่ในทางปฏิบัติอาจได้ปริมาณเอทานอลน้อยกว่าทางทฤษฎี เพราะในระหว่างการย่อยอาจเกิดตัวยับยั้ง เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) เฟอร์ฟูรัล (Furfural) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะไปลดอัตราการเกิดเอทานอลในขั้นตอนการหมัก

2.4.4.1 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมัก

- ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้มีหลายชนิด แต่ยีสต์ถูกนำมาใช้ผลิตเอทานอลอย่างแพร่หลาย เพราะสามารถเจริญเติบโตได้เร็วและมีปริมาณมาก ยีสต์ที่ใช้โดยทั่วไป คือ *Saccharomyces Cerevisiae* ยีสต์เหล่านี้จะไวต่อตัวแปรหลายอย่างในกระบวนการหมัก โดยเฉพาะค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และอุณหภูมิ โดยจะทำงานได้ดีที่ค่าความเป็นกรดต่างระหว่าง 3-5 และอุณหภูมิประมาณ 27-35 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ยีสต์ต่อปริมาณน้ำตาล ยังมีจำนวนยีสต์มากในตอนเริ่มต้น กระบวนการก็จะยิ่งเสร็จสิ้นเร็ว ภายใต้สภาวะปกติเชื้อหมักในกระบวนการมีแนวโน้มที่จะเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อนและแยกออกจากสารละลายเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก ชนิดของเชื้อที่แตกต่างกันจะมีแนวโน้มในการจับตัวเป็นก้อนไม่เหมือนกัน ชนิดของเชื้อที่ส่งผลให้มีการจับตัวเป็นก้อนมากจะทำให้การหมักไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรและได้ผลผลิตเอทานอลต่ำ

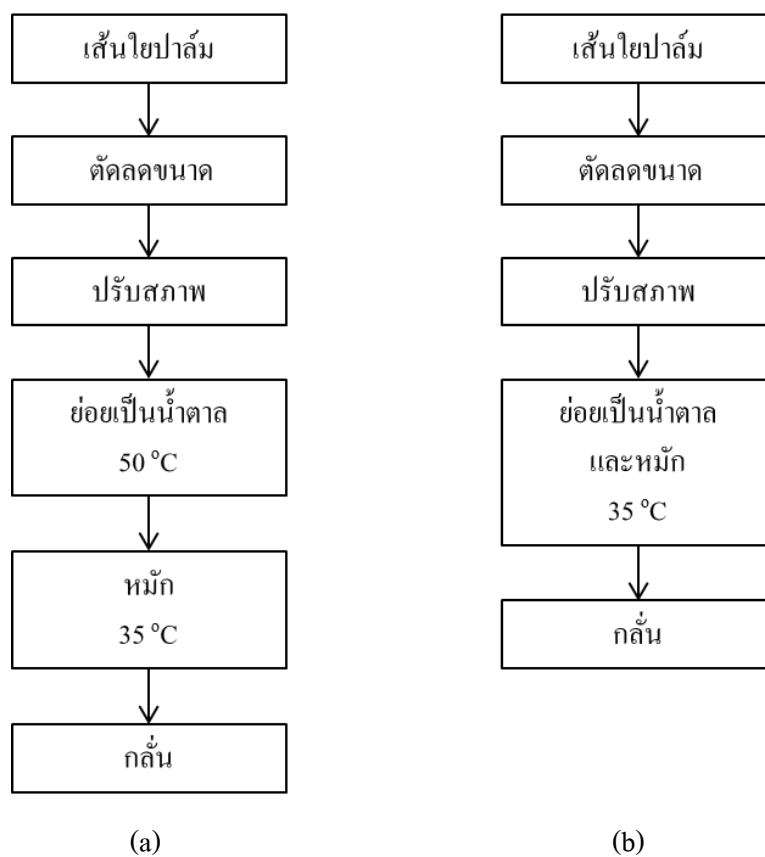
- ความต้องการทางโภชนาการ ในสารละลายจะต้องมีปริมาณสารอาหารทางโภชนาการที่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ มิฉะนั้นเชื้อเหล่านี้จะไม่สามารถทำงานได้ดีเท่าที่ควร โดยสารอาหารประเภทคาร์บอนมีอยู่แล้วในวัตถุดิบ ส่วนไนโตรเจนเชื้อจุลินทรีย์จะมีความต้องการในปริมาณที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิด ซึ่งสามารถปรับแต่งได้โดยการเติมแอมโมเนีย กลีโอสโมเนียหรือยูเรีย สารอาหารอื่นๆ ที่สำคัญ เช่น ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม

- ความเข้มข้นของน้ำตาล ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงเกินไปจะยับยั้งการเติบโตของยีสต์ในช่วงแรกของการหมักได้ และปริมาณเอทานอลที่สูงขึ้นอาจส่งผลยับยั้งต่อการทำงานของจุลินทรีย์

- อุณหภูมิ ประสิทธิภาพของกระบวนการหมักขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอย่างมาก เพราะยีสต์ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิเหมาะสมระหว่าง 27-35 องศาเซลเซียส อัตราการหมักจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่หากเกินกว่า 35 องศาเซลเซียสขึ้นไป อัตราการหมักจะค่อยๆ ลดลง และหยุดที่อุณหภูมิเกินกว่า 43 องศาเซลเซียส โดยผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการหมักจะแปรผันตรงกับชนิดของยีสต์ที่ใช้ (นคร, 2550)

2.4.4.2 ลักษณะกระบวนการหมัก

การหมักเอทานอลมีหลายวิธีแต่วิธีที่เป็นที่นิยมมี 2 วิธี คือ การหมักแยก (Separated Hydrolysis Fermentation, SHF) เป็นการแยกขั้นตอนการย่อยและการหมักออกจากกัน และการหมักร่วม (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) เป็นการรวมขั้นตอนการย่อยไว้ในขั้นตอนเดียวกับการหมัก แผนภาพแสดงความแตกต่างของการหมักเอทานอลด้วยระบบ SHF และ SSF แสดงดังภาพประกอบที่ 2-8



ภาพประกอบที่ 2-8 วิธีการหมักเอทานอล (a) แบบ SHF และ (b) แบบ SSF
ที่มา: คัดแปลงจาก http://www.rdi.ku.ac.th/kasetfair49/Plant/p_05/p_05.htm
(สืบค้นเมื่อวันที่ 16 มกราคม 2557)

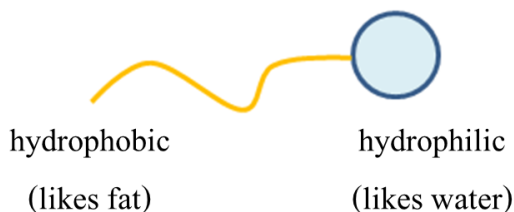
- Separated Hydrolysis Fermentation (SHF) จะมีขั้นตอนของการย่อยเพื่อได้น้ำตาลกลูโคส จากนั้นนำน้ำตาลที่ได้มาทำการหมัก โดยการหมักเป็นการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลด้วยยีสต์หรือจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ปราศจากอากาศ ในการหมักจุลินทรีย์ที่นิยมใช้จะเป็นยีสต์ตระกูล *Saccharomyces cerevisiae*

- Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) เป็นการผลิตเอทานอล โดยการรวมการย่อยไว้ในขั้นตอนเดียวกับการหมัก มีข้อดี คือ สามารถเพิ่มอัตราการไฮโดรไลซิสได้ เพราะสามารถเปลี่ยนแปลงน้ำตาลที่เกิดขึ้นให้เป็นเอทานอลได้ทันที ซึ่งจะเป็นการลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส โดยน้ำตาลกลูโคสและเซลโลไบโอสได้ เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลสจะย่อยเซลลูโลสได้น้ำตาลกลูโคสและเซลโลไบโอส ซึ่งจุลินทรีย์จะนำน้ำตาลกลูโคสที่ได้ไปใช้ในการเจริญเติบโตพร้อมทั้งผลิตเอทานอลในเวลาเดียวกันทำให้ไม่เกิดการสะสมในระบบ นอกจากนี้ยังทำให้ใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยลง ลดจำนวนอุปกรณ์หรือถังในการผลิตตลอดจนใช้เวลาในการหมักสั้นลงและได้เปอร์เซ็นต์ของเอทานอลในปริมาณที่สูงขึ้น แต่มีข้อเสียคือ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยด้วยเอนไซม์กับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักด้วยยีสต์จะแตกต่างกัน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์อยู่ในช่วง 50 องศาเซลเซียส ในขณะที่การหมักจุลินทรีย์ อาทิ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถเจริญได้ดีในช่วง 27-35 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้จากการศึกษาข้อมูลงานวิจัยเพิ่มเติมพบว่าการการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) ร่วมกับเอนไซม์ในกระบวนการผลิตเอทานอล สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล ทั้งในส่วนของการปรับสภาพ การย่อย และการหมัก ทำให้ได้ผลผลิตเอทานอลสูงขึ้น (Hemmatinejad และคณะ, 2002)

2.5 สารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิว (Surface active agent, Surfactant) เป็นสารที่มีผลต่อพื้นผิวหรือพื้นที่ระหว่างผิว (Surface or Interface) โดยจะขจัดความแตกต่างระหว่างผิวหรือช่วยลดแรงตึงผิว ลักษณะโมเลกุลประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนหัวเป็นส่วนที่มีขั้ว (Hydrophilic) มีคุณสมบัติชอบน้ำ และส่วนหางเป็นส่วนที่ไม่มีขั้ว (Hydrophobic) มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวแสดงดังภาพประกอบที่ 2-9 โดยส่วนหางจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน คือ มีธาตุน้ำหนักคาร์บอนและไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนหัวอาจจะมีประจุหรือไม่มีประจุก็ได้ การที่ส่วนประกอบสองส่วนมีสมบัติตรงข้ามกัน ทำให้สารลดแรงตึงผิวสามารถเข้าไปเชื่อมระหว่างสองเฟสที่ต่างกันให้เข้ากันได้ เช่น ปกติไขมันและน้ำจะไม่รวมตัวกัน ไขมันจะลอยอยู่บนชั้นน้ำเสมอ แต่เมื่อใส่สารลดแรงตึงผิวลงไปจะลดแรงตึงผิวระหว่างผิวของน้ำและน้ำมันทำให้ชั้นระหว่างผิวของน้ำและน้ำมันจะถูกขจัดไปทำให้สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้ (วิสาขา, 2549)



ภาพประกอบที่ 2-9 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว

ที่มา: <http://www.scienceinthebox.com/surfactants>

(สืบค้นเมื่อ 12 ธันวาคม 2556)

2.5.1 ชนิดของสารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภทตามลักษณะหรือประจุของส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic group) ได้แก่

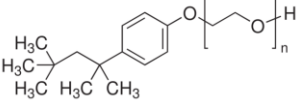
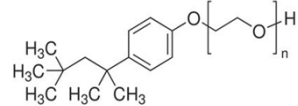
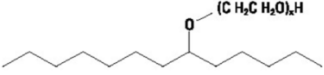
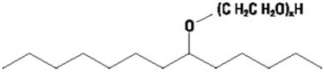
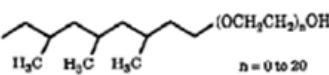
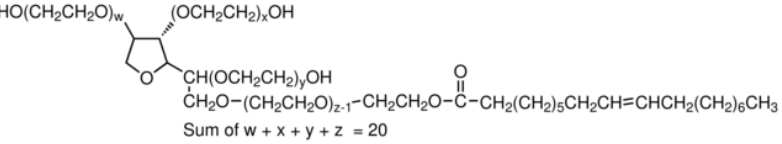
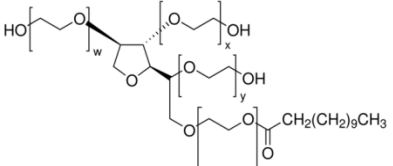
2.5.1.1 สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ (Anionic surfactant) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ประจุไฟฟ้าบนส่วนหัวให้ประจุลบ โดยส่วนมากแสดงอยู่ในรูปคาร์บอกซิเลต (Carboxylate) ซัลเฟต (Sulfate) ซันฟอนेट (Sunfonate) หรือฟอสเฟต (Phosphate) สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้ใช้มากในอุตสาหกรรมประเภท ผงซักฟอก ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด น้ำยาล้างจาน เป็นต้น

2.5.1.2 สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก (Cationic surfactant) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ประจุไฟฟ้าบนส่วนหัวให้ประจุบวก ส่วนมากมักจะเป็นพวก Quaternary ammonium สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้จะไม่สามารถทำงานได้ในสภาวะแวดล้อมที่ค่าความเป็นด่างสูง (pH 10-11) เนื่องจากเกลือแอมโมเนียม (Ammonium salt) จะมีการสูญเสียประจุบวก ทำให้เกิดการตกตะกอนได้ สารลดแรงตึงผิวประจุบวกจะทำให้เกิดการระคายเคืองมากกว่าสารลดแรงตึงผิวประจุลบ นิยมใช้ในพวกน้ำยาปรับผ้านุ่ม ครีมนวดผมและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการจัดแต่งทรงผม เป็นต้น

2.5.1.3 สารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ (Zwitterionic surfactant) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ประจุไฟฟ้าบนส่วนหัวสามารถให้ได้ทั้งประจุบวกและประจุลบ โดยจะแสดงคุณสมบัติประเภทใดขึ้นอยู่กับสภาพความเป็นกรดของสภาวะแวดล้อม ถ้าสภาวะแวดล้อมเป็นด่างประจุไฟฟ้าบนส่วนหัวจะให้ประจุลบ แต่ถ้าสภาวะแวดล้อมเป็นกรดประจุไฟฟ้าบนส่วนหัวจะให้ประจุบวก และในสภาวะที่เป็นกลางจะไม่เกิดการให้ประจุไฟฟ้า สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้มีคุณสมบัติอ่อนโยนนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับผิวหรือผม

2.5.1.4 สารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุ (Nonionic surfactant) สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้จะแตกต่างจากสารลดแรงตึงผิวประจุลบและสารลดแรงตึงผิวประจุบวกตรงที่เป็นโมเลกุลที่ไม่มีประจุ โดยมีสารกลุ่มโพลีอีเทอร์ (Polyether) หรือโพลีไฮดรอกซี (Polyhydroxy) เป็นกลุ่มที่แสดงคุณสมบัติคล้ายพวกที่มีประจุ ใช้มากในผงซักฟอง น้ำยาล้างถ้วยชาม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดพื้นผิว เป็นต้น โครงสร้างและคุณสมบัติของตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุแสดงดังตารางที่ 2-3 และ 2-4 ตามลำดับ

ตารางที่ 2-3 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (The structure of nonionic surfactant)

| สารลดแรงตึงผิว | โครงสร้าง |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| TritonX-100 |  |
| TritonX-114 |  |
| Tergitol 15-s-7 |  |
| Tergitol 15-s-9 |  |
| Tergitol TMN-6 |  |
| Tween 80 |  |
| Tween 20 |  |

ที่มา: <http://www.sigmaaldrich.com> (สืบค้นเมื่อ 5 กันยายน 2556)

ตารางที่ 2-4 คุณสมบัติที่สำคัญต่างๆของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ

| สารลดแรงตึงผิว | จำนวนโมล EO | โครงสร้าง โมเลกุล ส่วนหาง | CMC (ppm) | ความ หนาแน่น (g/mL) | จุดขุ่น (°C) | ค่า HBL |
|-----------------|----------------|---------------------------------|--------------|---------------------------|-----------------|------------|
| TritonX-100 | 9-10 | C_8H_{15} | 189 | 8.9 | 65 | 13.5 |
| TritonX-114 | 7-8 | C_8H_{15} | 120 | 1.058 | 25 | 12.3 |
| Tergitol 15-s-7 | 7 | $C_{11-15}H_{23-31}$ | 38 | 0.991 | 37 | 12.1 |
| Tergitol 15-s-9 | 9 | $C_{11-15}H_{23-31}$ | 52 | 1.006 | 60 | 13.3 |
| Tween 80 | 20 | $C_{17}H_{33}$ | 15.72 | 1.08 | 65 | 15 |
| Tween 20 | 20 | $C_{11}H_{23}$ | 60 | 1.11 | 76 | 16.7 |

ที่มา: <http://www.dow.com> (สืบค้นเมื่อ 7 พฤศจิกายน 2556)

หมายเหตุ: จำนวนโมล EO คือ จำนวนโมลของ Ethylene Oxide ที่เป็นองค์ประกอบบนโครงสร้างส่วนหัวของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ

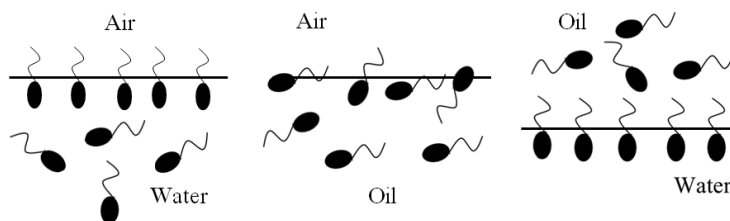
CMC (Critical Micelle Concentration) คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารลดแรงตึงผิวสามารถเกิดการฟอร์มตัวเป็นไมเซลล์ได้

จุดขุ่น (Cloud Point Temperature) เป็นจุดที่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่าจุดนี้ สารละลายที่มีสารลดแรงตึงผิวอยู่จะมีลักษณะขุ่นและจะเกิดการแยกชั้นของสารลดแรงตึงผิวออกจากสารละลาย

HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) หมายถึง ค่าที่บอกความสัมพันธ์ระหว่างส่วนที่มีขี้และไม่ขี้ของสารลดแรงตึงผิว มีค่าระหว่าง 0-40 ถ้าสารลดแรงตึงผิวมีความเป็นขี้มากค่า HLB จะมีค่าสูง แต่ถ้าสารลดแรงตึงผิวมีความเป็นขี้่น้อยค่า HLB จะมีค่าต่ำ สารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB สูงสามารถละลายน้ำได้ดี

2.5.2 การจัดเรียงตัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว

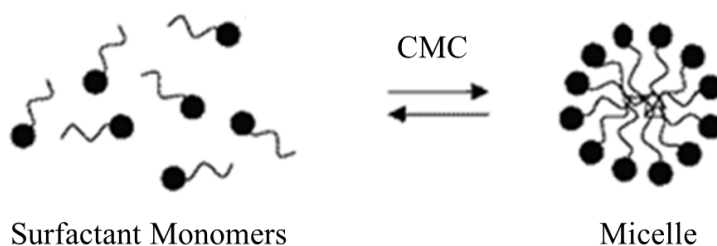
โดยส่วนใหญ่โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว จะรวมตัวกันอยู่ในบริเวณที่เป็นผิวสัมผัสของของเหลวสองชนิด เช่น ระหว่างน้ำกับอากาศ ซึ่งจะมีการจัดเรียงส่วนหัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวจะจุ่มอยู่ในน้ำ ส่วนหางจะชี้ขึ้นสู่อากาศ เป็นต้น ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความแตกต่างระหว่างสภาพความเป็นขี้ระหว่างของเหลวแสดงดังภาพประกอบที่ 2-10



ภาพประกอบที่ 2-10 การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวในสภาวะต่างๆ

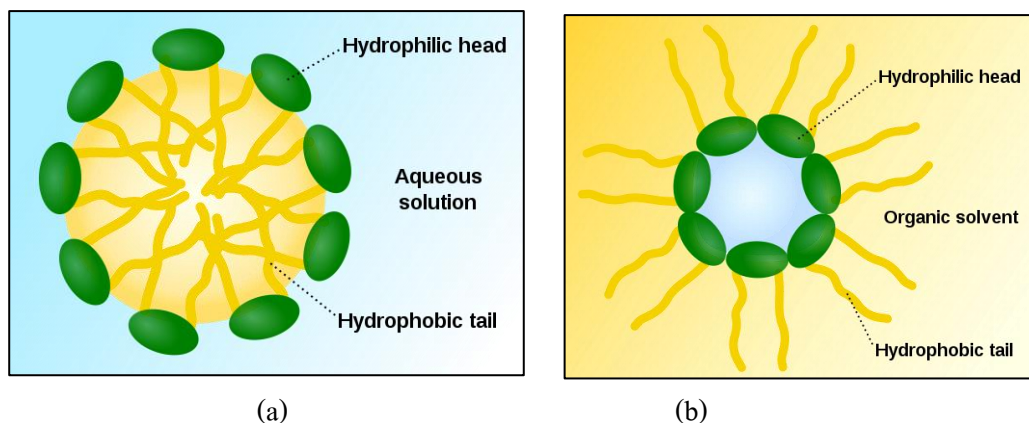
(Scamehorn และคณะ, 2004)

เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้นจนถึงจุดความเข้มข้นวิกฤตหรือ Critical Micelle Concentration (CMC) โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะเกิดการเกาะเกี่ยวกันและรวมตัวเป็นกลุ่ม เรียกว่า ไมเซล (micelle) ซึ่งมีรูปร่างหลายลักษณะขึ้นอยู่กับปัจจัย อาทิ โครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ชนิดของสารละลายที่สารลดแรงตึงผิวอยู่ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว เป็นต้น การเกิดไมเซลของสารลดแรงตึงผิวแสดงดังภาพประกอบที่ 2-11



ภาพประกอบที่ 2-11 การเกิดไมเซลในสารละลายของสารลดแรงตึงผิว (Rangel และคณะ, 2005)

โดยปกติในสารละลายมีขี้ เช่น น้ำ รูปร่างของไมเซลจะเป็นแบบที่โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวส่วนหางจะจับตัวกันอยู่ภายในและจะถูกปกคลุมด้วยส่วนหัวที่อยู่ภายนอก มีการจัดเรียงตัวเป็นทรงกลมเรียกว่า normal micelle แต่ในทางตรงข้ามในสารละลายไม่มีขี้ การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวในไมเซลจะเป็นแบบที่ส่วนหัวรวมตัวกันอยู่ภายในและส่วนหางก็จะชี้ออกสู่ภายนอกสารละลาย เรียกว่า reverse micelle ลักษณะความแตกต่างของ normal และ reverse micelle แสดงดังภาพประกอบที่ 2-12

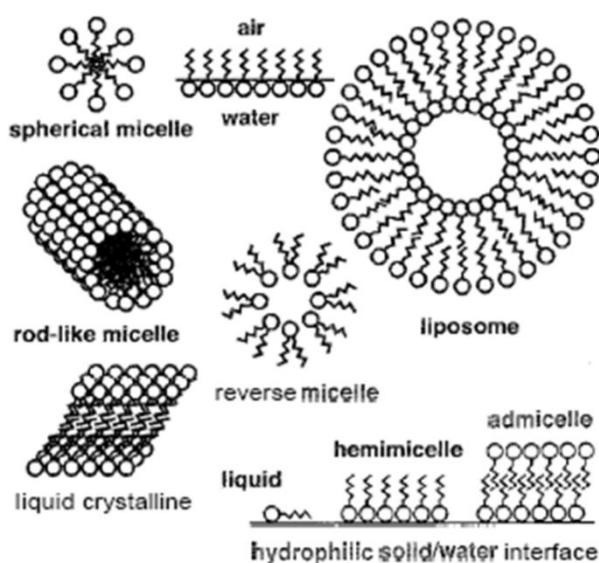


ภาพประกอบที่ 2-12 ลักษณะของไมเซล (a) normal micelle (b) reverse micelle

ที่มา: <http://chemistry.tutorvista.com/biochemistry/micelle.html>

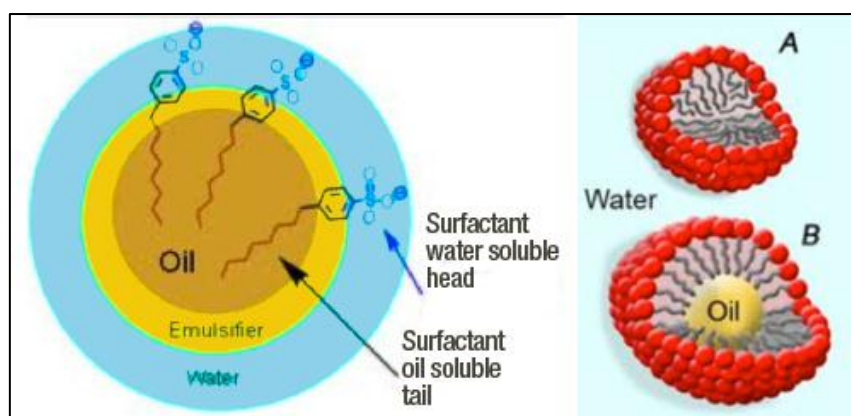
(สืบค้นเมื่อ 29 มกราคม 2557)

รูปร่างไมเซลของสารลดแรงตึงผิวจะมีลักษณะแตกต่างกันแสดงดังภาพประกอบที่ 2-13 ขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ค่าความแรงไอออนิกของสารละลาย (Solution ionic strength) อุณหภูมิ pH และความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว ตัวอย่างเช่น ในระบบที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย สารลดแรงตึงผิวที่หัวมีขนาดใหญ่และหางมีขนาดเล็ก จะมีรูปร่างไมเซลเป็นทรงกลมหรือกรวย ส่วนสารลดแรงตึงผิวที่หางมีลักษณะเป็นกิ่ง จะมีรูปร่างไมเซลเป็นทรงกระบอก เป็นต้น โดยสารลดแรงตึงผิวที่มีหางยาวจะเกิดการฟอร์มเป็นไมเซลได้ง่าย ทำให้มีจุด CMC ต่ำ



ภาพประกอบที่ 2-13 ตัวอย่างรูปร่างไมเซลของสารลดแรงตึงผิว (Scamehorn และคณะ, 2004)

นอกจากนี้ไมเซลของสารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มความสามารถในการละลาย (Solubilization) ของสารที่ไม่สามารถละลายเข้ากันได้ หรือละลายได้น้อย ให้สามารถละลายเข้ากันได้ดียิ่งขึ้น ตัวอย่างเช่น เมื่อเติมน้ำมันลงไป ในน้ำ ปกติน้ำมันจะแยกชั้นออกจากน้ำ แต่เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวลงไป สารลดแรงตึงผิวจะช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำและน้ำมัน ทำให้น้ำมันแพร่กระจายเข้าไปในน้ำได้มากขึ้น และการเกิดไมเซลของสารลดแรงตึงผิว ทำให้โมเลกุลของน้ำมันสามารถแพร่เข้าสู่ภายในซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มีขั้ว การจับกันของน้ำมันและส่วนที่ไม่มีขั้วของสารลดแรงตึงผิวแสดงดังภาพประกอบที่ 2-14 โดยทั่วไปการละลายของตัวถูกละลายเข้าสู่ไมเซลของสารลดแรงตึงผิว ตัวถูกละลายสามารถยึดเกาะในไมเซลได้สามบริเวณหลักๆ โดยจะขึ้นอยู่กับความมีขั้วของสารนั้น กล่าวคือ ในระบบที่มีตัวทำละลายน้ำทั่วไป หากตัวถูกละลายมีขั้วจะสามารถเกาะอยู่บริเวณผิวของไมเซล (ส่วนหัว) หากตัวถูกละลายไม่มีขั้วจะแพร่เข้าสู่บริเวณในสุด (Inner core) และหากตัวถูกละลายมีขั้วเล็กน้อยจะเข้ายึดเกาะบริเวณรอยต่อระหว่างส่วนหัวและหางของสารลดแรงตึงผิวในไมเซล (Palisade layer) (Scaemhorn และคณะ, 2004)



ภาพประกอบที่ 2-14 การจับกันของน้ำมันและส่วนที่ไม่มีขั้วของสารลดแรงตึงผิว
ที่มา: <http://www.verutek.com/green-chemistry-blog-/bid/112544/Surface-Advantages-Surfactants-Increase-Chemical-Contact>
(สืบค้นเมื่อ 29 มกราคม 2557)

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Nonionic surfactant) เพื่อช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่สูงขึ้น โดยจากการศึกษาข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ได้ โดยมีกลไกที่สามารถส่งเสริมประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ อาทิ สารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มเสถียรภาพ (Stability) ของเอนไซม์และป้องกันการเสื่อมสภาพ (Degeneration) อัน

เนื่องมาจากความร้อนของเอนไซม์ระหว่างการย่อย สารลดแรงตึงผิวช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยได้ง่ายขึ้น และสารลดแรงตึงผิวช่วยลดแรงตึงระหว่างผิวของน้ำและซับสเตรตทำให้การเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรตเกิดดีขึ้น ส่งผลให้การเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น (Eriksson และคณะ, 2002) นอกจากนี้บางงานวิจัยกล่าวว่า สารลดแรงตึงผิวจะดูดซับลงบนลิกนินอันเป็นการป้องกันเอนไซม์ไม่ให้ดูดซับบนลิกนิน ทำให้มีปริมาณเอนไซม์อิสระในการย่อยสลายเซลลูโลสในระบบสูงขึ้น (Chu และคณะ, 2013)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นพบว่ามิงงานวิจัยที่ศึกษาการนำสารลดแรงตึงผิวมาประยุกต์ใช้ในขั้นตอนการผลิตเอทานอลจากวัสดุชีวมวลอย่างต่อเนื่อง อาทิ

Kaya และคณะ (1995) ศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวในกระบวนการย่อยเส้นใยไซเลน (Xylan) ด้วยเอนไซม์ไซเลนเนส (Xylanase) และกระบวนการย่อยเส้นใยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเส้นใยดังกล่าวเป็นเส้นใยเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตกระดาษ ในการทดลองได้เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก (Trymeen 6606) ชนิดประจุลบ (Standapol-A) และชนิดไม่มีประจุ (Olinor, DI 600) โดยศึกษาปัจจัยความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวและ pH ต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้น พบว่ามีเฉพาะสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุและชนิดประจุบวกเท่านั้นที่สามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้เมื่อเปรียบเทียบกับระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว โดยสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับการเติมเอนไซม์ สารลดแรงตึงผิว และซับสเตรตยังมีผลต่อปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นด้วย โดยหากมีการบ่มเอนไซม์ สารลดแรงตึงผิวและสารละลายบัฟเฟอร์ไว้ด้วยกันก่อนที่จะเติมเชื้อกระดาษลงไป จะให้ปริมาณน้ำตาลมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะอื่นๆ

Eriksson และคณะ (2002) ศึกษากลไกของสารลดแรงตึงผิวที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยลิกโนเซลลูโลส ทำการทดลองโดยใช้ซับสเตรตเป็นไม้เนื้ออ่อนจากต้นสนชนิดหนึ่ง (spruce) ตัวอย่างจะถูกนำมาลดขนาดและคัดแยกให้มีขนาดอยู่ในช่วง 2.2-10 มิลลิเมตร ปรับสภาพด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 210-215 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 นาที แล้วนำซับสเตรตที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสในปริมาณ 83 FPU/g substrate และ 23 IU/g substrate ตามลำดับ ในสารละลายไซเดียมซิเตรตบัฟเฟอร์ pH 4.8 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีการเติมสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ เช่น Tween 20, Tween 80, Agrimul, Triton X-100, Triton X-114, HM-EOPO และ

DoTAB ในปริมาณเท่ากัน คือ 2.5 กรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุและชนิดประจุบวกสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ให้ได้น้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น โดยสารลดแรงตึงผิวที่สามารถเพิ่มอัตราการย่อยของเอนไซม์ได้สูงที่สุด คือ สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ โดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุที่มีค่า HLB สูงจะเพิ่มอัตราการย่อยสลายของเอนไซม์ได้ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุที่มีค่า HLB ต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าการผสมสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวกกับสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสูงขึ้นกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากการรวมตัวเป็นไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวจะสามารถหุ้มเอนไซม์ไว้ภายในไมเซลล์เป็นการช่วยป้องกันเอนไซม์จากความร้อนระหว่างการย่อยได้ ทำให้เอนไซม์สามารถทำงานที่อุณหภูมิสูงขึ้น 10 องศาเซลเซียส จากอุณหภูมิปกติ นอกจากนี้การเกิดการดูดซับของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวบนลิกนินยังสามารถป้องกันเอนไซม์ไม่ให้ดูดซับไปยังบริเวณดังกล่าว ทำให้ไม่เกิดการสูญเสียเอนไซม์ ประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์จึงสูงขึ้น

Hemmatinejad และคณะ (2002) ศึกษาอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด คือ ชนิดประจุบวก (Tinegal MR) ชนิดประจุลบ (Ultravon GPN) ชนิดที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ (Albegal A) และชนิดไม่มีประจุ (Irgazol NA) ต่อเอนไซม์เซลลูเลสในกระบวนการย่อยเส้นใยฝ้าย ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานทอผ้า ทำการทดลองโดยใช้เส้นใยชิ้นเล็กๆขนาด 15×15 มิลลิเมตร ปริมาณ 10 กรัม บรรจุในสารละลายบัฟเฟอร์ 200 มิลลิตร เติมเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 0.1 0.2 0.5 1 และ 2 กรัมต่อลิตร ที่ pH 4.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทำการเติมสารลดแรงตึงผิวในขั้นตอนการย่อย จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุสามารถเพิ่มอัตราการย่อยของเอนไซม์ได้ประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก ชนิดประจุลบ และชนิดที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ ทำให้อัตราการย่อยของเอนไซม์ลดลง 36 38 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กลไกที่สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุสามารถเพิ่มอัตราการย่อยของเอนไซม์ได้ เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลลูโลส ช่วยลดความเป็นผลึกทำให้เซลลูโลสมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้น เอนไซม์จึงสามารถเข้าไปย่อยได้ง่ายขึ้น และสารลดแรงตึงผิวยังเป็นตัวป้องกันการดูดซับของเอนไซม์ไปยังส่วนที่ไม่ต้องการ ส่วนเหตุผลที่สารลดแรงตึงผิวชนิดมีประจุส่งผลให้อัตราการย่อยของเอนไซม์ต่ำลง เนื่องจากโมเลกุลที่มีประจุของสารลดแรงตึงผิวต่อซับสเตเรตเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatics) ทำให้เอนไซม์เข้าเกาะซับสเตเรตได้น้อยลง

Alkasrawi และคณะ (2003) ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Tween 20) ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากไม้เนื้ออ่อนของต้นสนชนิดหนึ่ง ทำการปรับสภาพซัพสเตรต ซึ่งมีขนาดโดยเฉลี่ย 2-10 มิลลิเมตร ด้วยไอน้ำอุณหภูมิ 215 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำมาเข้าสู่กระบวนการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสชนิด *Novozym 188* เข้มข้น 104 FPU/g substrate ร่วมกับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส เข้มข้น 38 IU/g substrate และได้เติมสารลดแรงตึงผิว Tween 20 เข้มข้น 2.5 กรัมต่อลิตร ในขั้นตอนการหมักของกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SSF จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวทำให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น 8 เปอร์เซ็นต์ ช่วยลดปริมาณการใช้เอนไซม์ลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ผลผลิตยังคงเดิม ช่วยทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากสารลดแรงตึงผิวจะลดชั้นบนลิกนินอันเป็นการป้องกันไม่ให้เอนไซม์ดูดซับ ณ บริเวณดังกล่าว ทำให้มีปริมาณเอนไซม์อิสระในการย่อยเซลลูโลสในระบบสูงขึ้น นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวยังช่วยลดเวลาในการหมักเอทานอล และลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลได้

Shin และคณะ (2003) ศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของเอนไซม์ α -chymotrypsin และเอนไซม์ Ribonuclease-A ในการทดลองได้มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ (Sodium diethylhexyl sulfosuccinate, AOT) โดยจะมีประจุลบที่ส่วนหัวของโมเลกุลซึ่งจะสามารถจับกับเอนไซม์ซึ่งมีสภาพประจุบวก ทำให้เกิดการตกตะกอนกลายเป็นของแข็งสีขาวอยู่ในสารละลาย การทดลองทำโดยเตรียมสารละลายเอนไซม์ที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-1.2 กรัมต่อลิตร เตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิวโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลาย AOT ปริมาณ 0.1-0.8 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายเอนไซม์ปริมาตร 20 มิลลิลิตร รอจนสารละลายเกิดการตกตะกอนแล้วทำการแยกตะกอนที่เกิดขึ้นโดยการหมุนเหวี่ยง จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นนำตะกอนที่ได้มาเติมอะซิโตนเพื่อเป็นการแยกเอนไซม์ออกจากสารลดแรงตึงผิว เมื่อของแข็งละลายในอะซิโตนแล้ว จึงเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.1 โมลลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เพื่อเป็นการบัลลันซ์ประจุของเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิว ทำให้เอนไซม์เกิดการตกตะกอนอีกครั้ง โดยสารลดแรงตึงผิวจะละลายในอะซิโตนส่วนเอนไซม์ไม่ละลายละลายในอะซิโตน ทำให้สามารถแยกเอนไซม์ออกมาได้ จากผลการทดลองพบว่าค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ α -chymotrypsin ต่อ AOT ที่เหมาะสมในการตกตะกอน 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 7 ส่วนอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ Ribonuclease-A ต่อ AOT เท่ากับ 13 pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอน คือ 7 ส่วนความเข้มข้นของเกลือพบว่าไม่มีผลต่อการตกตะกอนของเอนไซม์และ AOT

Chen และคณะ (2006) ศึกษาการย่อยเซลลูโลสสังเคราะห์โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว 3 ชนิด คือ สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Triton X-100) สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ (Aerosol OT, AOT) และสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก (Cetyltrimethyl ammonium bromine, CTAB) โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการย่อย คือ อัตราส่วนเชิงโมลของน้ำกับสารลดแรงตึงผิว ค่า pH และอุณหภูมิที่เหมาะสม ในกระบวนการย่อยโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งไม่มีขี้ ผลการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวจะเกิดการจัดเรียงตัวแบบ reverse micelle ในสารละลาย ซึ่งให้ผลผลิตน้ำตาลได้ผลดีกว่าระบบที่มีการใช้น้ำเพียงอย่างเดียว สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยเซลลูโลส คือ การใช้เอนไซม์เซลลูเลส ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Triton X-100) ที่อัตราส่วนเชิงโมลของน้ำต่อสารลดแรงตึงผิวเท่ากับ 1 ที่ pH 6 อุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส

Lui และคณะ (2006) ศึกษาการเปรียบเทียบผลของสารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเชิงชีวภาพ (Biosurfactant) กับสารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีต่อเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซเลนเนส ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดผลิตจากเชื้อ *Trichoderma viride* ในการย่อยซับสเตรตของแป้งผสม ได้แก่ ฟางข้าว รำข้าว และขี้เลื่อย โดยผสมกันในอัตราส่วน 6:3:1 โดยน้ำหนัก ในการทดลองใช้สารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเชิงชีวภาพชนิด Rhamnolipid ซึ่งผลิตได้จากพวก แบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา ซึ่งมีข้อดีกว่าสารลดแรงตึงผิวที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี คือ เกิดมีความเป็นพิษต่ำ ใช้ได้ในช่วงอุณหภูมิและ pH ที่กว้าง ส่วนสารลดแรงตึงผิวที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Tween80) ในการทดลองใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Rhamnolipid ที่ 0.006 และ 0.018 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tween80 ที่ 0.05 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อย 30 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าทั้งสารลดแรงตึงผิว Rhamnolipid และ Tween80 สามารถเพิ่มอัตราการย่อยของเอนไซม์ได้ทั้งสองชนิดได้ โดยสารลดแรงตึงผิว Rhamnolipid จะให้ผลดีกว่าสารลดแรงตึงผิว Tween80 เล็กน้อย

Kim และคณะ (2007) ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุต่อการปรับสภาพและการย่อยกระดาษหนังสือพิมพ์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ในการทดลองใช้กระดาษหนังสือพิมพ์ขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร ปรับสภาพด้วยสารลดแรงตึงผิว 2 ชนิด คือ NP 20 และ Tween 80 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก กวนด้วยความเร็วรอบ 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาย่อยเพื่อให้ได้น้ำตาลโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากบริษัท Novo Nordisk ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการปรับสภาพกระดาษหนังสือพิมพ์โดยใช้สารลดแรงตึงผิว NP 20 ให้ผลดีกว่า Tween 80 ประมาณ 10

เปอร์เซ็นต์ โดยวัดจากอัตราการเปลี่ยนแปลงของเซลลูโลสในการย่อย หลังจากนั้นศึกษาผลของ สารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการย่อยโดยเปรียบระหว่างการใส่สารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tween 20 พบว่าสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสูงกว่า Tween 20 ประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ สารลดแรงตึงผิวสามารถส่งผลดีทั้งต่อกระบวนการปรับสภาพและ กระบวนการย่อย จากการเปรียบเทียบกันพบว่าสารลดแรงตึงผิวส่งผลดีต่อกระบวนการย่อยมากกว่า กระบวนการปรับสภาพ นอกจากนี้ยังพบว่า การปรับสภาพและย่อยซัฟสเตอร์ที่เป็นเซลลูโลส บริสุทธิ์ เช่น แอลฟาเซลลูโลส (α -cellulose) และกระดาษกรองจะให้ผลที่ดียิ่งกว่ากระดาษ หนังสือพิมพ์ จึงเห็นได้ว่าประเภทของซัฟสเตอร์ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อย เช่นกัน

ยุทธศักดิ์ สุบการิ (2007) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใย ปลายด้วยระบบ SSF ในการทดลองทำการปรับสภาพเส้นใยปลายซึ่งกำหนดให้มีขนาด 0.75-1 มิลลิเมตร โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ พบว่าการปรับสภาพ โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถลดปริมาณลิกนินได้มากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งจากการทดลองพบว่า การต้มเส้นใยปลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสม ให้ปริมาณเซลลูโลส 54.13 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ลดปริมาณลิกนินได้ 44.14 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนัก จากนั้นนำเส้นใยปลายที่ผ่านการปรับสภาพดังกล่าวไปย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสจาก เชื้อ *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger* และ *Trichoderma viride* ผลการทดลองพบว่าเอนไซม์ จากเชื้อ *Trichoderma reesei* ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และเปอร์เซ็นต์ Saccharification สูงสุด อีกทั้งยังพบว่าเมื่อนำเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* ผสมกับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิ- เดสจากเชื้อ *Aspergillus niger* สามารถย่อยเส้นใยปลายได้น้ำตาลกลูโคสและเปอร์เซ็นต์ Saccharification มากกว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลสเพียงอย่างเดียว หลังจากนั้นทำการศึกษาสภาวะที่ เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยวิธี SSF เชื้อที่ใช้ในการหมัก คือ *Saccharomyces cerevisiae* โดย ใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* ผสมกับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสจากเชื้อ *Aspergillus niger* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบ SSF คือ ปริมาณเส้นใยปลาย 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* 6 FPU/g substrate ผสม กับเบต้ากลูโคซิเดสจากเชื้อ *Aspergillus niger* 3 IU/g substrate pH 5 อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที ในสภาวะนี้สามารถผลิตเอทานอลได้ 10.38 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Boonsawang และคณะ (2012) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มด้วยวิธี Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) โดยมีการศึกษาการย่อยเส้นใยปาล์มหรือ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF ในการทดลองเส้นใยปาล์มถูกปรับสภาพโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร คัมเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จากการทดลองการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* 6 FPU/g substrate ร่วมกับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส 3 IU/g substrate pH5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยที่มีการย่อยหรือ Prehydrolysis มาก่อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอลมากกว่ากระบวนการที่ไม่มีการ Prehydrolysis

Chu และคณะ (2013) ศึกษาผลของชนิดกระดาษต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาล โดยเปรียบเทียบระหว่างกระดาษหนังสือพิมพ์และกระดาษสำนักงาน ในการทดลองได้ใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Tween 80) โดยกำหนดให้ชั้นกระดาษมีขนาด 2x2 เซนติเมตร ทำการปรับสภาพโดยใช้กรดฟอสฟอริก จากนั้นนำมาเข้าสู่กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส pH 4.8 อัตราการเขย่า 110 รอบต่อนาที ศึกษาตัวแปรที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยได้แก่ ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้ในการปรับสภาพ ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว และเวลา โดยใช้โปรแกรม Response surface method (RSM) ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยกระดาษหนังสือพิมพ์ คือ ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 18 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 6.8 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้ในการปรับสภาพ 8 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 20 ชั่วโมง ได้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสสูงสุด 18 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยกระดาษสำนักงาน คือ ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 18 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 4.2 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้ในการปรับสภาพ 8 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 20 ชั่วโมง ได้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสสูงสุด 86.6 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการย่อยกระดาษหนังสือพิมพ์การเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์ไม่ค่อยมีผลต่อปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น เป็นเพราะกระดาษหนังสือพิมพ์มีองค์ประกอบของเซลลูโลสอยู่น้อย สำหรับการเพิ่มขึ้นของสารลดแรงตึงผิวส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสในช่วงที่ปริมาณเอนไซม์น้อยมากกว่าช่วงที่ปริมาณเอนไซม์มาก สำหรับการย่อยกระดาษสำนักงาน การเพิ่มปริมาณเอนไซม์ส่งผลมากต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคส เป็นเพราะว่ากระดาษสำนักงานมีองค์ประกอบของเซลลูโลสอยู่มาก การเพิ่มขึ้นของสารลดแรงตึงผิวไม่ค่อยมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลในการย่อยกระดาษสำนักงาน

Parnthong และ Kungsanant (2014) ศึกษาการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Tween 80) ร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* ในกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม ศึกษาผลของสามตัวแปรที่มีผลต่อการย่อย คือ ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว และเวลา โดยใช้โปรแกรม RSM ในขั้นตอนการย่อยใช้เส้นใยปาล์มซึ่งผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.6 กรัม สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์ม คือ ปริมาณเอนไซม์ 20 FPU/g substrate ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 7.39 กรัมต่อลิตร เวลา 107 ชั่วโมง ได้ผลได้ของน้ำตาลกลูโคส 67.65 เปอร์เซ็นต์ การเติมสารลดแรงตึงผิวส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสในช่วงที่ความเข้มข้นเอนไซม์ต่ำมากกว่าช่วงที่ความเข้มข้นเอนไซม์สูง

ตารางที่ 2-5 สรุปสภาวะในขั้นตอนต่างๆของการผลิตเอทานอลจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

| งานวิจัย | วัตถุดิบ | วิธีการปรับสภาพ | การย่อย | | | | กลูโคส | การหมัก | | เอทานอล |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----|-----------|-------------------|---------|----------|---------|
| | | | เอนไซม์ | สารลดแรงตึงผิว | pH | อุณหภูมิ | | ยีสต์ | อุณหภูมิ | |
| Kaya และคณะ (1995) | เส้นใย ไซเลน | - | ไซเลนเนส 0.5 %w/w | - Trymeen 6606 - Olinor - Standapol-A 0.0015 %w/v | 4.8 | Room temp | 0.85 g/L | - | - | - |
| Eriksson และคณะ (2002) | ไม้เนื้ออ่อน จากต้นสน | ระเบิดด้วยไอน้ำ, 210-215 °C, 3-5 นาที | - เซลลูเลส 83 FPU/g substrate - เบต้ากลูโคซิเดส 23 IU/g substrate | - Tween 20 - Tween 80 - Triton X-100 - Triton X-114 2.5 g/L | 4.8 | 40 °C | 60% conversion | - | - | - |
| Hemmatinejad และคณะ (2003) | เส้นใยฝ้าย | - | เซลลูเลส 0.1-2 g/L | - Tinegal MR - Ultravon GPN 0.1-2 g/L | 4.5 | 50 °C | - | - | - | - |

| งานวิจัย | วัตถุดิบ | วิธีการปรับสภาพ | การย่อย | | | | กลูโคส | การหมัก | | เอทานอล |
|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----|----------|--------|--------------------------------------------------|----------|---------|
| | | | เอนไซม์ | สารลดแรงตึงผิว | pH | อุณหภูมิ | | ยีสต์ | อุณหภูมิ | |
| Alkasrawi และคณะ (2003) | ไม้เนื้ออ่อนจากต้นสน | ระเบิดด้วยไอน้ำ, 215 °C, 5 นาที | -เซลลูเลส 104 FPU/g substrate - เบต้ากลูโคซิเดส 38 IU/g substrate | Tween 80 2.5 g/L | 5 | - | - | <i>S.cerevisiae</i> (ยีสต์ขนมปัง) 0.5 %w/w | 37 °C | 20 g/L |
| Chen และคณะ (2006) | เซลลูโลสสังเคราะห์ | - | เซลลูเลส (<i>T.reesei</i>) | - Troton X-100 - AOT - CTEB 50 mM | 6 | 30-50 °C | 20 g/L | - | - | - |
| Lui และคณะ (2006) | ฟางข้าว รำข้าว ขี้เลื่อย | - | เซลลูเลส (<i>T.viride</i>) | - Rhamnolipid 0.006-0.018 % w/v - Tween 80 0.05-0.15 %w/v | 5 | 30 °C | - | - | - | - |

| งานวิจัย | วัตถุประสงค์ | วิธีการปรับสภาพ | การย่อย | | | | กลูโคส | การหมัก | | เอทานอล |
|-------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----|----------|------------------------------|---------------------------------------------|----------|---------|
| | | | เอนไซม์ | สารลดแรงตึงผิว | pH | อุณหภูมิ | | ยีสต์ | อุณหภูมิ | |
| Kim และคณะ (2007) | กระดาษหนังสือพิมพ์ | - NP 20 - Tween 80 0.5 %w/v, 40°C, 1 ชม. | เซลลูเลส 15 FPU/g substrate | - NP 20 - Tween 80 0.5 %w/v | 4.8 | 50 °C | 80% Con- version | - | - | - |
| บุทรศักดิ์ (2007) | เส้นใยปาล์ม | สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 %w/v, 90 °C, 15 นาที | - เซลลูเลส (<i>T.reesei</i>) 6 FPU/g substrate - เบต้ากลูโคซิเดส 3 IU/g substrate | Tween 80 2.5 g/L | 5 | 50 °C | 11.21 g/L | <i>S.cerevisiae</i> (YM agar) 10 %v/v | 35 °C | 8 g/L |
| Chu และคณะ (2013) | - กระดาษหนังสือพิมพ์ - กระดาษสำนักงาน | กรดฟอสฟอริก 8 g/L, 20 °C, 1 ชม. | เซลลูเลส (<i>T.reesei</i>) 18 %w/w | Tween 80 4.2-6.8 g/L | 4.8 | 50 °C | 86.6% Con- version | - | - | - |

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 วัสดุ

3.1.1 เส้นใยปาล์มเหลือทิ้งจากกระบวนการหีบน้ำมันแสดงดังภาพประกอบที่ 3-1
ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ทักษิณปาล์ม (2521) จำกัด จ.สุราษฎร์ธานี



ภาพประกอบที่ 3-1 ลักษณะของเส้นใยปาล์ม

3.1.2 เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase enzyme) จากเชื้อ *Trichoderma reesei* จาก
บริษัท Sigma-Aldrich มีกิจกรรมเอนไซม์ 0.39 FPU/ mg solid enzyme

3.1.3 ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ยี่ห้อ
Fermipan Brown

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 ขวดเซรัมขนาด 100 มิลลิลิตร

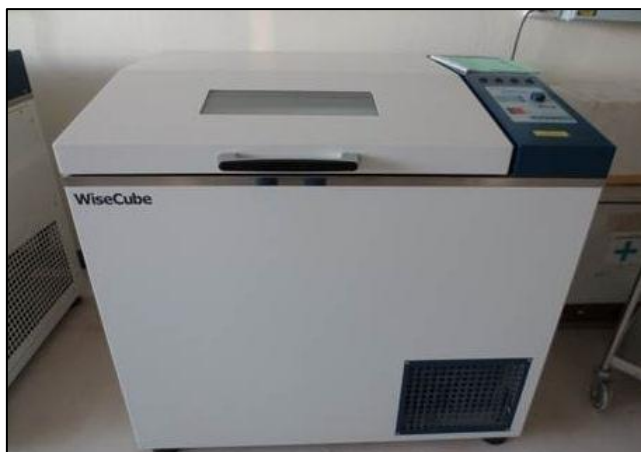
3.2.2 ปิเปต

3.2.3 กระจกดวง

3.2.4 หลอดทดลอง

3.2.5 บีกเกอร์

- 3.2.6 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
- 3.2.7 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 3.2.8 เครื่องวัด pH (pH meter)
- 3.2.9 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ยี่ห้อ WiseCube รุ่น WIS-10 แสดงดังภาพประกอบที่ 3-2
- 3.2.10 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuger)
- 3.2.11 เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer รุ่น HP 8453 แสดงดังภาพประกอบที่ 3-3
- 3.2.12 เครื่อง GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 แสดงดังภาพประกอบที่ 3-4
- 3.2.13 ตู้อบ (Oven)
- 3.2.14 เตาให้ความร้อน (Hotplate)
- 3.2.15 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman NO.1)
- 3.2.16 ชุดกรองสุญญากาศ
- 3.2.17 เตาเผา
- 3.2.18 โถดูดความชื้น
- 3.2.19 เครื่องร่อนตะแกรงมาตรฐาน
- 3.2.20 ครุฑิเบิล
- 3.2.21 ขวดฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.2.22 ขวดเก็บตัวอย่างขนาด 50 มิลลิลิตร
- 3.2.23 ซ้อนดักสาร
- 3.2.24 ขวดเตรียมตัวอย่าง (Vials) ขนาด 2 มิลลิลิตร
- 3.2.25 Syringe filter ขนาด 0.44 mm
- 3.2.26 ชุดควบคุมอุณหภูมิ (Temperature Controller)
- 3.2.27 แม่เหล็กกวน (Magnetic bar)
- 3.2.28 เครื่อง Scanning Electron Microscope, Quanta 400, FEI, Czech Republic



ภาพประกอบที่ 3-2 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) รุ่น WIS-10



ภาพประกอบที่ 3-3 เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer รุ่น HP 8453



ภาพประกอบที่ 3-4 เครื่อง GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890

3.3 สารเคมี

3.3.1 ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด (Dinitrosalicylic acid ,DNS), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Sigma-Aldrich

3.3.2 ฟีนอล (Phenol), ความบริสุทธิ์ 99.99%, บริษัท Fisher Scientific

3.3.3 โซเดียมโพแทสเซียมเตตระเตรท (Sodium Potassium tartrate), ความบริสุทธิ์ 99%, บริษัท Sigma-Aldrich

3.3.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Univar

3.3.5 กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid), ความบริสุทธิ์ 97%, บริษัท Merck

3.3.6 ก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen gas), บริษัท เซ้าท์เทอร์นลิควิด อ็อกซิเจน จำกัด

3.3.7 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide), ความบริสุทธิ์ 25% บริษัท LOBAChemie

3.3.8 เอทานอล (Ethanol), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Merck

3.3.9 เดคะไฮโดรเนฟทาลีน (Decahydronaphthalene), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Fluka

3.3.10 อะซิโตน (Acetone), ความบริสุทธิ์ 99.98%, บริษัท Fisher Scientific

3.3.11 สารลดแรงตึงผิว Polyoxyethylene octyl phenyl ether (Triton X-100), บริษัท Thai Chemical & Engineering

3.3.12 สารลดแรงตึงผิว Polyoxyethylenesorbitan monooleate (Tween 80), บริษัท Sigma-Aldrich

3.3.13 สารลดแรงตึงผิว Polyglycol ether surfactant (Tergitol 15-s-9), บริษัท Sigma-Aldrich

3.3.14 กรดซิตริก (Citric acid), ความบริสุทธิ์ 100.2%, บริษัท Fisher Scientific

3.3.15 ไตรโซเดียมซิเตรท (Tri-sodium citrate), ความบริสุทธิ์ 99%, บริษัท Fisher Scientific

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 การเตรียมและลดขนาดเส้นใยปาล์ม

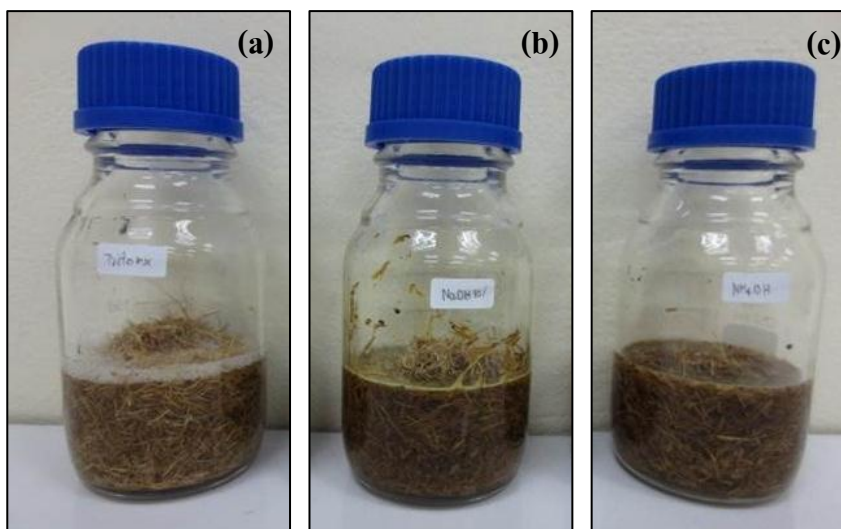
นำเส้นใยปาล์มที่ผ่านการหีบน้ำมันแล้วจากบริษัท ทักษิณปาล์ม (2521) จำกัด จังหวัดสุราษฎร์ธานี มาผึ่งแดดให้แห้งเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำมาตัดลดขนาดแล้วนำไปร่อนด้วยตะแกรงมาตรฐานให้มีขนาดระหว่าง 0.417-0.833 มิลลิเมตร ด้วยตะแกรงขนาดเมช 25 ($D = 0.833$ mm) และขนาดเมช 35 ($D = 0.417$ mm) หลังจากนั้นเก็บเส้นใยปาล์มไว้ในภาชนะปิดสนิทเพื่อป้องกันเชื้อราและความชื้น



ภาพประกอบที่ 3-5 เส้นใยปาล์มหลังลดขนาด

3.4.2 การศึกษาการปรับสภาพเส้นใยปาล์ม

นำเส้นใยปาล์มปริมาณ 20 กรัม บรรจุในขวดฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร นำขวดตัวอย่างมาเติมด้วยสารละลายที่แตกต่างกันเพื่อใช้ในการปรับสภาพ คือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และสารละลายสารลดแรงตึงผิว Triton X-100 ที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณ 200 มิลลิลิตร นำขวดบรรจุไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำเส้นใยปาล์มมาล้างด้วยน้ำจน pH เป็นกลางแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลสและลิกนินด้วยวิธี AOAC Method เพื่อหาวิธีการปรับสภาพที่เหมาะสม โดยเลือกวิธีการปรับสภาพที่ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุด และปริมาณลิกนินลดลงมากที่สุด รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก



ภาพประกอบที่ 3-6 ทะลายปาล์มในสารละลายที่ใช้ปรับสภาพ

(a) สารลดแรงตึงผิว Triton X-100 (b) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (c) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

3.4.3 การศึกษาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม

นำเส้นใยปาล์มแห้งที่ผ่านการปรับสภาพแล้วปริมาณ 0.6 กรัม มาบรรจุในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายซีเตรตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร และเอนไซม์เซลลูเลส 5 10 20 และ 30 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์มตามลำดับ จากนั้นนำขวดบรรจุลงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างที่เวลา 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้มากรองแล้วนำไปวิเคราะห์หาค่าน้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ($\lambda=540$ นาโนเมตร) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสแสดงดังภาคผนวก ก



ภาพประกอบที่ 3-7 เส้นใยปาล์มอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.4.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวและเวลาที่เหมาะสมในกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม

นำเส้นใยปาล์มแห้งที่ผ่านการปรับสภาพแล้วปริมาณ 0.6 กรัม มาบรรจุในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายซเตรตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม และสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.1 0.25 0.5 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำขวดบรรจุลงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างของแต่ละความเข้มข้นที่เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้มากรองแล้วนำไปวิเคราะห์หาค่าน้ำตาลกลูโคส ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ($\lambda=540$ นาโนเมตร) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก

3.4.5 การศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์ม

ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.4.4 แต่เปลี่ยนชนิดของสารลดแรงตึงผิวเป็น Tergitol 15-s-9 แล้วทำการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้



ภาพประกอบที่ 3-8 ขวดตัวอย่างการย่อยเส้นใยปาล์ม (ขนาดขวดตัวอย่าง 100 มิลลิตร)

3.4.6 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการหมักเอทานอล

3.4.6.1 การศึกษาปริมาณยีสต์ที่เหมาะสม และผลของสารลดแรงตึงผิวต่อ

การหมักเอทานอลแบบ Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF)

นำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยด้วยสภาวะที่เหมาะสมจากการใช้เอนไซม์เซลลูเลส ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด นำมากรองเพื่อแยกกากเส้นใยปาล์มและสารละลายน้ำตาลออกจากกัน นำสารละลายที่ได้ของแต่ละชนิดไปทำการหมักโดยเติมยีสต์ขนมปัง 1 2 3 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ นำขวดตัวอย่างไปใส่อากาศโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน จากนั้นนำขวดบรรจุลงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างของแต่ละความเข้มข้นที่เวลา 12 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ นำของเหลวตัวอย่างไปทำการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เพื่อแยกยีสต์ออกจากนั้นกรองด้วย Syringe filter ขนาด 0.44 มิลลิเมตร นำของเหลวใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่อง GC สภาวะที่ใช้วิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก เปรียบเทียบความเข้มข้นเอทานอลที่ได้ระหว่างการใส่สารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 กับระบบที่ไม่ใส่สารลดแรงตึงผิว เลือกปริมาณยีสต์และเวลาที่ทำให้ได้ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก



ภาพประกอบที่ 3-9 ขวดตัวอย่างการหมักเอทานอลแบบ SHF (ขวดตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร)

3.4.6.2 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอล

แบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

นำเส้นใยปาล์มแห้งที่ผ่านการปรับสภาพแล้วปริมาณ 0.6 กรัม บรรจุในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายซัคเคโรสบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม สารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปริมาณยีสต์خمปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วนำขวดตัวอย่างไปใส่ในตู้หมักโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน จากนั้นนำขวดบรรจุลงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างที่เวลา 12 24 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ นำของเหลวตัวอย่างไปทำการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เพื่อแยกยีสต์ออกจากนั้นกรองด้วย Syringe filter ขนาด 0.44 มิลลิเมตร นำของเหลวที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่อง GC สภาวะที่ใช้วิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก เปรียบเทียบความเข้มข้นเอทานอลที่ได้ระหว่างการใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 กับระบบไม่ใส่สารลดแรงตึงผิว

3.4.6.3 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอล

แบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) แบบ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF

นำเส้นใยปาล์มแห้งที่ผ่านการปรับสภาพแล้วปริมาณ 0.6 กรัม มาบรรจุในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายซัคเคโรสบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม สารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์

โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำขวดตัวอย่างบรรจุลงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำขวดตัวอย่างมาเติมยีสต์ขุ่นมบ่ง แล้วนำไปใส่อากาศโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน หลังจากนั้นนำขวดตัวอย่างบรรจุใส่กลับลงในเครื่องเขย่า โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างที่เวลา 12 24 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำของเหลวตัวอย่างไปทำการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เพื่อแยกยีสต์ออกจากนั้นกรองด้วย Syringe filter ขนาด 0.44 มิลลิเมตร นำของเหลวใส่ที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่อง GC สภาวะที่ใช้วิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก เปรียบเทียบความเข้มข้นเอทานอลที่ได้ระหว่างการใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 กับกรณีไม่ได้สารลดแรงตึงผิว



ภาพประกอบที่ 3-10 ขวดตัวอย่างการหมักเอทานอลแบบ SSF (ขวดตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร)

การคำนวณผลได้ของน้ำตาลกลูโคส (Glucose yield) และเอทานอล (Ethanol yield) แสดงดังสมการที่ 3-1 และ 3-2 ตามลำดับ

$$\text{ผลได้ของน้ำตาลกลูโคส (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(\text{ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส, กรัมต่อลิตร}) (\text{ปริมาตรสารละลายของการย่อย, ลิตร})}{\text{น้ำหนักเส้นใยปาล์ม, กรัม}} \times 100 \quad (3-1)$$

$$\text{ผลได้ของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(\text{ความเข้มข้นเอทานอล, กรัมต่อลิตร}) / (\text{ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น, กรัมต่อลิตร})}{0.51} \times 100 \quad (3-2)$$

หมายเหตุ: 0.51 คือ ค่าผลได้ทางทฤษฎีของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล

3.4.7 การประเมินต้นทุนเบื้องต้นในการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในการผลิตเอทานอล

ทำการประเมินต้นทุนในการผลิตเอทานอลของแต่ละวิธี โดยพิจารณาจากสภาวะที่ดีที่สุด ทำการประเมินค่าใช้จ่ายจากค่าเอนไซม์เซลลูเลส สารลดแรงตึงผิว และยีสต์ขนมปัง

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการปรับสภาพเส้นใยปาล์ม

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของเส้นใยปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการทางกายภาพ โดยการนำมาตัดลดขนาดและร่อนด้วยตะแกรงให้มีขนาดอยู่ระหว่าง 0.417-0.833 มิลลิเมตร พบว่าเส้นใยปาล์มมีองค์ประกอบของเซลลูโลสและลิกนิน 41 และ 11 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Shinoj และคณะ (2011) ดังตารางที่ 4-1 จะเห็นว่าองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4-1 องค์ประกอบของเส้นใยปาล์ม

| งานวิจัย | องค์ประกอบของเส้นใยปาล์ม | |
|----------------------|--------------------------|----------------------|
| | เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์) | ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์) |
| งานวิจัยนี้ | 41 | 11 |
| Shinoj และคณะ (2011) | 43 | 13 |

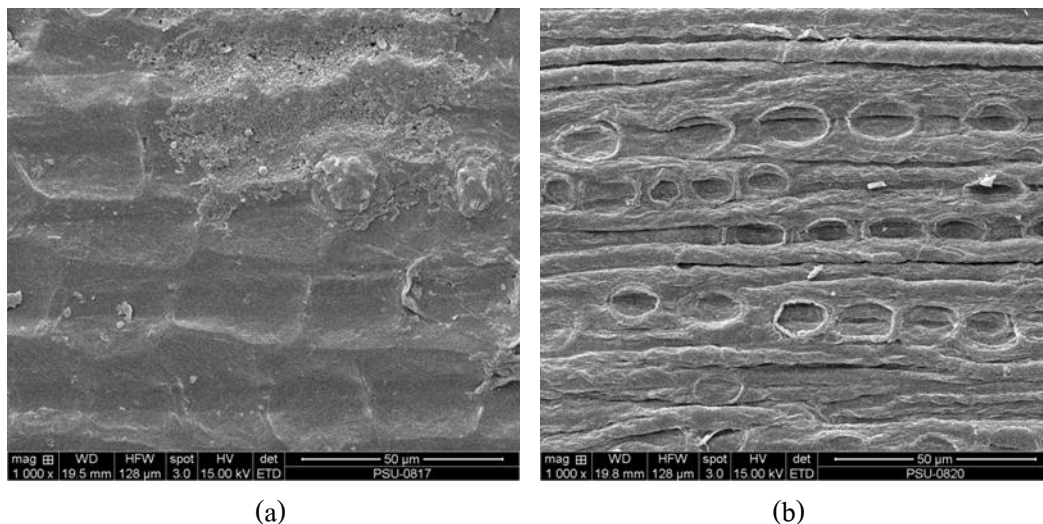
เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มกับลิกโนเซลลูโลสประเภทอื่นๆ เช่น ลำต้นไม้เนื้อแข็ง แคนฝักข้าวโพด ทะลายปาล์ม รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2-1 จะเห็นได้ว่าวัสดุเหล่านี้มีปริมาณเซลลูโลสสูงกว่าเส้นใยปาล์ม แต่อย่างไรก็ตามเมื่อดูจากลักษณะทางกายภาพ เส้นใยปาล์มจะมีขนาดเล็กกว่าและมีความแข็งน้อยกว่า เนื่องจากมีองค์ประกอบของลิกนินน้อยกว่า ทำให้ง่ายต่อการนำมาบดหรือตัดเพื่อลดขนาด เส้นใยปาล์มจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสที่น่าสนใจในการนำไปผลิตเป็นเอทานอล

นอกจากนี้เมื่อนำเส้นใยปาล์มมาทำการปรับสภาพโดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และสารลดแรงตึงผิว Triton X-100 ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของเส้นใยปาล์มตามวิธีการ AOAC Method รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 องค์ประกอบของเส้นใยปาล์มก่อนและหลังปรับสภาพ

| วิธีการปรับสภาพ | องค์ประกอบของเส้นใยปาล์ม | |
|------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| | เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์) | ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์) |
| ก่อนปรับสภาพ | 41.00 | 11.34 |
| หลังปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (10% w/v) | 57.33 | 9.67 |
| หลังปรับสภาพด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (10% w/v) | 48.33 | 11.00 |
| หลังปรับสภาพด้วยสารลดแรงตึงผิวTriton X-100 (10% w/v) | 48.33 | 10.33 |

จากตารางที่ 4-2 จะเห็นได้ว่าวิธีการปรับสภาพทั้ง 3 วิธีสามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสและลดปริมาณลิกนินของเส้นใยปาล์มได้ การปรับสภาพโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสและลดปริมาณลิกนินลงได้มากที่สุด รองลงมาคือ สารลดแรงตึงผิว Triton X-100 และ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถละลายองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มได้ทั้งในส่วนของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน (Umikalsom และคณะ, 1997) สำหรับแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ Qin และคณะ (2013) รายงานว่าสามารถละลายองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มในส่วนของลิกนินได้ แต่ในงานวิจัยนี้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์สามารถลดปริมาณลิกนินของเส้นใยปาล์มได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และสำหรับการใช้สารลดแรงตึงผิวในการปรับสภาพ สามารถลดปริมาณลิกนินได้เล็กน้อยและเพิ่มปริมาณเซลลูโลสได้เทียบเท่ากับการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จากงานวิจัยของ Kim และคณะ (2007) พบว่าสารลดแรงตึงผิวจะช่วยในการปรับสภาพซัสเตรตประเภทกระดาษหนังสือพิมพ์ได้ดี เนื่องจากจะช่วยกำจัดพวกหมึกพิมพ์และลิกนินอันเป็นอุปสรรคต่อการย่อยของเอนไซม์ ทำให้อัตราการย่อยของเอนไซม์สูงขึ้น แต่จากการทดลองในงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่าสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อการปรับสภาพเส้นใยปาล์มไม่มากนัก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นวิธีการปรับสภาพเส้นใยปาล์มที่เหมาะสมในการนำไปศึกษาในขั้นตอนการย่อยต่อไป ลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์มก่อนปรับสภาพและหลังผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งได้จากการถ่ายภาพอิเล็กตรอนไมโครกราฟ (Scanning Electron Microscope, SEM) แสดงดังภาพประกอบที่ 4-1



(a)

(b)

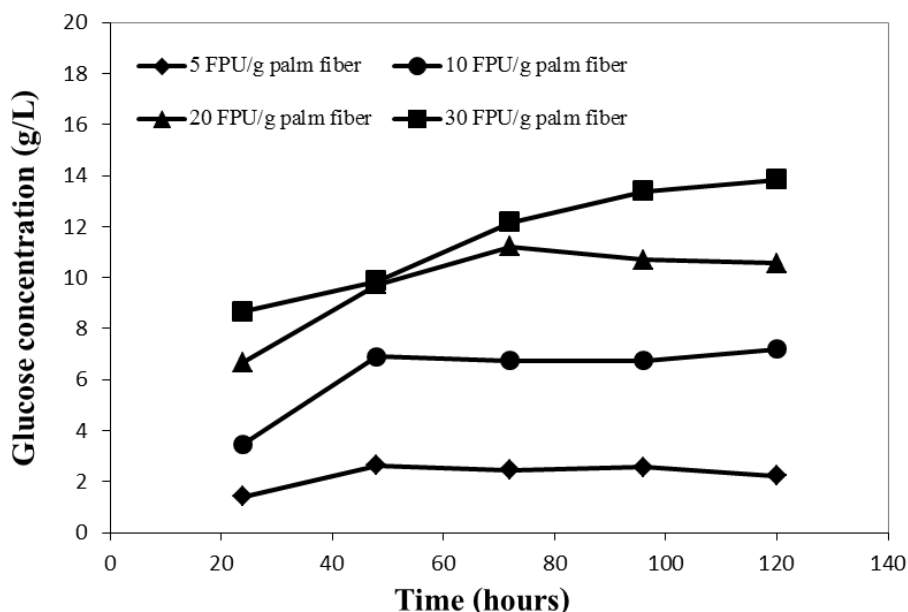
ภาพประกอบที่ 4-1 ลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์ม

(a) ก่อนปรับสภาพ (b) หลังผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

จากภาพประกอบที่ 4-1 จะเห็นได้ว่าเส้นใยปาล์มหลังผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะมีลักษณะเป็นรูพรุนมากกว่าก่อนปรับสภาพ เนื่องจากกลไกที่ผิวได้ถูกกำจัดออกไป ซึ่งจะส่งผลดีต่อขั้นตอนการย่อย คือ ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยได้ง่ายขึ้น

4.2 ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม

จากการทดลองย่อยเส้นใยปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพแล้วปริมาณ 0.6 กรัม ในสารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร โดยการเติมเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 10 20 และ 30 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ตามลำดับ ควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวของแต่ละความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-2



ภาพประกอบที่ 4-2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเทียบกับเวลาจากการย่อยเส้นใยปาล์ม โดยใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสต่างกัน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

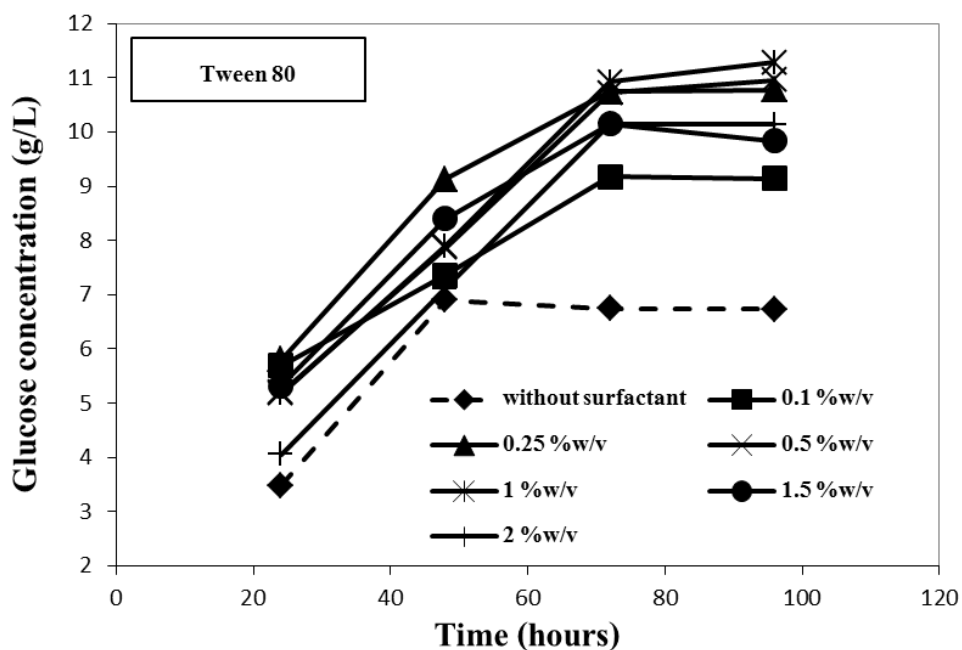
จากผลการทดลองพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ 5 และ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ในช่วง 48 ชั่วโมงแรก ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้น และหลังจาก 48 ชั่วโมงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเริ่มคงที่ ขณะที่ปริมาณเอนไซม์ 20 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นตลอดช่วง 72 ชั่วโมงแรก และเริ่มคงที่เมื่อหลังจาก 72 ชั่วโมง และที่ปริมาณเอนไซม์ 30 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นตลอดช่วง 96 ชั่วโมงแรก และเริ่มคงที่เมื่อหลังจาก 96 ชั่วโมง

เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่อปริมาณเอนไซม์พบว่า การเพิ่มปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก 5 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม เป็น 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การเพิ่มปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์มเป็น 20 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม และจาก 20 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์มเป็น 30 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์มตามลำดับ นอกจากนี้งานวิจัยของ Chu และคณะ (2013) และ Parnthong และ Kungsanant (2014) พบว่าสารลดแรงตึงผิวส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์ใ้ได้น้ำตาลกลูโคสสูงขึ้นในช่วงที่มีปริมาณเอนไซม์ต่ำมากกว่าช่วงที่มีปริมาณเอนไซม์สูง ดังนั้นเมื่อพิจารณาในเชิงเศรษฐศาสตร์และการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยด้วยสารลดแรงตึงผิว ปริมาณเอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์มจึงเป็นปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยเส้นใยปาล์มร่วมกับสารลดแรงตึงผิวต่อไป โดยเอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม

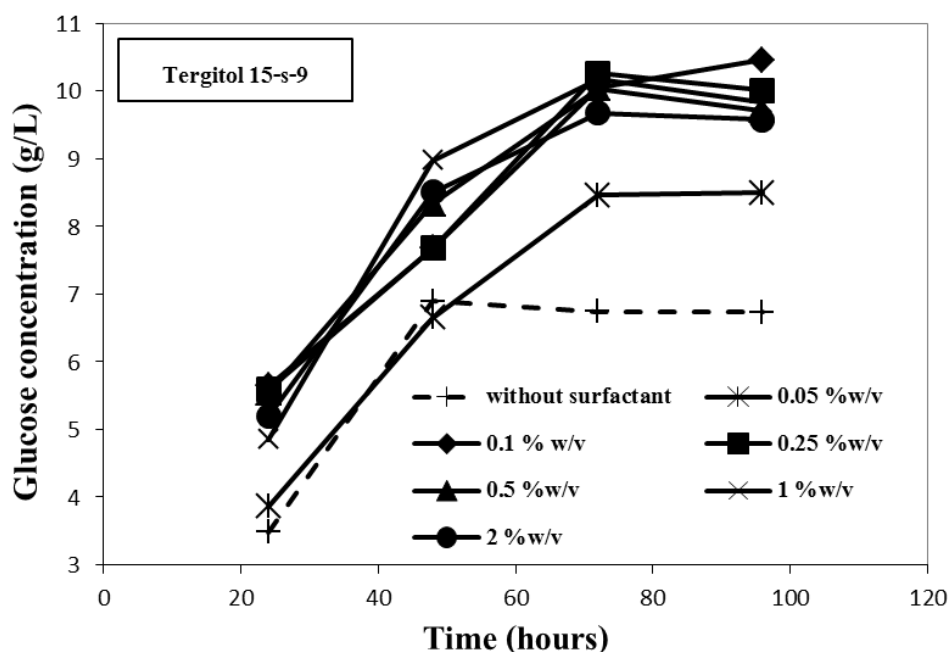
ใช้เวลาในการย่อยที่เหมาะสม 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 6.90 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นผลได้ของน้ำตาลกลูโคส 33.72 เปอร์เซ็นต์

4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวและเวลาที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม

จากการศึกษาการย่อยเส้นใยปาล์มโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิวสองชนิด คือ สารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 ในการทดลองใช้เส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม สารละลายซิงเกอร์บัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม เติมสารลดแรงตึงผิวความเข้มข้นต่างๆ ควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นของแต่ละชนิดสารลดแรงตึงผิวที่เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-3 และ 4-4



ภาพประกอบที่ 4-3 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเทียบกับเวลาจากการย่อยเส้นใยปาล์มโดยใช้เอนไซม์ เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน pH 5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที



ภาพประกอบที่ 4-4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเทียบกับเวลาจากการย่อยเส้นใยปาล์มโดยใช้เอนไซม์ เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ กัน pH 5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

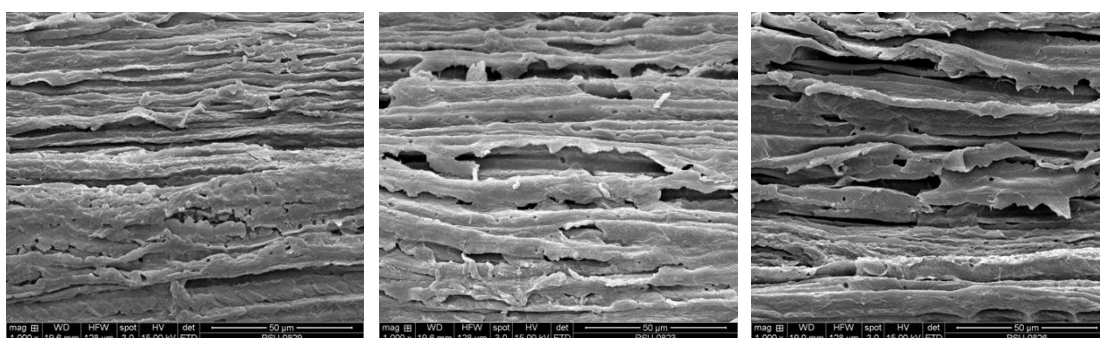
จากผลการทดลองดังภาพประกอบที่ 4-3 และ 4-4 พบว่าระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิด คือ Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 ร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยเส้นใยปาล์ม ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงกว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว โดยสำหรับระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นในช่วง 48 ชั่วโมงแรก และเริ่มคงที่หลังจาก 48 ชั่วโมง สำหรับระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จะยิ่งสูงในช่วง 72 ชั่วโมงแรก และจะเริ่มคงที่หลังจาก 72 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวใช้เวลาในการย่อยนานกว่าและได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงกว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิวตลอดทุกช่วงเวลา ดังนั้นจึงเลือกเวลา 72 ชั่วโมงเป็นเวลาที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์มด้วยเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิว

เมื่อพิจารณา ณ เวลาการย่อย 72 ชั่วโมง ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ดังภาพประกอบที่ 4-3 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในช่วง 0-0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำให้ปริมาณน้ำตาลที่ได้เพิ่มสูงขึ้น และจะมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 0.25-1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณน้ำตาลที่ได้จะเริ่มลดลง ในขณะที่ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-4 พบว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในช่วง 0-0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้เพิ่มสูงขึ้น และจะมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 0.1-1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณน้ำตาลที่ได้จะเริ่มลดลงเช่นเดียวกัน

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยเส้นใยปาล์มโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 คือ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้เวลาในการย่อย 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 10.75 กรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้คิดเป็น 55.79 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว และสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยเส้นใยปาล์ม โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 คือ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้เวลาในการย่อย 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 10.05 กรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้คิดเป็น 45.65 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มอัตราการย่อยของเอนไซม์ได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากสารลดแรงตึงผิวช่วยลดแรงตึงระหว่างผิวของน้ำและเส้นใย ช่วยให้เอนไซม์สามารถเข้าย่อยสลายได้ดีขึ้น อีกทั้งการเกิดไมเซลจะช่วยให้เกิดปฏิกิริยาระหว่าง

เอนไซม์กับซัพสเตรทเกิดได้ดีขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์โลสเป็นน้ำตาลกลูโคสได้สูงขึ้น นอกจากนี้บางงานวิจัยพบว่าสารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มเสถียรภาพ (Stability) ของเอนไซม์ และป้องกันการเสื่อมสภาพ (Degeneration) ทางความร้อนของเอนไซม์ระหว่างการย่อย (Erikson และคณะ, 2003) นอกจากนี้ Alkasrawi และคณะ (2003) รายงานว่าสารลดแรงตึงผิวจะช่วยป้องกันเอนไซม์ไม่ให้ถูกยับยั้งบนลิกนิน ทำให้มีปริมาณเอนไซม์อิสระในการย่อยสลายเซลล์โลสในระบบที่สูงขึ้น อย่างไรก็ตามหากความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสูงเกินไปจะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้ต่ำลง อาจกล่าวได้ว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่สูงเกินไปทำให้เอนไซม์ถูกตรึงอยู่ภายในไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิว และปริมาณไมเซลล์ที่หนาแน่นจะทำให้เกิดการขัดขวางการเข้าย่อยสลายเซลล์โลสด้วยเอนไซม์ได้ และบางงานวิจัยยังพบว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่สูงเกินไปทำให้ pH ของระบบเกิดการเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการย่อยของเอนไซม์ต่ำลง (Chu และคณะ, 2013) ลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์มหลังผ่านการย่อยจากการถ่ายภาพอิเล็กตรอนไมโครกราฟแสดงดังภาพประกอบที่ 4-5 จะเห็นได้ว่าเส้นใยปาล์มที่ผ่านการย่อยร่วมกับการใช้สารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิด จะมีการย่อยสลายโดยเอนไซม์มากกว่าแบบที่ไม่ใช้สารลดแรงตึงผิว



(a)

(b)

(c)

ภาพประกอบที่ 4-5 ลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์มหลังผ่านการย่อย

(a) ไม่ใช้สารลดแรงตึงผิว

(b) ใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 (0.25 %w/v)

(c) ใช้สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 (0.1 %w/v)

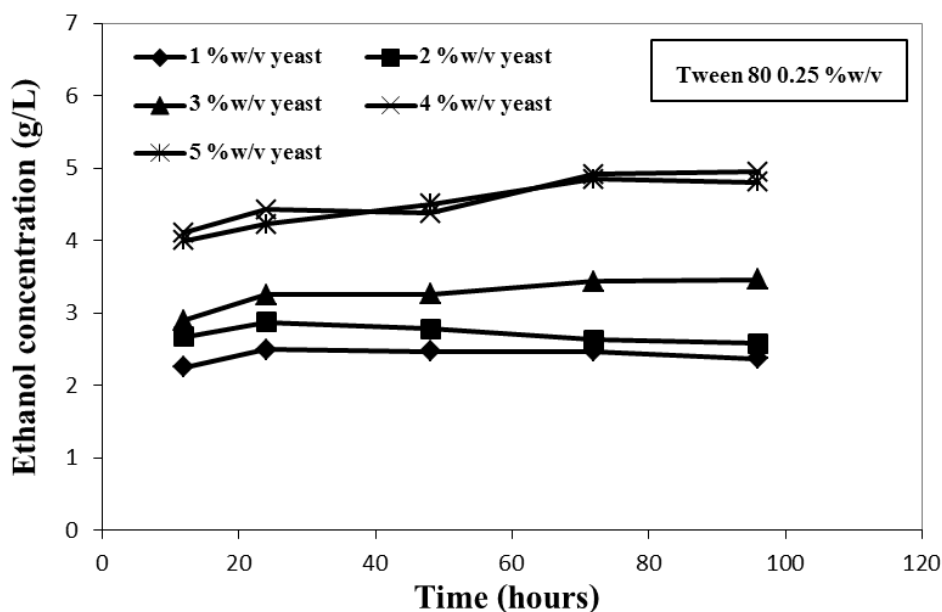
4.4 ผลการศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมต่อการย่อยเส้นใยปาล์ม

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์มของการใช้สารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดแสดงดังภาพประกอบที่ 4-3 และ 4-4 จะเห็นได้ว่าระบบใช้เวลาในการเข้าสู่สมดุลเท่ากันที่ 72 ชั่วโมง โดยการใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 10.75 กรัมต่อลิตร และ 10.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 จะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสใกล้เคียงกับการใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 โดยที่ใช้ความเข้มข้นต่ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจากสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 มีลักษณะโครงสร้างเป็นโซ่กิ่ง ณ ขณะที่โมเลกุลสารลดแรงตึงผิวเข้าไปเกาะลิกนินจะเกิดการจัดเรียงตัวเกาะกันแบบหลวมๆ ส่วนสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างเป็นโซ่ตรงจะเกิดการจัดเรียงตัวเกาะกันอย่างหนาแน่นขณะเข้าไปเกาะลิกนิน ทำให้ต้องใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อหน่วยพื้นที่มากกว่า อีกทั้งสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ใช้ปริมาณน้อยกว่าซึ่งถือว่ามีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าในแง่ของการปล่อยทิ้งสู่แหล่งน้ำ ดังนั้นสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 จึงเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีความน่าสนใจต่อกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังคงศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดต่อกระบวนการหมักเอทานอลต่อไป

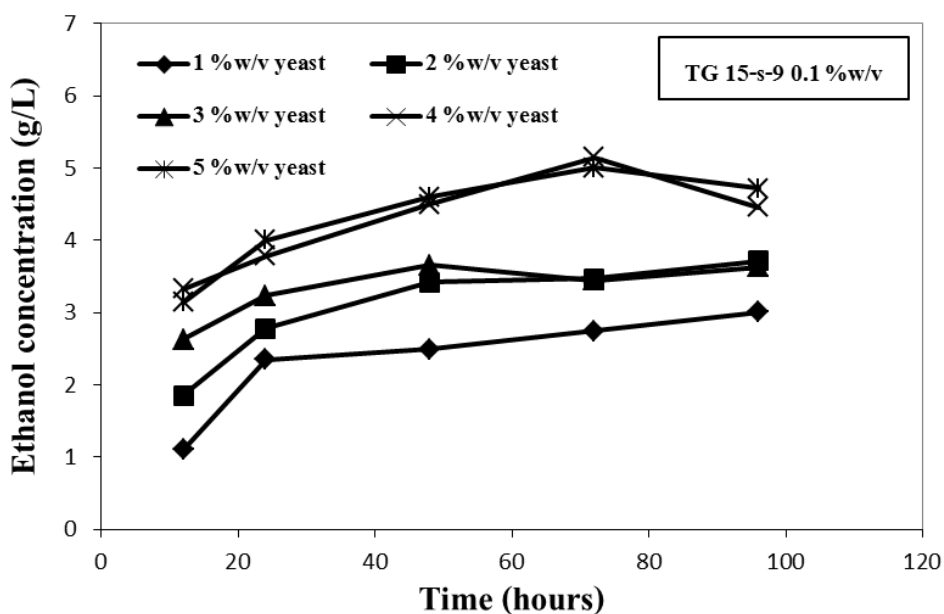
4.5 ผลการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอล

4.5.1 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอลแบบ Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF)

นำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมจากการศึกษาการย่อย มากรองเพื่อแยกกากเส้นใยปาล์มและสารละลายน้ำตาลออกจากกัน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ของสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดมาทำการหมักโดยเติมยีสต์ขนมปังที่มีความเข้มข้น 1-5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างของเหลวของแต่ละความเข้มข้นของยีสต์ขนมปังของแต่ละชนิดสารลดแรงตึงผิว ที่เวลา 12 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-6 และ 4-7



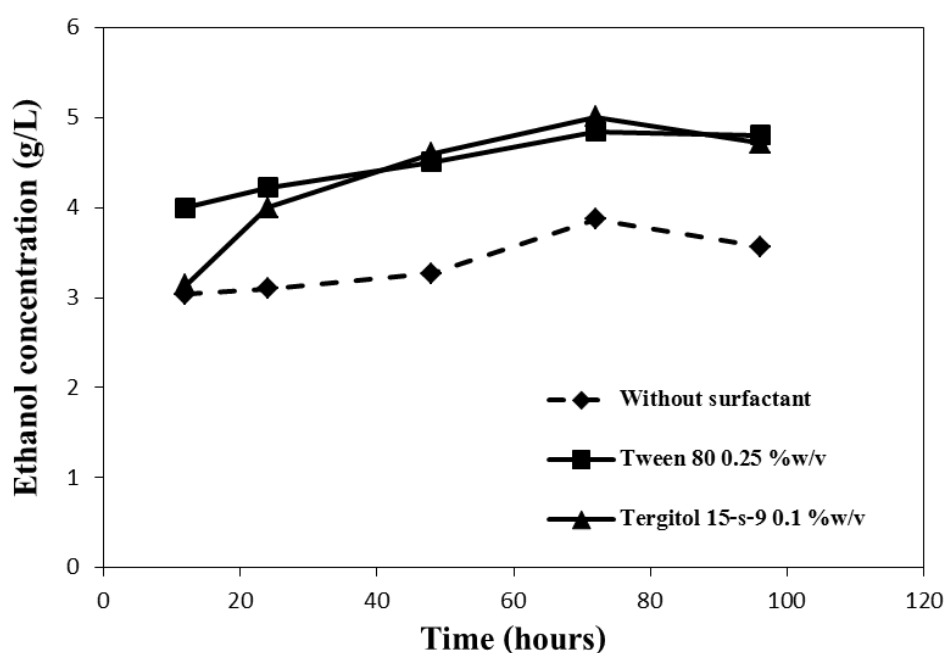
ภาพประกอบที่ 4-6 ปริมาณเอทานอล ณ เวลาต่างกัน จากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที



ภาพประกอบที่ 4-7 ปริมาณเอทานอล ณ เวลาต่างกัน จากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

จากผลการทดลองดังภาพประกอบที่ 4-6 และ 4-7 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณยีสต์ขนมปังจาก 0 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จะยิ่งสูงขึ้น และเริ่มคงที่ที่ปริมาณยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเมื่อพิจารณาการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 ที่ปริมาณยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าเมื่อเวลานานขึ้นปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักร่วมด้วยสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดจะเพิ่มขึ้น สำหรับการใส่สารลดแรงตึงผิว Tween 80 ใช้เวลาที่เหมาะในการหมัก 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอล 4.43 กรัมต่อลิตร ขณะที่การใส่สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ใช้เวลาที่เหมาะสมในการหมัก 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอล 4.50 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักระหว่างระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวกับระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวที่ปริมาณยีสต์ 4 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-8



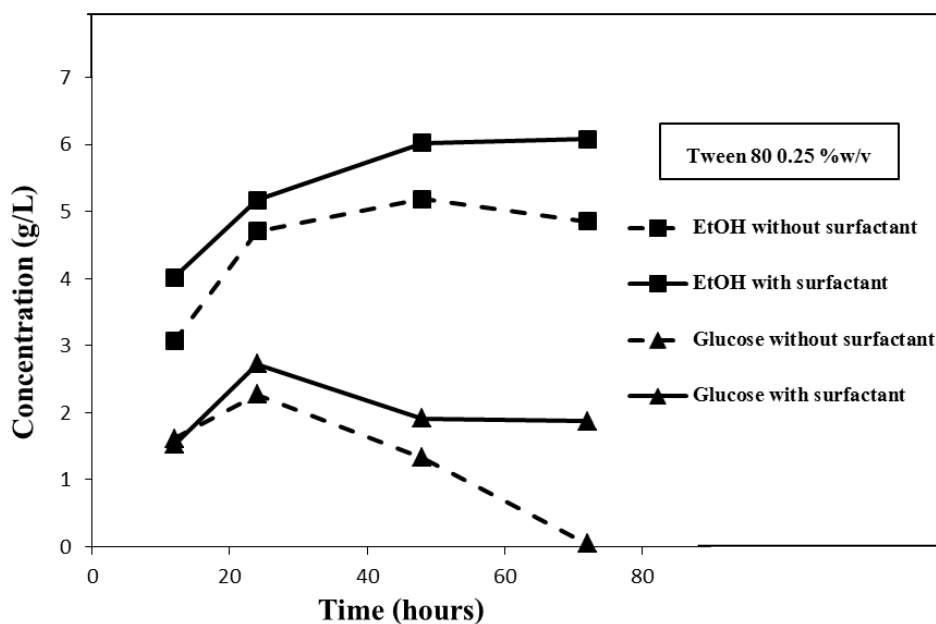
ภาพประกอบที่ 4-8 ปริมาณเอทานอล ณ เวลาต่างกัน จากการหมักเอทานอลด้วยสารละลายที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวเปรียบเทียบกับการหมักที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว ที่ปริมาณยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

จากผลการทดลองดังภาพประกอบที่ 4-8 แสดงให้เห็นว่าการหมักเอทานอลจากสารละลายที่ได้จากการขึ้นตอนการย่อยโดยไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวที่ปริมาณยีสต์ 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้เวลาที่เหมาะสมในการหมัก 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอล 3.10 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ปริมาณเอทานอลน้อยกว่าการหมักสารละลายที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวในขั้นตอนการย่อย ทั้งนี้เนื่องจากการย่อยที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว จะทำให้ปริมาณน้ำตาลในตอนเริ่มต้นของกระบวนการหมักมีค่าสูงกว่าระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว โดยพบว่าการย่อยที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงขึ้นคิดเป็น 42.90 เปอร์เซ็นต์ของระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว และการย่อยที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงขึ้นคิดเป็น 45.16 เปอร์เซ็นต์ของระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว

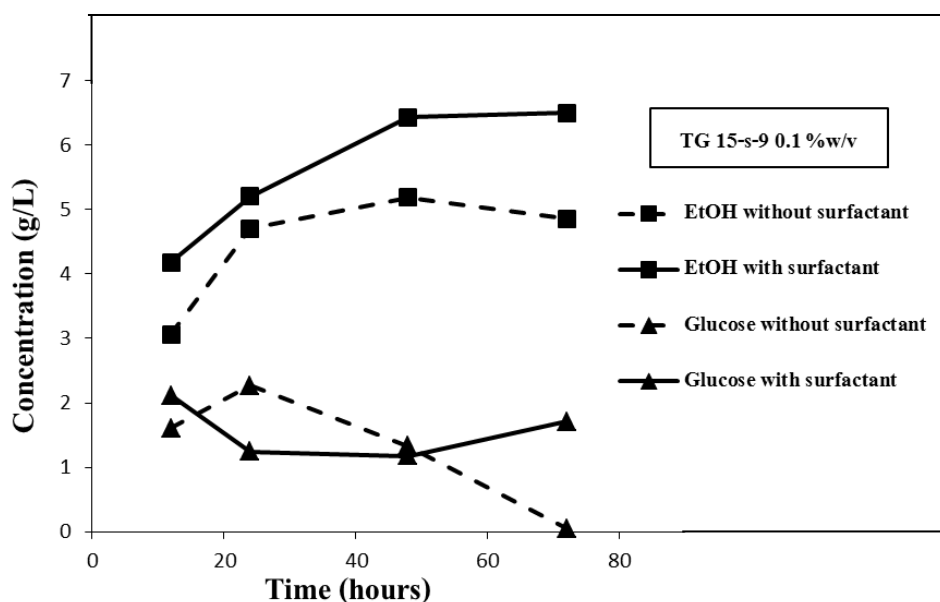
จะเห็นได้ว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวในขั้นตอนการย่อยส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงขึ้นด้วย ดังนั้นการเติมสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดจึงช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SHF

4.5.2 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอลแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

จากการทดลองหมักเอทานอลจากเส้นใยปาล์มแบบ SSF โดยใช้เส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม บรรจุในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายซเตรทบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม เติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างที่เวลา 12 24 48 และ 72 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้กับระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-9 และ 4-10



ภาพประกอบที่ 4-9 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักแบบ SSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tween 80 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

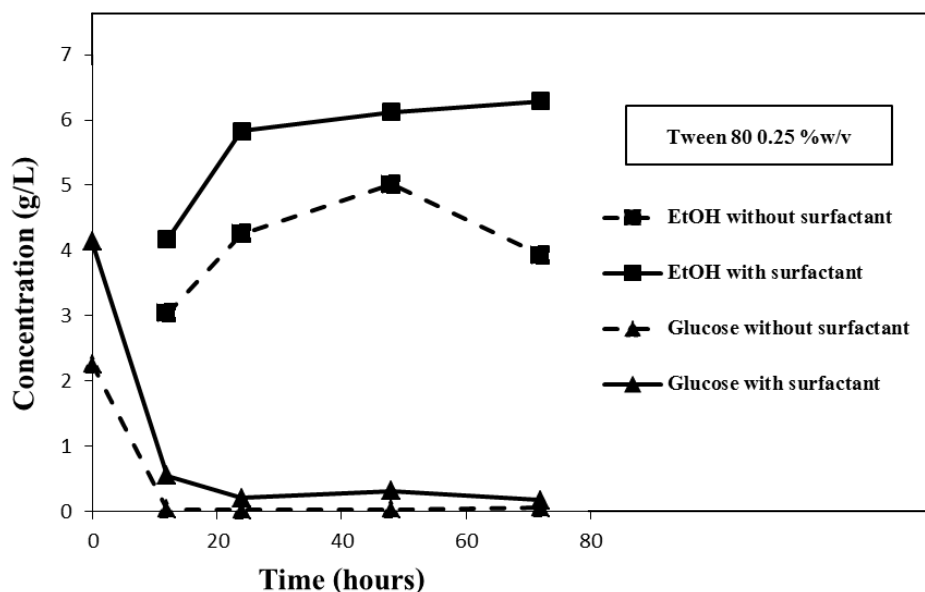


ภาพประกอบที่ 4-10 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักแบบ SSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

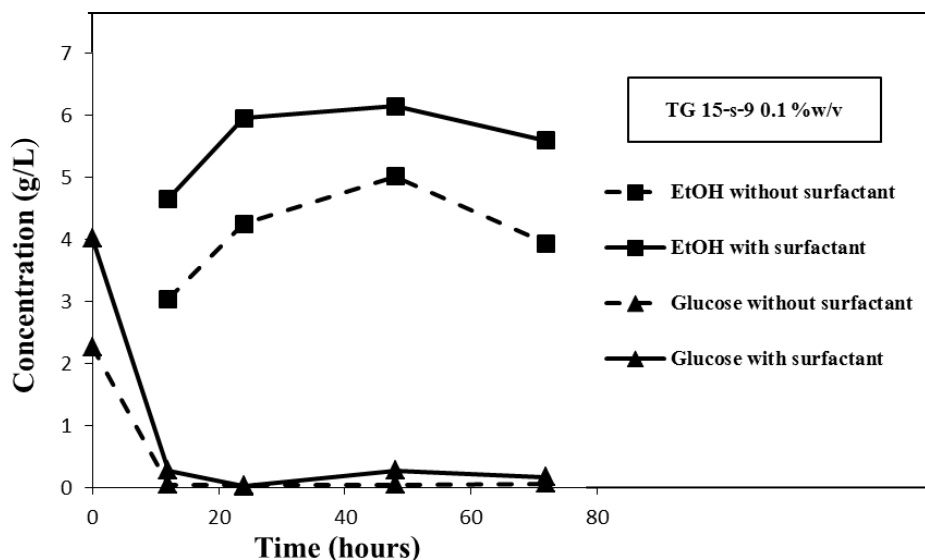
จากผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-9 และ 4-10 จะเห็นได้ว่าระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิวตลอดทุกช่วงเวลา ผลการทดลองของสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดแสดงผลสอดคล้องกัน โดยเมื่อพิจารณาเวลาที่เพิ่มขึ้นต่อปริมาณเอทานอลที่ได้พบว่า ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวจะเข้าสู่สมดุลช้ากว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว ซึ่งจากการทดลองพบว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 5.19 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก ในขณะที่การเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้เวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอล 6.02 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 15.99 เปอร์เซ็นต์ของระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว และระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเมื่อทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมงเท่ากัน โดยจะให้ปริมาณเอทานอล 6.43 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 23.89 เปอร์เซ็นต์ของระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว จะเห็นได้ว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดในการหมักเอทานอลแบบ SSF ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงขึ้นกว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว โดยความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 มีค่าน้อยกว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tween-80 แต่กลับให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 จะให้การสะสมของน้ำตาลกลูโคสในระบบน้อยกว่า ทำให้การเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นเอทานอลเกิดได้เร็วส่งผลให้เกิดเอทานอลมากกว่า ดังนั้นสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 จึงเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีความเหมาะสมต่อระบบการหมักแบบ SSF

4.5.3 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอลแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) แบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF

จากการทดลองนำเส้นใยปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพแล้วปริมาณ 0.6 กรัม มาบรรจุในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายซิวเตรตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม สารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำขวดบรรจุลงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำขวดบรรจุมาเข้าสู่ขั้นตอนการหมักโดยเติมยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างแต่ละชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เวลา 12 24



ภาพประกอบที่ 4-11 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักเอทานอลแบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้าSSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tween 80 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

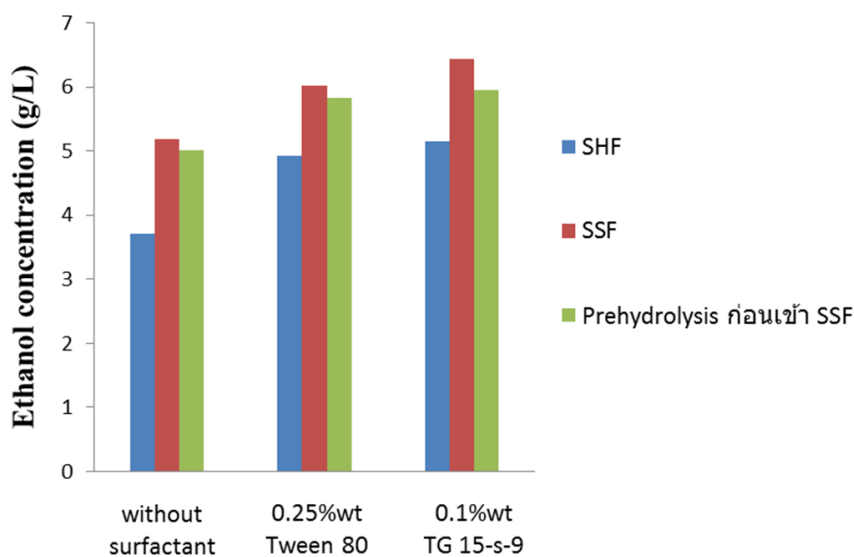


ภาพประกอบที่ 4-12 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคส ณ เวลาต่างกัน ในการหมักเอทานอลแบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้าSSF โดยใช้เอนไซม์ 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5 และอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นที่เวลาต่างๆกัน เปรียบเทียบความเข้มข้นเอทานอลที่ได้ระหว่างการใส่สารลดแรงตึงผิว Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 กับกรณีที่ไม่ใส่สารลดแรงตึงผิว ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-11 และ 4-12

จากผลการทดลองดังภาพประกอบที่ 4-11 และ 4-12 จะเห็นได้ว่าในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงแรกซึ่งเป็นช่วงของการ Prehydrolysis ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเมื่อเริ่มต้นกระบวนการหมักมีค่าสูง โดยระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 4.14 กรัมต่อลิตร ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 4.02 กรัมต่อลิตร และระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 2.26 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวมีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นสูงกว่าระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว ผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อเข้าสู่กระบวนการหมักแบบ SSF โดยเติมยีสต์ขมบึง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงขณะที่ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้น สำหรับระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด 5.01 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง ขณะที่ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าปริมาณเอทานอลที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมงมีค่าใกล้เคียงกัน คือ ดังนั้นเพื่อความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จึงเลือกที่เวลา 24 ชั่วโมงเป็นเวลาที่เหมาะสม ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ได้ปริมาณเอทานอล 5.83 กรัมต่อลิตร สูงขึ้นคิดเป็น 37.18 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว และระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ได้ปริมาณเอทานอล 5.94 กรัมต่อลิตร สูงขึ้นคิดเป็น 39.76 เปอร์เซ็นต์ของกรณีไม่เติมสารลดแรงตึงผิว จะเห็นได้ว่าการหมักแบบ SSF แบบมีการ Prehydrolysis ขั้นตอนการหมักจะใช้เวลาน้อยกว่าการหมักแบบ SHF หรือ SSF อย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตามจะใช้เวลาในกระบวนการทั้งหมดเท่ากัน คือ 48 ชั่วโมง

เมื่อนำปริมาณเอทานอลที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมของการหมักแต่ละแบบของแต่ละชนิดสารลดแรงตึงผิวมาเปรียบเทียบกันแสดงดังภาพประกอบที่ 4-13



ภาพประกอบที่ 4-13 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมักเปรียบเทียบระหว่างการหมักแบบ SHF, SSF และแบบ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF

จากผลการเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักร่วมด้วยสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดดังภาพประกอบที่ 4-13 จะเห็นได้ว่าวิธีการหมักแบบ SSF ได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักแบบ SHF และการหมักแบบ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF ทั้งระบบที่มีและไม่มีสารลดแรงตึงผิว แสดงให้เห็นว่าการหมักเอทานอลจากเส้นใยปาล์มไม่จำเป็นต้องมีการแยกเส้นใยปาล์มออกและการ Prehydrolysis เพื่อให้เกิดน้ำตาลก่อนเข้าสู่กระบวนการหมัก ขณะที่การเติมสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิด ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าของทุกระบบที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว โดยที่สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ได้ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ในการหมักแบบ SHF และ SSF แบบมีการ Prehydrolysis และได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่า ในการหมักแบบ SSF โดยใช้ปริมาณ Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้นน้อยกว่า ดังนั้นวิธีการหมักแบบ SSF ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการพัฒนาการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มในระดับกำลังการผลิตที่สูงขึ้น

4.6 ผลการประเมินต้นทุนเบื้องต้นในการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในการผลิตเอทานอล

ทำการประเมินต้นทุนเบื้องต้นในกระบวนการผลิตเอทานอล โดยเลือกจากสภาวะที่ดีที่สุดของการผลิตแต่ละวิธี ซึ่งประกอบไปด้วยค่าเอนไซม์เซลลูเลส ค่าสารลดแรงตึงผิว และค่ายีสต์ขนมปัง ของการใช้สารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิด แสดงดังตารางที่ 4-3 ถึง 4-5

4.6.1 ราคาสารเคมีที่ใช้

- เอนไซม์ลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* (Lab grade) บริษัท Sigma-Aldrich ขนาด 2,000 มิลลิกรัม ราคา 4,195 บาท
- สารลดแรงตึงผิว Tween 80 ขนาด 500 มิลลิลิตร ราคา 3,390 บาท
- สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ขนาด 500 มิลลิลิตร ราคา 3,190 บาท
- ยีสต์ขนมปังขนาด 500 กรัม ราคา 110 บาท

ตารางที่ 4-3 ต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธี SHF

| รายการต้นทุน | ราคา (บาท) | | |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Without surfactant | Tween 80 0.25 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.1 %w/v |
| เอนไซม์เซลลูเลส 0.0153 กรัม | 32.09 | 32.09 | 32.09 |
| สารลดแรงตึงผิว | 0 | 0.48 | 0.19 |
| ยีสต์ขนมปัง 1.2 กรัม | 0.26 | 0.26 | 0.26 |
| ราคารวมต่อเอทานอลที่ผลิตได้ | 32.35 (เอทานอล 0.14 mL) | 32.83 (เอทานอล 0.19 mL) | 32.54 (เอทานอล 0.20 mL) |
| ราคารวมต่อมิลลิลิตรเอทานอล | 231.07 | 172.79 | 162.70 |

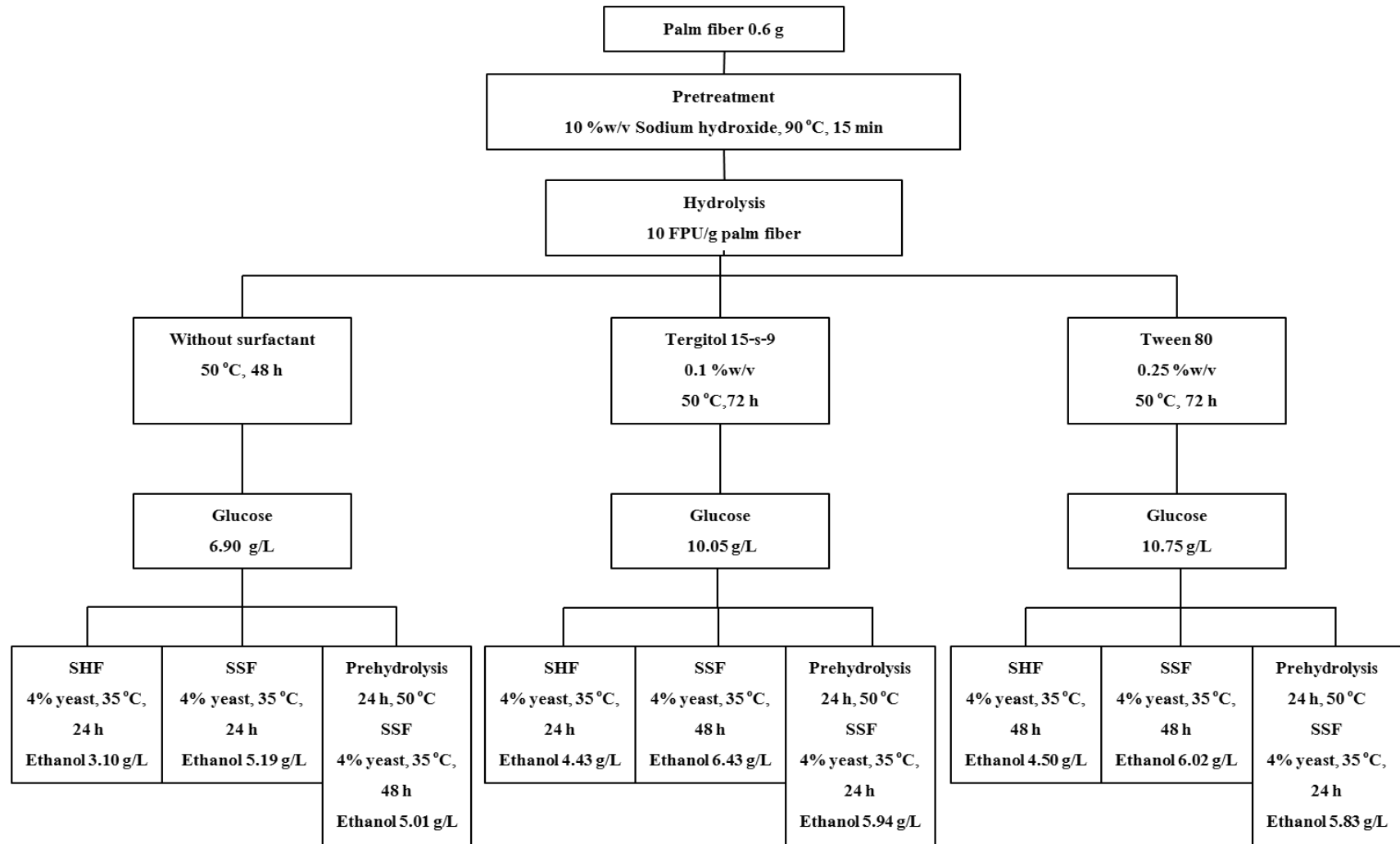
ตารางที่ 4-4 ต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธี SSF

| รายการต้นทุน | ราคา (บาท) | | |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Without surfactant | Tween 80 0.25 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.1 %w/v |
| เอนไซม์เซลลูเลส 0.0153 กรัม | 32.09 | 32.09 | 32.09 |
| สารลดแรงตึงผิว | 0 | 0.48 | 0.19 |
| ยีสต์ขนมปัง 1.2 กรัม | 0.26 | 0.26 | 0.26 |
| ราคารวมต่อเอทานอลที่ผลิตได้ | 32.35 (เอทานอล 0.20 mL) | 32.83 (เอทานอล 0.23 mL) | 32.54 (เอทานอล 0.24 mL) |
| ราคารวมต่อมิลลิลิตรเอทานอล | 161.75 | 142.74 | 135.58 |

ตารางที่ 4-5 ต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธี SSF with prehydrolysis

| รายการต้นทุน | ราคา (บาท) | | |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Without surfactant | Tween 80 0.25 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.1 %w/v |
| เอนไซม์เซลลูเลส 0.0153 กรัม | 32.09 | 32.09 | 32.09 |
| สารลดแรงตึงผิว | 0 | 0.48 | 0.19 |
| ยีสต์ขนมปัง 1.2 กรัม | 0.26 | 0.26 | 0.26 |
| ราคารวมต่อเอทานอลที่ผลิตได้ | 32.35 (เอทานอล 0.19 mL) | 32.83 (เอทานอล 0.22 mL) | 32.54 (เอทานอล 0.23 mL) |
| ราคารวมต่อมิลลิลิตรเอทานอล | 170.26 | 149.23 | 141.48 |

จากตารางที่ 4-3 ถึง 4-5 จะเห็นได้ว่าการผลิตเอทานอลแบบ SSF ทั้งแบบที่มีและไม่มี Prehydrolysis ทั้งของระบบที่มีการเติมและไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว มีต้นทุนต่ำกว่าการผลิตเอทานอลแบบ SHF เนื่องจากได้ปริมาณเอทานอลสูงและใช้เวลาในการผลิตที่สั้น โดยระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวจะมีต้นทุนสูงกว่าระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวเพียงเล็กน้อย แต่เนื่องจากปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ค่อนข้างต่ำและให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าระบบที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว ดังนั้นการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในการผลิตเอทานอลจึงส่งผลดีในเชิงเศรษฐศาสตร์ของกระบวนการ อันเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลได้ แผนผังสรุปกระบวนการผลิตเอทานอลแต่ละแบบแสดงดังภาพประกอบที่ 4-14



ภาพประกอบที่ 4-14 แผนผังสรุปกระบวนการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์ม

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการนำเส้นใยปาล์มมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล พบว่าเส้นใยปาล์มนับเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลประเภทหนึ่ง โดยเมื่อนำมาทำการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลส และลดปริมาณลิกนินของเส้นใยปาล์มได้ ต่อมาเมื่อนำเส้นใยปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 5 พบว่าระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุจะได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงกว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิว เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวช่วยลดแรงตึงระหว่างผิวของน้ำและเส้นใย ช่วยให้เอนไซม์เข้าย่อยสลายได้ดีขึ้น และสารลดแรงตึงผิวช่วยป้องกันเอนไซม์ไม่ให้ไปเกาะบนลิกนิน ทำให้ไม่เกิดการสูญเสียของเอนไซม์ในการย่อย การศึกษา ณ สภาวะเดียวกันยังพบอีกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้เทียบเท่ากับระบบที่ไม่ใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีความเข้มข้นของเอนไซม์สูงกว่าถึง 2 เท่า งานวิจัยยังศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวสองชนิด คือ Tween 80 และ Tergitol 15-s-9 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ระบบที่เติมสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดจะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสใกล้เคียงกัน แต่สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 จะใช้ปริมาณน้อยกว่า ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของ Tergitol 15-s-9 ที่เป็นกิ่งก้าน จะดูดซับบนลิกนินด้วยปริมาณต่อหน่วยพื้นที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ซึ่งมีโครงสร้างเป็นโซ่ตรง ซึ่งมีการจัดเรียงตัวที่ชิดกันมากกว่า

ต่อมาทำการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส pH 5 โดยทำการเปรียบเทียบการหมัก 3 แบบ คือ การหมักเอทานอลแบบ SHF แบบ SSF และแบบ Prehydrolysis ก่อนเข้า SSF พบว่าสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดจะส่งผลดีต่อกระบวนการหมัก เนื่องจากให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นสูงกว่าระบบที่ไม่มีเติมสารลดแรงตึงผิวโดยไม่ก่อให้เกิดการสะสมของน้ำตาลกลูโคสในระบบ ผลการทดลองพบว่ากระบวนการหมักแบบ SSF ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดและใช้เวลาในการหมักน้อยกว่าการหมักแบบ SHF ซึ่งแสดงให้เห็นได้ว่าการหมักเอทานอลจากเส้นใยปาล์มไม่จำเป็นต้องมีการแยกเส้นใยปาล์มออกหรือการเติมสารอาหารก่อนเข้า

สู่กระบวนการหมัก อย่างไรก็ตามสารลดแรงตึงผิวจะส่งผลดีต่อการผลิตเอทานอลในกระบวนการ
ย่อยมากที่สุดและไม่มีผลมากนักต่อกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการหมัก

จากการประเมินต้นทุนการผลิตเบื้องต้นพบว่าการผลิตเอทานอลด้วยการใช้
เอนไซม์เป็นวิธีที่มีต้นทุนการผลิตสูงอันเนื่องมาจากราคาเอนไซม์เป็นหลัก การใช้สารลดแรงตึงผิว
ร่วมในการผลิตนับเป็นการลดต้นทุนอีกทางหนึ่งเนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตเอทานอลได้
ณ การใช้ปริมาณเอนไซม์เท่าเดิม โดยกระบวนการนี้จะมีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์มากขึ้น หาก
สามารถนำเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวกลับมาใช้ซ้ำได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาการนำเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวกลับมาใช้ใหม่เพื่อเป็นการ
ประหยัดต้นทุนในการผลิตเอทานอล

5.2.2 ควรศึกษาการใช้เอนไซม์ชนิด Industrial grade เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการ
ผลิตเอทานอล

5.2.3 ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้สารลดแรงตึงผิวแบบผสมกันมากกว่า 1
ชนิดในการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอล

5.2.4 สารลดแรงตึงผิวที่นำมาใช้ควรเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีโครงสร้างเป็นมิตร
ต่อสิ่งแวดล้อม

5.2.5 ควรศึกษาการใช้เอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตได้จากวิธีเชิงชีวภาพ
เพื่อความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

5.2.6 ควรศึกษาวัตถุดิบชนิดอื่นในการผลิตเอทานอล

บรรณานุกรม

- นคร ทิพยาวงศ์. (2553). การผลิตเอทานอล: เทคโนโลยีการแปลงสภาพชีวมวล. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ ส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).
- ยุทธศักดิ์ สุภการี. (2550). สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มโดยวิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ธีระพงศ์ จันทรมนิม. (2551). กระบวนการไร้ของเสียในอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์ม. หาดใหญ่ วิชาการ, 2: 160-164.
- พัศตร์ประไพ ประจำเมือง. (2546). เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง. วารสารศูนย์บริการวิชาการ, 11: 28-31.
- ภูมิหทัย คูประเสริฐยิ่ง. (2554). การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสเพื่อการผลิตเอทานอล. สรรสาระ เทคโนโลยีชีวภาพ, 2: 5-7.
- เสรี มหาวิชุด และ เฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2555). การผลิตลิกโนเซลลูโลสเอทานอลจากสารละลายที่ได้จากการย่อยลำต้นมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักแบบกะด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048. Veridian E-Journal, 5: 429-445.
- อรุณี ศุภสินสาธิต. (2555). ผลงานจากชีวมวลที่มีลิกโนเซลลูโลสสูง. วารสารสิ่งแวดล้อม ปีที่ 16, 2: 36-43.
- คลังข้อมูลสารสนเทศระดับภูมิภาค (ภาคใต้). (2556). การเพาะปลูกปาล์มน้ำมัน. เข้าถึงได้จาก: <http://www.arda.or.th/kasetinfo/south> (สืบค้นเมื่อวันที่ 11 ธันวาคม 2556)
- นัทรชัย ไกรสรพงษ์. (2548). การผลิตเอทานอลจากกากของเสียการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร. เข้าถึงได้จาก: http://web.yru.ac.th/~dolah/notes/4034605-2-48/REP-13/R_404652064-13.pdf (สืบค้นเมื่อวันที่ 15 ธันวาคม 2556)

- ตลาดไทรอบรู้. (2556). ปาล์มน้ำมัน. เข้าถึงได้จาก: <http://www.talaadthai.com/main/knowledgepage.aspx?id=404> (สืบค้นเมื่อวันที่ 10 ธันวาคม 2556)
- บทความวิชาการ.คอม. (2551). การผลิตเอทานอลเพื่อแก๊สโซฮอล์ (GASOHOL). เข้าถึงได้จาก: <http://www.vcharkarn.com/varticle/38199>. (สืบค้นเมื่อวันที่ 10 ธันวาคม 2556)
- ปริญญา นิลวัชรภรณ์. (2550). ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์. เข้าถึงได้จาก: <http://www.civil.mut.ac.th/06> (สืบค้นเมื่อวันที่ 28 พฤศจิกายน 2554)
- วิโรจน์ พุทธิวิถิ. (2553). รู้จักเอทานอล. เข้าถึงได้จาก: <http://water-pacific.com/index.php/2010-08-14-10-07-37>. (สืบค้นเมื่อวันที่ 10 ธันวาคม 2556)
- วิชา ภูจินดา. (2549). มารู้อีกสารลดแรงตึงผิวกันดีกว่า. เข้าถึงได้จาก: <http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=4&ID=3> (สืบค้นเมื่อวันที่ 2 มกราคม 2557)
- หน่วยปฏิบัติการแปรรูปมันสำปะหลัง สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังแบบประหยัดพลังงาน. เข้าถึงได้จาก: http://www.rdi.ku.ac.th/kasetfair49/plant/p_05/p_05.htm (สืบค้นเมื่อวันที่ 16 มกราคม 2557)
- Arrisa Ruangmee. (2013). Ethanol production from narrow leaves cattail. The Doctoral Dissertation of Engineering in Chemical Engineering. Prince of Songkla University.
- Alkasrawi, T., Eriksson, T., Borjesson, J., Wingren, A., Galbe, M., Tjerneld, F. and Zacchi, G. (2003). The effect of Tween-20 on simultaneous saccharification and fermentation of softwood to ethanol. *Enzyme and Microbial Technology*, 33: 71-78.
- Boonsawang, P., Subkaree, Y. and Srinorakutara, T. (2012). Ethanol production from palm pressed fiber by prehydrolysis prior to simultaneous saccharification and fermentation (SSF). *Biomass and Bioenergy*, 40: 127-132.
- Chaula, Z., Said, M., Geoffrey, J., Manyele, S. and Mhilo, C. (2014). Modelling the suitability of pine sawdust for energy production via biomass steam explosion. *Smart Grid and Renewable Energy*, 5: 1-7.

- Chen, N., Fan, J.B., Xiang, J., Chen, J. and Y. Liang. (2006). Enzymatic hydrolysis of microcrystalline cellulose in reverse micelles. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764: 1029-1035.
- Chu, K.H. and Feng, X. (2013). Enzymatic conversion of newspaper and office paper to fermentable sugars. *Process Safety and Environmental Protection*, 91: 123-130.
- Eriksson, T., Borjesson, J. and Tjerneld, F. (2002). Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocelluloses. *Enzyme and Microbial Technology*, 31: 232-246.
- Hemmatinejad, N., Vahabzadeh, F. and Kordestani, S. (2002). Effect of surfactant on enzymatic hydrolysis of cellulosic fabric. *Iranian Polymer Journal*, 5: 333-338.
- Kaya, F., John, A., Heitmann, J. and Thomas, W. (1995). Influence of surfactant on the enzymatic hydrolysis of xylan and cellulose. *Tappi Journal*, 10: 150-157.
- Kim, H.J., Kim, S.B. and C.J. Kim. (2007). The Effects of nonionic surfactants on the pretreatment and enzymatic hydrolysis of recycled newspaper. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 12: 147-151.
- Lui, J., Yuan, X., Zeng, G., Shi, J. and Chen, S. Effect of biosurfactant on cellulose and xylanase production by *Trichoderma viride* in solid substrate fermentation. *Process Biochemistry*, 41: 2347-2351.
- Mosier, N., Wyman C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M., R. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96: 673-686.
- Parnthong, J. and Kungsanant, S. (2014). Statistical optimization for application of nonionic surfactants in enzymatic hydrolysis of palm fiber for ethanol production. *International Journal of Chemical Engineering and Application*, 5: 23-25.

- Qin, L., Liu, Z.H., Jin, M., Li, B.Z. and Yuan, Y.J. (2013). High temperature aqueous ammonia pretreatment and post-washing enhance the high solids enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology*, 146: 504-511.
- Rangel, C.O., Junior, A.P. and Tavares, L.C. (2005). Micellar solubilization of drugs. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 8: 147-163.
- Scamehorn, J.F., David, A. and Jeffrey, H. (2004). Surfactant, Part 1: Fundamentals. *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*, 10:1458-1469.
- Shin, Y.O., Rodil, E. and Vera, J. H. (2003). Surfactant precipitation and polar solvent recovery of α -chymotrypsin and ribonuclease-A. *Biochemical Engineering*, 17:91-97.
- Shinoj, S., Visvanathan, R., Panigrahi, S. and Kochubabu, M. (2011). Oil palm fiber and its composites: A review. *Industrial Crops and Product*, 33: 7-22.
- Sun, Y. and Chong, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresource Technology*, 83: 1-11.
- Umikalsom, M.S., Ariff, A.B., Zulkifli, H.S., Tong, C.C., Hassan, M.A. and Karim, M.I.A. (1997). The treatment of oil palm empty fruit bunch fibre for subsequent use as substrate for cellulose production by *Chaetium globosum kunze*. *Bioresource Technology*, 62: 1-9.
- Xiushan, Y., Sijin, Z., Zhuang, Z., Xun, M. and Shen, T. (2011). Ethanol production from the enzymatic hydrolysis of non-detoxified steam-exploded corn stalk. *Bioresource Technology*, 102: 7840-7844.
- Indo Gulf Group. Cellulase. Available from URL: <http://www.indogulfgroup.com/AE%20-%20Enzymes%20-%20Cellulase.asp> (accessed 10 December 2013)
- Lignofuel. What is lignocellulose. Available from URL: <http://lignofuel.wordpress.com/2010/09/15/lignocellulose> (accessed 28 January 2014)

Lignoworks. What is lignin. Available from URL: <http://www.lignoworks.ca/content/what-lignin>
(accessed 21 January 2014)

Procter & Gamble Company. Surfactants. Available from URL: <http://www.scienceinthebox.com/Surfactants> (accessed 12 December 2013)

Sigma-Aldrich Company. The structure of surfactant. Available from URL: <http://www.Sigma-aldrich.com> (accessed 5 September 2013)

The Dow Chemical Company USA. Typical physical properties of surfactant. Available from URL: <http://www.dow.com/products> (accessed 7 November 2013)

TutorVista.com. Micelle. Available from URL: <http://chemistry.tutorvista.com/biochemistry/micelle.html> (accessed 29 January 2014)

University of Cambridge. The structure of wood. Available from URL: http://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/wood/structure_wood_pt1.php (accessed 10 December 2013)

VeruTEK Technologies. Surface Advantages: Surfactants Increase Chemical Contact. Available from URL: <http://www.verutek.com/green-chemistry-blog/bid/112544/Surface-Advantages-Surfactants-Increase-Chemical-Contact> (accessed 29 January 2014)

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

1. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสและลิกนิน (AOAC, 1999)

1.1 สารเคมี

1.1.1 อะซิโตน

1.1.2 กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 75 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

1.1.3 กรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 นอร์มัล

1.1.4 Decahydronaphthalene

1.1.5 Acid detergent solution วิธีการเตรียม เติม Cetyl-trimethylammonium bromide 20 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 นอร์มัล

1.2 วิธีการวิเคราะห์

1.2.1 นำตัวอย่างที่ผ่านการบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิลิตร มาประมาณ 1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 600 มิลลิลิตร

1.2.2 เติมสารละลาย Acid detergent ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และ Decahydronaphthalene ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ให้ความร้อนและให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นลดความร้อนให้เดือดเบาๆ เป็นเวลา 60 นาที

1.2.3 กรองผ่านครุชเชิลที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว (W_1) โดยใช้แรงดูดสุญญากาศเบาๆ ล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ในครุชเชิลด้วยน้ำร้อน 3-5 ครั้ง ขณะล้างให้เขี่ยก้อนเยื่อใยที่อยู่ในครุชเชิลให้กระจายออก โดยใช้แท่งแก้ว หลังจากนั้นให้ดูดด้วยเครื่องสุญญากาศ และล้างต่อด้วยอะซิโตนปริมาณเล็กน้อย 2-3 ครั้ง แล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่องสุญญากาศ

1.2.4 นำครุชเชิลไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักที่ชั่งได้คงที่ (W_2)

1.2.5 นำครุชเชิลไปวางในถาดก้นตื้น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 72 (ก่อนใช้ให้แช่เย็นที่ 15 องศาเซลเซียส) ลงในครุชเชิลประมาณครึ่งชั่วโมง แล้วคนด้วยแท่งแก้ว เพื่อให้เยื่อใยเปียกทั่วถึง เติมกรดเพิ่มลงไปทุก 1 ชั่วโมง พร้อมคนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

1.2.6 นำครุชชีเบลไปกรองเอากรดออก โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศ แล้วล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด

1.2.7 อบครุชชีเบลที่ได้จากข้อ 6 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อกำจัดความชื้น ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก (W_3)

1.2.8 นำครุชชีเบลไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_4)

1.3 วิธีการคำนวณ

$$ADF = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{s}$$

$$L = \frac{(W_3 - W_4) \times 100}{s}$$

$$C = ADF - L$$

เมื่อ ADF = Acid detergent fiber (ร้อยละ)

L = ปริมาณลิกนิน (ร้อยละ)

C = ปริมาณเซลลูโลส (ร้อยละ)

W_1 = น้ำหนักครุชชีเบลเปล่า (กรัม)

W_2 = น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างหลังย่อยด้วย Acid detergent (กรัม)

W_3 = น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างหลังผ่านกรดซัลฟูริก (กรัม)

W_4 = น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างหลังการเผา (กรัม)

W_5 = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

2. วิธีการวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสโดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) Reagent (Miller,1959)

2.1 สารเคมี

2.1.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

2.1.2 โซเดียมโพแทสเซียมตาร์เตท (K-Na tartrate)

2.1.3 ฟีนอล

2.1.4 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)

2.2 วิธีเตรียม DNS Reagent

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม โพแทสเซียมตาร์เตท 100 กรัม ฟีนอล 2 กรัม และ 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 10 กรัม ตามลำดับ คนให้เข้ากันจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

2.3 วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคการวัดค่าดูดกลืนแสง

2.3.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง

2.3.2 เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.3.3 นำหลอดทดลองไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที

2.3.4 แฉ่หลอดทดลองในน้ำเย็นทันทีเป็นเวลา 5 นาที

2.3.5 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-visible spectrophotometer

2.3.6 นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นในช่วง 0 ถึง 1 กรัมต่อลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น เป็น Blank

2.4 วิธีการสร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

2.4.1 เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร

2.4.2 เตรียมสารละลายน้ำตาลที่มีความเข้มข้นต่างๆจากสารละลายน้ำตาล 1 กรัมต่อลิตร

2.4.3 ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อที่ 1 ถึง 6 ในวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสง

2.4.4 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานกับความเข้มข้น
ของน้ำตาล

3. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง Gas chromatography (Agilent Technologies
6890N Network System)

3.1 สภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์

Column : HP-FFAP

Max temperature: 240 °C

Nominal length: 25 m

Nominal diameter: 320 µm

Nominal film thickness: 0.50 µm

Oven

Equilibration time: 5 min

Maximum temp: 240 °C

Initial temp: 150 °C

Initial time: 5 min

Inlet (split/splitless)

Initial temp: 150 °C

Pressure: 7.4 psi

Split ratio: 20.1:1

Split flow: 40 mL/min

Total flow: 44.6 mL/min

Detector (FID)

Temperature: 250 °C

Hydrogen flow: 30 mL/min

Air flow: 300 mL/min

Nitrogen flow: 25 mL/min

4. การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี Filter Paper Assay

4.1 วัสดุอุปกรณ์

- 4.1.1 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman NO.1) ขนาด 1×6 เซนติเมตร
- 4.1.2 0.05 M Citrate buffer pH 5
- 4.1.3 ตัวอย่างเอนไซม์เซลลูเลส
- 4.1.4 อ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

4.2 วิธีการทดลอง

ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาด 1×6 เซนติเมตร จำนวน 50 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายซีเตรตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมสารละลายเอนไซม์อีก 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาหยุดปฏิกิริยาโดยการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แยกตะกอนออกโดยการปั่นเหวี่ยง นำสารละลายไปวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี DNS Method

4.3 Filter paper blank

ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาด 1×6 เซนติเมตร จำนวน 50 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายซีเตรตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาหยุดปฏิกิริยาโดยการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แยกตะกอนออกโดยการปั่นเหวี่ยง นำสารละลายไปวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี DNS Method

เอนไซม์ 1 หน่วย (FPU) หมายถึงปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสลายสารตั้งต้น (กระดาษกรอง Whatman NO.1) ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส 1 μmol ในเวลา 1 นาที

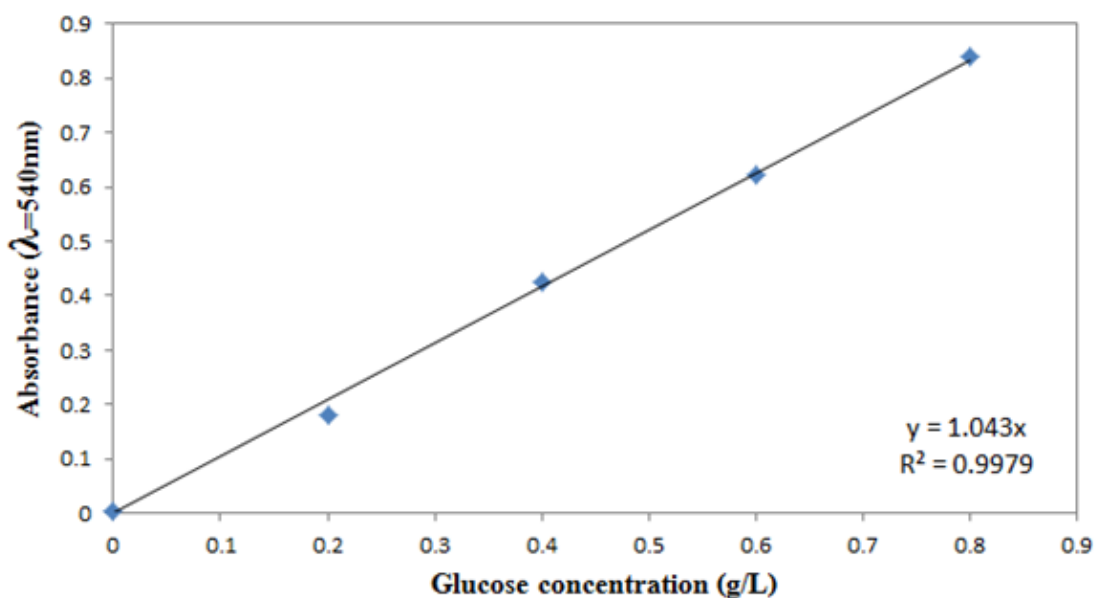
ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐาน

1. การสร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (g/L) | ค่าการดูดกลืนแสง $\lambda=540$ nm |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| 0 | 0.0031 |
| 0.2 | 0.1797 |
| 0.4 | 0.4243 |
| 0.6 | 0.6222 |
| 0.8 | 0.8407 |

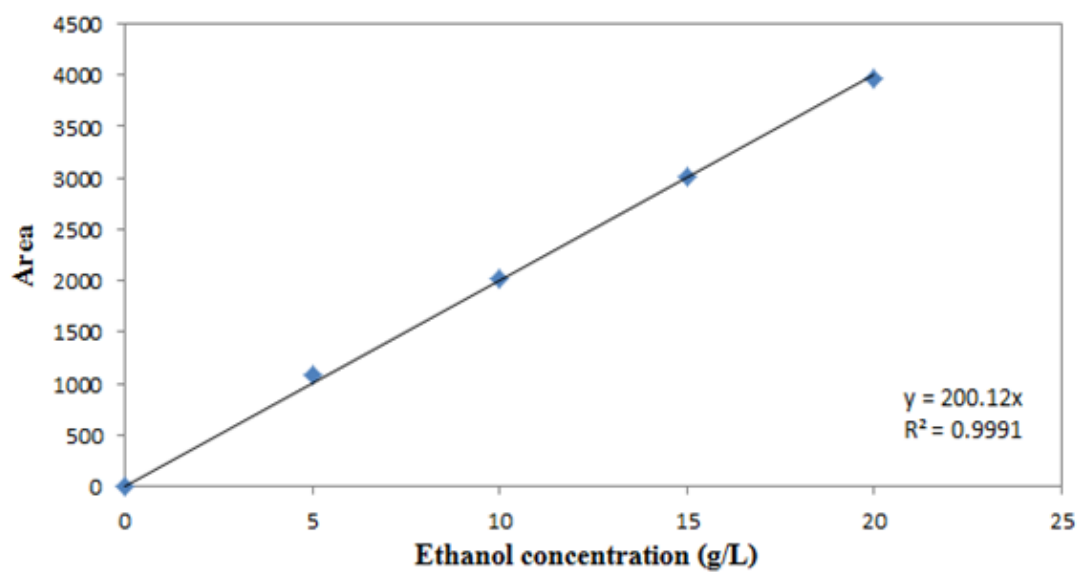


รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

2. การสร้างกราฟมาตรฐานเอทานอล

ตารางที่ ข-2 พื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้นเอทานอล (g/L) | พื้นที่ใต้กราฟ จากเครื่อง GC |
|-----------------------------|---------------------------------|
| 5 | 1087 |
| 10 | 2013 |
| 15 | 3014 |
| 20 | 3965 |



รูปที่ ข-2 กราฟมาตรฐานเอทานอล

ภาคผนวก ก

ข้อมูลดิบที่ได้จากการทดลอง

1. การศึกษาองค์ประกอบเส้นใยปาล์มที่ได้จากการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีต่างกัน

1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสและลิกนิน โดยวิธี AOAC Method

ตารางที่ ก-1 ปริมาณเซลลูโลสและลิกนินของเส้นใยปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพและไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารเคมี

| วิธีการปรับสภาพ | No pretreatment | | NaOH | | NH ₄ OH | | TritonX-100 | |
|-----------------|-----------------|---------------|------------|---------------|--------------------|---------------|-------------|---------------|
| | Lignin (%) | Cellulose (%) | Lignin (%) | Cellulose (%) | Lignin (%) | Cellulose (%) | Lignin (%) | Cellulose (%) |
| ครั้งที่ 1 | 11.25 | 41.00 | 9.00 | 57.00 | 11.00 | 48.00 | 10.00 | 49.00 |
| ครั้งที่ 2 | 11.45 | 40.00 | 10.00 | 58.00 | 11.00 | 49.00 | 10.00 | 49.00 |
| ครั้งที่ 3 | 11.33 | 42.00 | 10.00 | 57.00 | 11.00 | 48.00 | 11.00 | 47.00 |
| เฉลี่ย | 11.34 | 41.00 | 9.67 | 57.33 | 11.00 | 48.33 | 10.33 | 48.33 |

2. การวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อ *Trichoderma reesei*

ตารางที่ ก-2 กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (รายละเอียดการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ง)

| ความเข้มข้นเอนไซม์เซลลูเลส | กิจกรรมเอนไซม์ (FPU/mg enzyme) |
|----------------------------|--------------------------------|
| 4U / 1 mg solid enzyme | 0.322 |
| 5U / 1 mg solid enzyme | 0.390 |
| 6U / 1 mg solid enzyme | 0.459 |

3. การศึกษาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์มร่วมกับสารลดแรงตึงผิว

ตารางที่ ค-3 ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทดลองของการย่อยเส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์เซลลูเลส 5 10 20 และ 30 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม

| เวลา (hours) | น้ำตาลกลูโคส (g/L) | | | |
|-----------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 5 FPU/g palm fiber | 10 FPU/g palm fiber | 20 FPU/g palm fiber | 30 FPU/g palm fiber |
| 24 | 1.41 | 3.47 | 6.68 | 8.67 |
| 48 | 2.64 | 6.89 | 9.73 | 9.86 |
| 72 | 2.46 | 6.74 | 11.22 | 12.17 |
| 96 | 2.56 | 6.73 | 10.70 | 13.39 |
| 120 | 2.22 | 7.19 | 10.56 | 13.83 |

ตารางที่ ค-4 ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทดลองของการย่อยเส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์เซลลูเลส 5 10 20 และ 30 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม

| เวลา (hours) | ผลได้ของน้ำตาลกลูโคส (%) | | | |
|-----------------|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 5 FPU/g palm fiber | 10 FPU/g palm fiber | 20 FPU/g palm fiber | 30 FPU/g palm fiber |
| 24 | 7.07 | 17.38 | 33.44 | 43.35 |
| 48 | 13.21 | 34.48 | 48.67 | 49.34 |
| 72 | 12.31 | 33.72 | 56.14 | 60.87 |
| 96 | 12.81 | 33.67 | 53.52 | 66.98 |
| 120 | 11.11 | 35.99 | 52.83 | 69.15 |

4. การศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tween 80 และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยเส้นใยปาล์ม

ตารางที่ ค-5 ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสจากการศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tween 80 และเวลาที่เหมาะสมของการย่อยเส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | น้ำตาลกลูโคส (g/L) | | | | | | |
|-----------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | Without surfactant | 0.1 %w/v Tween 80 | 0.25 %w/v Tween 80 | 0.5 %w/v Tween 80 | 1 %w/v Tween 80 | 1.5 %w/v Tween 80 | 2 %w/v Tween 80 |
| 24 | 3.48 | 5.69 | 5.80 | 5.20 | 5.17 | 5.32 | 4.06 |
| 48 | 6.90 | 7.35 | 9.13 | 7.86 | 7.90 | 8.40 | 7.11 |
| 72 | 6.75 | 9.17 | 10.75 | 10.72 | 10.93 | 10.15 | 10.15 |
| 96 | 6.73 | 9.15 | 10.78 | 10.95 | 11.28 | 9.84 | 10.14 |

ตารางที่ ค-6 ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสจากการศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tween 80 และเวลาที่เหมาะสมของการย่อยเส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | ผลได้ของน้ำตาลกลูโคส (%) | | | | | | |
|-----------------|--------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | Without surfactant | 0.1 %w/v Tween 80 | 0.25 %w/v Tween 80 | 0.5 %w/v Tween 80 | 1 %w/v Tween 80 | 1.5 %w/v Tween 80 | 2 %w/v Tween 80 |
| 24 | 17.39 | 28.45 | 29.01 | 26.00 | 25.85 | 26.58 | 20.29 |
| 48 | 34.49 | 36.77 | 45.65 | 39.30 | 39.51 | 42.01 | 35.57 |
| 72 | 33.73 | 45.85 | 53.74 | 53.58 | 54.63 | 50.74 | 50.77 |
| 96 | 33.67 | 45.73 | 53.88 | 54.77 | 56.39 | 49.19 | 50.69 |

5. การศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 และเวลาที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยเส้นใยปาล์ม

ตารางที่ ค-7 ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสจากการศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 และเวลาที่เหมาะสมของการย่อยเส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | น้ำตาลกลูโคส (g/L) | | | | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| | Without surfactant | 0.05 %w/v TG15-s-9 | 0.1 %w/v TG15-s-9 | 0.25 %w/v TG15-s-9 | 0.5 %w/v TG15-s-9 | 1 %w/v TG15-s-9 | 2 %w/v TG15-s-9 |
| 24 | 3.48 | 3.85 | 5.64 | 5.59 | 5.54 | 4.85 | 5.39 |
| 48 | 6.90 | 6.65 | 7.68 | 7.68 | 8.33 | 8.97 | 8.69 |
| 72 | 6.75 | 8.46 | 10.05 | 10.26 | 10.04 | 10.18 | 9.85 |
| 96 | 6.73 | 8.50 | 10.46 | 10.01 | 9.71 | 9.83 | 10.98 |

ตารางที่ ค-8 ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสจากการศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 และเวลาที่เหมาะสมของการย่อยเส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | ผลได้ของน้ำตาลกลูโคส (%) | | | | | | |
|-----------------|--------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|--------------------|
| | Without surfactant | 0.05 %w/v TG15-s-9 | 0.1%w/v TG15-s-9 | 0.25 %w/v TG15-s-9 | 0.5 %w/v TG15-s-9 | 1 %w/v TG 15-s-9 | 2 %w/v TG15-s-9 |
| 24 | 17.39 | 19.27 | 28.22 | 27.93 | 27.69 | 24.23 | 26.95 |
| 48 | 34.49 | 33.27 | 38.40 | 38.38 | 41.67 | 44.87 | 43.44 |
| 72 | 33.73 | 42.31 | 50.27 | 51.30 | 50.20 | 50.90 | 49.24 |
| 96 | 33.67 | 42.51 | 52.32 | 50.04 | 48.54 | 49.15 | 54.88 |

6. การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอล

6.1 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการหมักเอทานอลแบบ Separated Hydrolysis Fermentation (SHF)

ตารางที่ ค-9 ความเข้มข้นเอทานอลจากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยเส้นใยปาล์มด้วย เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | เอทานอล (g/L) | | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 1 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 2 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 3 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 4 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 5 %w/v ยีสต์ขนมปัง |
| 12 | 2.25 | 2.67 | 2.90 | 4.11 | 4.00 |
| 24 | 2.49 | 2.87 | 3.25 | 4.43 | 4.22 |
| 48 | 2.47 | 2.78 | 3.26 | 4.38 | 4.51 |
| 72 | 2.47 | 2.63 | 3.43 | 4.92 | 4.85 |
| 96 | 2.37 | 2.58 | 3.46 | 4.95 | 4.80 |

ตารางที่ ค-10 ผลได้ของเอทานอลจากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยเส้นใยปาล์มด้วย เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 80 ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | ผลได้ของเอทานอล (%) | | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 1 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 2 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 3 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 4 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 5 %w/v ยีสต์ขนมปัง |
| 12 | 41.02 | 48.77 | 52.87 | 75.02 | 72.93 |
| 24 | 45.49 | 52.42 | 59.34 | 80.77 | 77.03 |
| 48 | 45.03 | 50.68 | 59.53 | 79.85 | 82.22 |
| 72 | 45.03 | 47.95 | 62.63 | 89.70 | 88.42 |
| 96 | 43.30 | 47.13 | 63.17 | 90.34 | 87.60 |

ตารางที่ ค-11 ความเข้มข้นเอทานอลจากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยเส้นใยปาล์มด้วย เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | เอทานอล (g/L) | | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 1 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 2 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 3 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 4 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 5 %w/v ยีสต์ขนมปัง |
| 12 | 1.11 | 1.86 | 2.63 | 3.33 | 3.14 |
| 24 | 2.35 | 2.78 | 3.23 | 3.78 | 4.00 |
| 48 | 2.50 | 3.42 | 3.65 | 4.50 | 4.60 |
| 72 | 2.74 | 3.48 | 3.45 | 5.15 | 5.01 |
| 96 | 3.01 | 3.71 | 3.63 | 4.46 | 4.72 |

ตารางที่ ค-12 ผลได้ของเอทานอลจากการหมักสารละลายที่ได้จากการย่อยเส้นใยปาล์มด้วย เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | ผลได้ของเอทานอล (%) | | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 1 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 2 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 3 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 4 %w/v ยีสต์ขนมปัง | 5 %w/v ยีสต์ขนมปัง |
| 12 | 21.58 | 36.19 | 51.21 | 64.86 | 61.26 |
| 24 | 45.85 | 54.23 | 63.06 | 73.79 | 78.04 |
| 48 | 48.70 | 66.77 | 71.28 | 87.77 | 89.73 |
| 72 | 53.51 | 67.78 | 67.29 | 100 | 97.65 |
| 96 | 58.62 | 72.41 | 70.78 | 86.90 | 92.00 |

6.2 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอลแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

ตารางที่ ก-13 ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จากการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเส้นใยปาล์มแบบ SSF โดยใช้เส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | เอทานอล (g/L) | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | Without surfactant | Tween 80 0.25 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.1 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.25 %w/v |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 3.06 | 4.02 | 4.18 | 5.31 |
| 24 | 4.71 | 5.17 | 5.21 | 6.09 |
| 48 | 5.19 | 6.02 | 6.43 | 7.14 |
| 72 | 4.86 | 6.08 | 6.50 | 7.11 |

ตารางที่ ก-14 ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเส้นใยปาล์มแบบ SSF โดยใช้เส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | น้ำตาลกลูโคส (g/L) | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | Without surfactant | Tween 80 0.25 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.1 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.25 %w/v |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 1.61 | 1.53 | 2.11 | 2.50 |
| 24 | 2.27 | 2.72 | 1.24 | 0.87 |
| 48 | 1.33 | 1.91 | 1.18 | 1.25 |
| 72 | 0.04 | 1.87 | 1.71 | 2.15 |

6.3 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเอทานอลแบบ Prehydrolysis ก่อนเข้าSSF

ตารางที่ ก-15 ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จากการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเส้นใยปาล์มแบบSSF แบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้าSSF ใช้เส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิการย่อยหรือ Prehydrolysis 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | เอทานอล (g/L) | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | Without surfactant | Tween 80 0.25 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.1 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.25 %w/v |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 3.04 | 4.71 | 4.65 | 5.22 |
| 24 | 4.25 | 5.83 | 5.94 | 6.90 |
| 48 | 5.01 | 6.12 | 6.15 | 7.01 |
| 72 | 3.93 | 6.39 | 5.59 | 7.00 |

ตารางที่ ก-16 ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อกระบวนการหมักเส้นใยปาล์มแบบSSF แบบมีการ Prehydrolysis ก่อนเข้าSSF ใช้เส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ยีสต์ขนมปัง 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิการย่อยหรือ Prehydrolysis 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส

| เวลา (hours) | น้ำตาลกลูโคส (g/L) | | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | Without surfactant | Tween 80 0.25 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.1 %w/v | Tergitol 15-s-9 0.25 %w/v |
| 0 | 2.26 | 4.14 | 4.02 | 3.52 |
| 12 | 0.04 | 0.55 | 0.27 | 0.79 |
| 24 | 0.03 | 0.21 | 0.01 | 0.15 |
| 48 | 0.04 | 0.32 | 0.27 | 0.23 |
| 72 | 0.06 | 0.18 | 0.16 | 0.46 |

ภาคผนวก ง

การคำนวณ

1. การคำนวณหากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส

- ตัวอย่างเอนไซม์ (1 mg solid enzyme / 6U)
- ปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกระดาษกรอง (Whatman No.1) 3.317 กรัมต่อลิตร
- ใช้เวลาในการย่อย 60 นาที
- ความเข้มข้นของเอนไซม์ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารละลาย 1,000 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 3.3117 กรัม
 สารละลาย 1.5 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส $\frac{3.3117 \times 1.5}{1000} = 4.9676 \times 10^{-3}$ กรัม

น้ำตาลกลูโคส 180 กรัม คิดเป็น 1 โมล
 น้ำตาลกลูโคส 4.9676×10^{-3} กรัม คิดเป็น $\frac{1 \times 4.9676 \times 10^{-3}}{180} = 27.59$ ไมโครโมล

ระยะเวลาการย่อย 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาล 27.59 ไมโครโมล
 ระยะเวลาการย่อย 1 นาที ได้ปริมาณน้ำตาล $\frac{1 \times 27.59}{60} = 0.4598$ ไมโครโมล

ปริมาณน้ำตาล 1 ไมโครโมล/นาที คิดเป็น 1 FPU
 ปริมาณน้ำตาล 0.4598 ไมโครโมล คิดเป็น $\frac{1 \times 0.4598}{1} = 0.4598$ FPU

ปริมาณเอนไซม์ 0.5 มิลลิลิตร มีกิจกรรม 0.4598 FPU
 ปริมาณเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร มีกิจกรรม $\frac{0.4598 \times 1}{0.5} = 0.9196$ FPU

ความเข้มข้นของเอนไซม์ เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 เพราะฉะนั้น จะได้ปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ $\frac{0.9196}{2} = 0.4598$ FPU/มิลลิกรัมเอนไซม์

2. การคำนวณผลได้ของน้ำตาลกลูโคส (Chu และคณะ, 2013)

$$\text{ผลได้ของน้ำตาลกลูโคส (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(\text{ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส, กรัมต่อลิตร}) (\text{ปริมาตรสารละลายของการย่อย, ลิตร})}{\text{น้ำหนักเส้นใยปาล์ม, กรัม}} \times 100$$

ตัวอย่างเช่น - เส้นใยปาล์ม 0.6 กรัม

- ปริมาตรรวมของสารละลายเท่ากับ 30 มิลลิลิตร

- ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่ได้เท่ากับ 6.74 กรัมต่อลิตร

$$\text{ดังนั้น ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ } \frac{6.74 \times 30 \times 10^{-3}}{0.6} \times 100 = 33.72 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

3. การคำนวณผลได้ของเอทานอล (Xiushan และคณะ, 2011)

$$\text{ผลได้ของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(\text{ความเข้มข้นเอทานอล, กรัมต่อลิตร}) / (\text{ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น, กรัมต่อลิตร})}{0.51} \times 100$$

หมายเหตุ: 0.51 คือ ค่าผลได้ทางทฤษฎีของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล

ตัวอย่างเช่น - ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 10.75 กรัมต่อลิตร

- ความเข้มข้นเอทานอลเท่ากับ 4.92 กรัมต่อลิตร

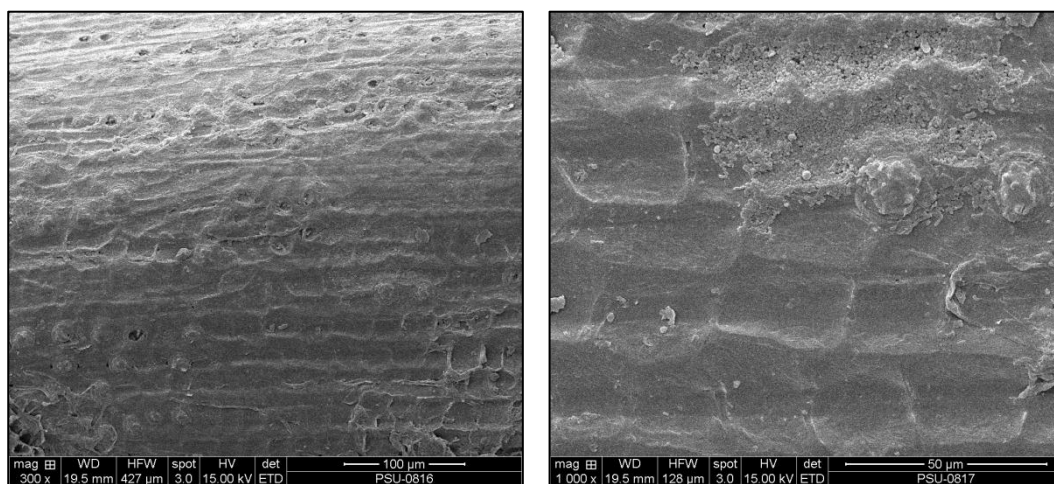
$$\text{ดังนั้นผลได้ของเอทานอลเท่ากับ } \frac{4.92/10.75}{0.51} \times 100 = 89.74 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

ภาคผนวก จ

ศึกษาลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์ม

| | |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| เทคนิคการทดสอบ: | ถ่ายภาพอิเล็กตรอนไมโครกราฟ |
| เครื่องมือทดสอบ: | Scanning Electron Microscope, Quanta400, FEI, Czech Republic |
| สภาวะการทดสอบ: | Mode: High vacuum Detector: Everhart Thornley Detector (ETD) Voltage: 15 kV |
| กำลังขยาย: | 300 เท่า และ 1000 เท่า |

จากการศึกษาลักษณะพื้นผิวของเส้นใยปาล์มโดยการถ่ายภาพ SEM เปรียบเทียบลักษณะเส้นใยปาล์มก่อนปรับสภาพ หลังผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (10 %w/v) หลังผ่านการย่อยโดยไม่ใช้สารลดแรงตึงผิว หลังผ่านการย่อยโดยใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 (0.25 %w/v) และหลังผ่านการย่อยโดยใช้สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9 (0.1 %w/v) แสดงดังภาพประกอบที่ ง-1 ถึง ง-5

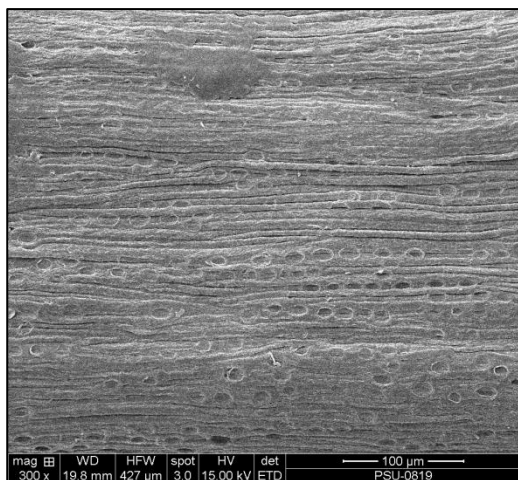


(a)

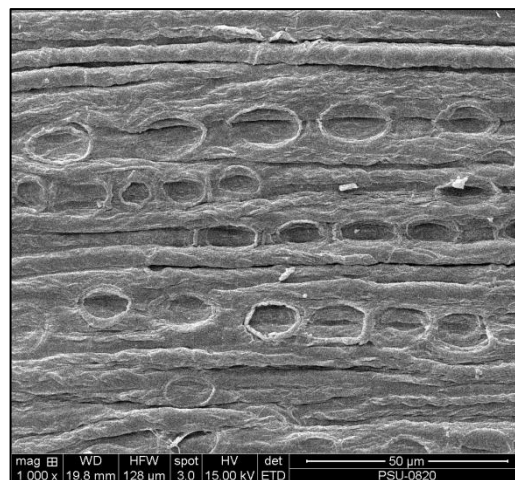
(b)

ภาพประกอบที่ ง-1 เส้นใยปาล์มก่อนการปรับสภาพ

(a) กำลังขยาย 300 เท่า (b) กำลังขยาย 1000 เท่า



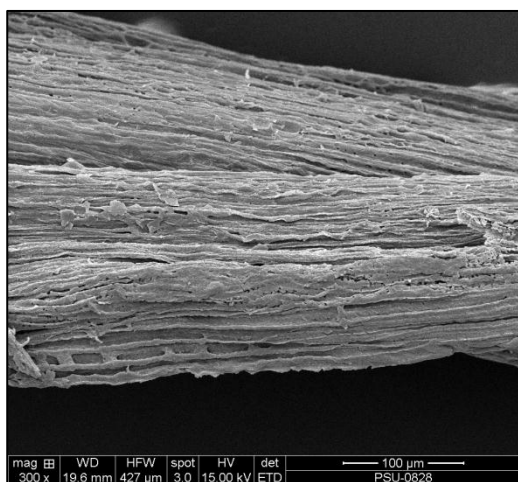
(a)



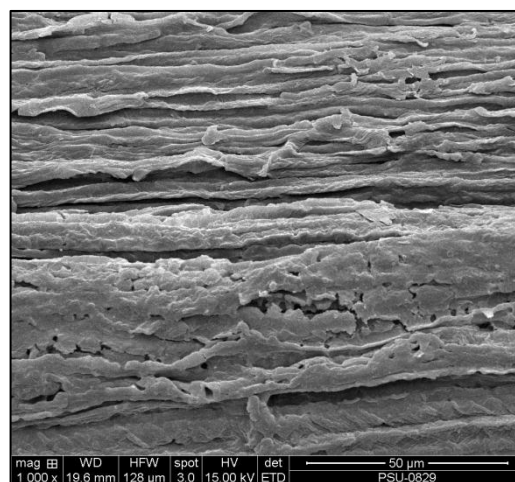
(b)

ภาพประกอบที่ ง-2 เส้นใยปาล์มหลังผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

(a) กำลังขยาย 300 เท่า (b) กำลังขยาย 1000 เท่า



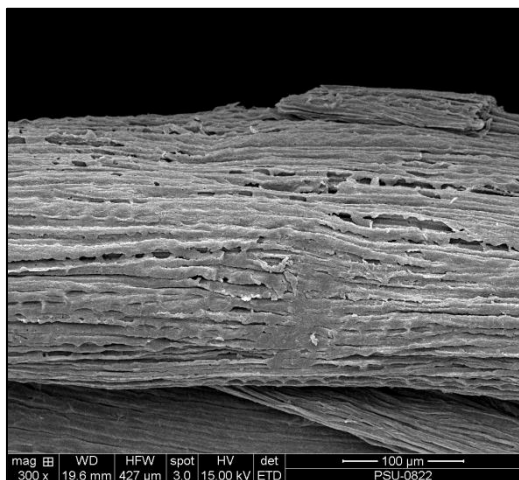
(a)



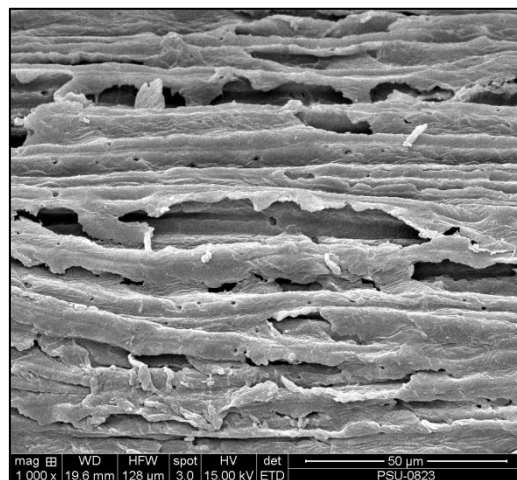
(b)

ภาพประกอบที่ ง-3 เส้นใยปาล์มหลังการย่อยโดยไม่ใช้สารลดแรงตึงผิว

(a) กำลังขยาย 300 เท่า (b) กำลังขยาย 1000 เท่า



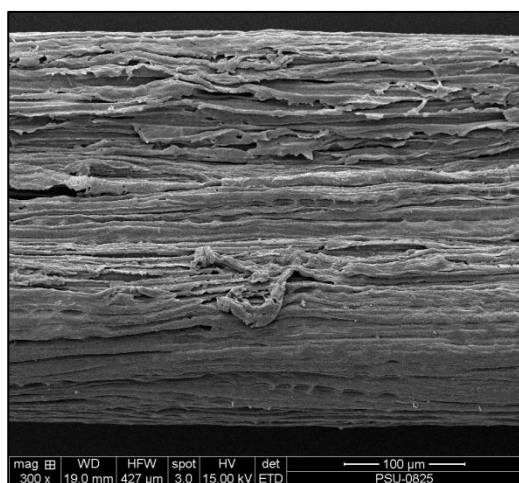
(a)



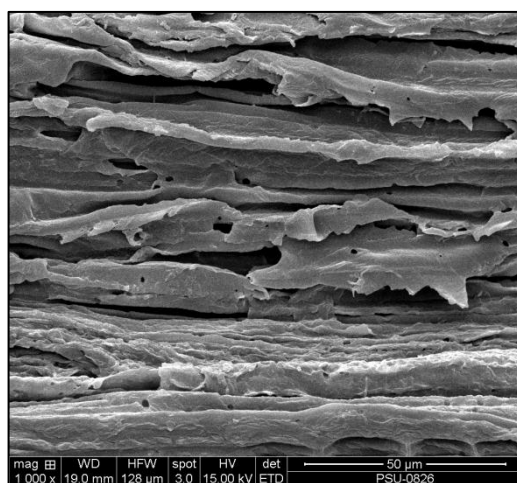
(b)

ภาพประกอบที่ ง-4 เส้นใยปาล์มหลังผ่านการย่อยโดยใช้สารลดแรงตึงผิว Tween 80 (0.25 %w/v)

(a) กำลังขยาย 300 เท่า (b) กำลังขยาย 1000 เท่า



(a)



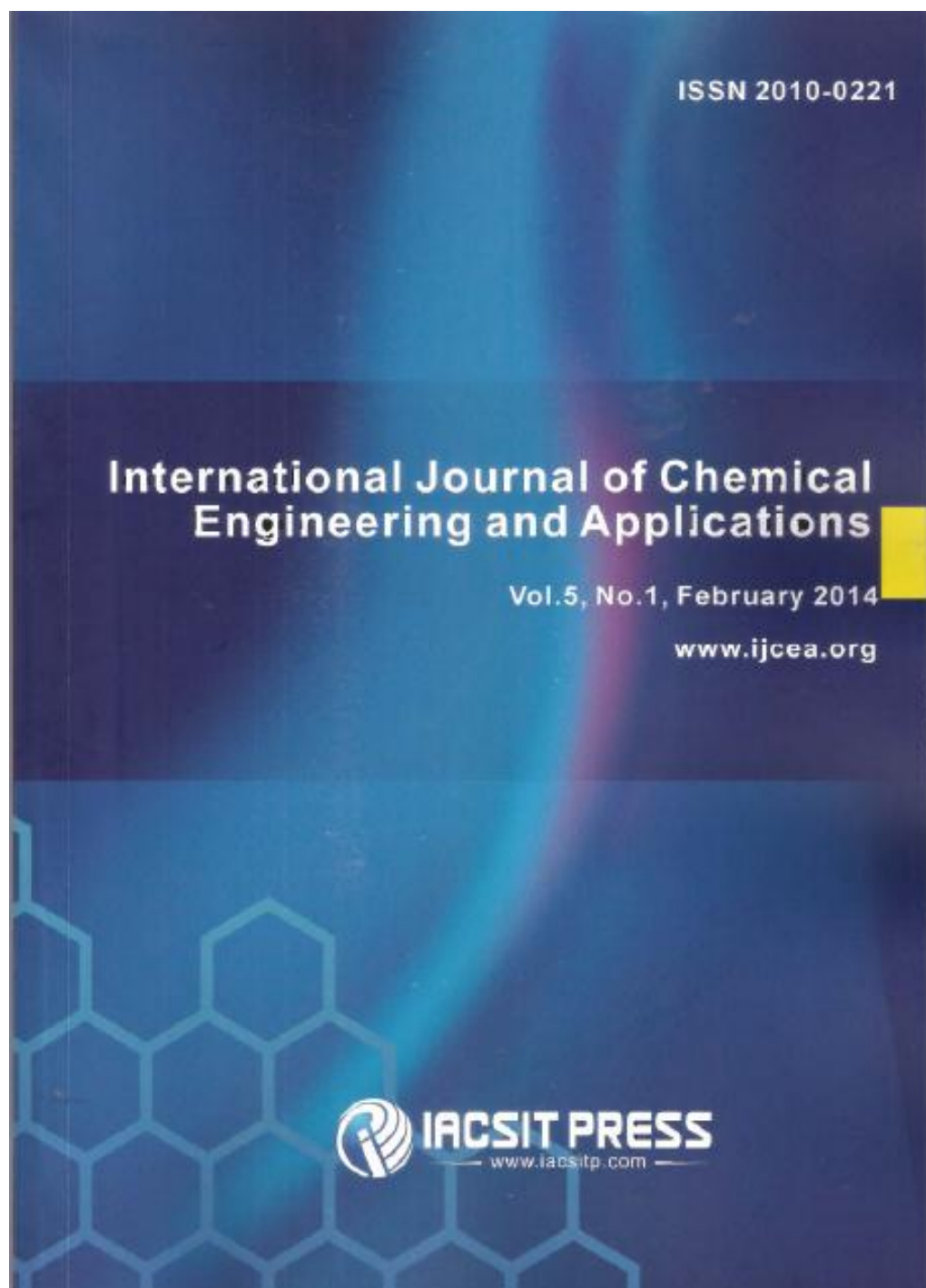
(b)

ภาพประกอบที่ ง-5 เส้นใยปาล์มหลังผ่านการย่อยโดยใช้สารลดแรงตึงผิว Tergitol 15-s-9

(0.1 %w/v) (a) กำลังขยาย 300 เท่า (b) กำลังขยาย 1000 เท่า

ภาคผนวก ฉ

บทความที่เผยแพร่ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ



Statistical Optimization for Application of Nonionic Surfactants in Enzymatic Hydrolysis of Palm Fiber for Ethanol Production

Jatuporn Parnthong and Suratsawadee Kungsanant

Abstract—Palm fiber is a lignocellulosic material, which is available in large quantity from oil palm industry. Due to its cellulosic structure, it is considered as a highly potential alternative material for ethanol production. Thus, the palm fiber is utilized as a raw material in this study. The palm fiber is obtained from local industry and mechanically ground to reduce the size in the range of 0.417-1 mm. Then, it is pretreated with 10% sodium hydroxide. Then, it is further utilized in the enzymatic hydrolysis. The commercial cellulase enzyme (*Trichoderma reesei*) is employed in this study. The nonionic surfactant (Tween80) is applied to enhance the conversion of cellulose to sugar. In the experiment, the effects of enzyme loading, surfactant concentration, and hydrolysis time on sugar yield are investigated at 50 °C and pH 5. By employing the response surface methodology, optimum sugar yield was obtained at as high as 67.65 % from palm fiber at 107 h hydrolysis time, 20 FPU/g substrate enzyme loading, and 7.39 g/L surfactant concentration.

Index Terms—Palm fiber, ethanol, enzymatic hydrolysis, nonionic surfactant, response surface method.

I. INTRODUCTION

Currently, ethanol is considered as one of the most important liquid biofuels. Thus, there is growing interest in producing the ethanol from lignocellulosic materials such as wood chips, straw, corn cob, palm fiber, oil palm empty fruit bunch, etc. In this work, palm fibers are utilized as a lignocellulosic material for ethanol production due to their large availability from oil palm industry especially in the southern part of Thailand. Moreover, the physical characteristics of palm fiber are very suitable for ethanol production [1], [2].

In conversion of the palm fibers to ethanol, enzymatic hydrolysis is a significant step to obtain high content of fermentable sugars during the ethanologenic fermentation. In this step, enzyme is determined as a high performance catalyst. In addition, it reduces corrosion of equipment and is environmentally friendly [1], [3].

Moreover, many research works reported that the addition of nonionic surfactant in enzymatic hydrolysis could increase hydrolysis rate of enzyme [4]-[7]. This is because surfactants could adsorb on lignin, leading to avoiding unproductive binding of enzymes to lignin [3], [4], [7]. In addition, other mechanisms have been reported. For examples, the surfactants change the ultra-structure of the substrate, making

the cellulose more available to enzymatic attack; the surfactants increase enzyme stability, etc [4].

Therefore, this work aims to study the sugar production from the enzymatic hydrolysis of palm fiber enhanced by nonionic surfactants. The experiment is statistically designed to observe the optimum condition of three factors, which are hydrolysis time, enzyme loading, and surfactant concentration, using a response surface method (RSM).

II. MATERIALS AND METHODS

A. Materials

Palm fibers were obtained from a palm oil extraction plant (The Southern Palm (1978) Co., Ltd.). The palm fibers were dried under sunlight for 2 days. Then, they were cut with the blender and screened to obtain the size in the range of 0.44 mm-1 mm by standard sieve. The *Trichoderma reesei* (T. reesei, Sigma-Aldrich) with filter paper activity of 0.4598 FPU/mg solid was utilized as a cellulase enzyme. The nonionic surfactant (Tween 80) was purchased from Sigma-Aldrich.

B. Pretreatment

A quantity of 10 g of the palm fibers (0.04mm-1mm) was added to 100 mL of 10%w/v NaOH, and the mixture was boiled for 15 min and then washed with distilled water until the pH was neutral. After that, it was dried in the oven and stored at room temperature.

C. Hydrolysis

The pretreated palm fibers (0.6 g) were added to the bottles containing cellulase enzyme (*T. reesei*) with 10 FPU/g substrate and surfactant in 30 mL of citric buffer (pH 5). The bottles were incubated with a shaking rate of 160 rpm at 50°C.

TABLE I: CODES AND ACTUAL LEVELS OF THE INDEPENDENT VARIABLES FOR DESIGN OF ENZYME HYDROLYSIS EXPERIMENT USED IN THE CCD

| Independent variables | Coded symbol | Code and Actual factor levels | | | | |
|----------------------------------|--------------|-------------------------------|----|----|-----|-----|
| | | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 |
| Hydrolysis time (h) | X_1 | 24 | 43 | 72 | 101 | 120 |
| Enzyme loading (FPU/g substrate) | X_2 | 5 | 8 | 13 | 17 | 20 |
| Surfactant concentration (g/L) | X_3 | 0 | 3 | 8 | 12 | 15 |

D. Experimental Design

The RSM was used to optimize the enzymatic hydrolysis based on a central composite design (CCD) to study the

Manuscript received September 5, 2013; revised November 3, 2013.
The authors are with the Department of Chemical Engineering Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112, Thailand (e-mail: suratsawadee.k@psu.ac.th).

combined effect of three independent variables, which were hydrolysis time (X_1 , h), enzyme loading (X_2 , FPU/g substrate), and surfactant concentration (X_3 , g/L). Each variable was varied at five levels ($-a$, -1 , 0 , 1 , $+a$) as shown in Table I. The sugar yields were calculated according to the following equation:

$$\text{Sugar yield (\%)} = \frac{(\text{sugar concentration})(\text{volume of reaction mixture})}{\text{mass of paper}} \times 100$$

E. Analytical Method

The cellulose and lignin contents were determined by A.O.A.C. method [8]. The sugar concentrations were analyzed using the 3, 5-dinitrosalicylic acid reagent (DNS) method and measured by UV-visible spectrophotometer (HP 8453).

III. RESULTS AND DISCUSSION

A. Sodium Hydroxide Pretreatment

Table II shows that after pretreating the palm fibers with 10%w/v NaOH, the cellulose composition increased from 41% to 57.33%, and lignin composition decreased from 11% to 9.67%. As a result, palm fibers utilized in this work are pretreated with 10%w/v NaOH and then used in enzymatic hydrolysis.

B. RSM Analysis

The experimental designs with the observed and predicted sugar yield values are presented in Table III.

TABLE II: THE COMPOSITION OF PALM FIBERS

| Pretreatment | Cellulose (%) | Lignin (%) |
|------------------|---------------|------------|
| No pretreatment | 41 | 11 |
| Sodium hydroxide | 57.33 | 9.76 |

TABLE III: CCD WITH THE OBSERVED AND PREDICTED VALUES OF THE EXPERIMENTAL RESPONSES

| Run | X_1 | X_2 | X_3 | Observed Sugar yield (%) | Predicted Sugar yield (%) |
|-----|-------|-------|-------|--------------------------|---------------------------|
| 1 | 0 | -2 | 0 | 24.54 | 28.60 |
| 2 | 0 | 0 | -2 | 29.10 | 34.17 |
| 3 | 1 | 1 | 1 | 56.83 | 65.04 |
| 4 | 0 | 2 | 0 | 66.83 | 66.85 |
| 5 | 2 | 0 | 0 | 67.19 | 66.21 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 56.68 | 52.31 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 46.89 | 47.73 |
| 8 | -2 | 0 | 0 | 24.19 | 20.15 |
| 9 | -1 | 1 | -1 | 50.27 | 46.90 |
| 10 | -1 | -1 | -1 | 20.08 | 14.49 |
| 11 | 0 | 0 | 2 | 49.12 | 44.57 |
| 12 | 1 | 1 | -1 | 69.93 | 66.21 |
| 13 | -1 | 1 | 1 | 50.94 | 55.03 |
| 14 | -1 | -1 | 1 | 19.67 | 20.67 |
| 15 | 1 | -1 | -1 | 41.28 | 46.13 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 49.88 | 47.73 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 53.54 | 47.43 |

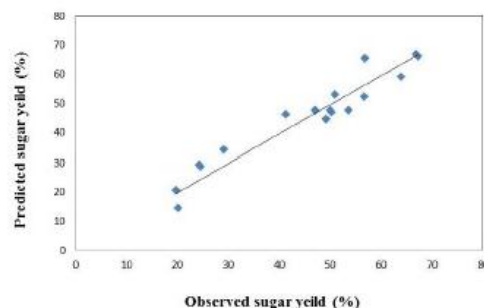


Fig. 1. Sugar yields calculated from the quadratic models versus the corresponding experimentally measured values.

The final response functions in term of coded factors to predict sugar yields eliminating the insignificant terms are given in the following equation:

$$Y = -59.61 + 0.860X_1 + 5.285X_2 + 2.922X_3 - 0.149X_3^2 - 0.0379X_1X_2$$

where Y (sugar yield) is the predicted response as a function of hydrolysis time (X_1), enzyme loading (X_2) and surfactant concentration (X_3).

The R^2 value from the model is 0.94 and R^2 adjusted value is 0.88. Fig. 1 presents the comparison between the actual response values obtained from the experiments and the predicted response values based on the quadratic model equation of sugar yield. It also demonstrates that the predicted and observed results are consistent.

C. Effect of Hydrolysis Time and Enzyme Loading

The predicted response surface for sugar yields from palm fibers as functions of hydrolysis time and enzyme loading is presented in Fig. 2. The results show that sugar yield increased with increasing hydrolysis time and enzyme loading. In short time period, it should be noted that the increase in enzyme loading has a significant role on sugar yield [3].

D. Effect of Hydrolysis Time and Surfactant Concentration

The predicted response surface for sugar yields from palm fibers as functions of hydrolysis time and surfactant concentration is presented in Fig. 3. It can be seen that as the surfactant concentration is varied in range of 0-15 g/L, the highest sugar yield is observed at 7.39 g/L.

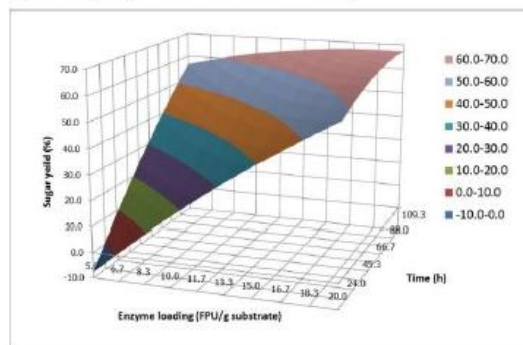


Fig. 2. Response surface plot showing the effect of hydrolysis time and enzyme loading on sugar release from palm fiber.

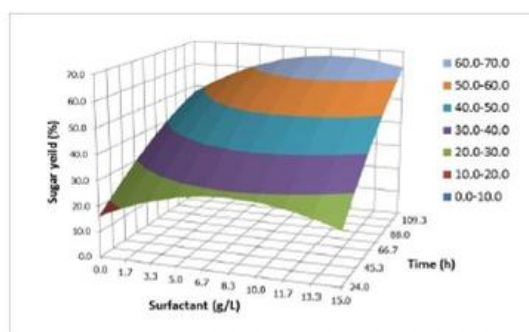


Fig. 3. Response surface plot showing the effect of hydrolysis time and surfactant concentration on sugar release from palm fiber.

E. Effect of Surfactant Concentration and Enzyme Loading

The response surface for sugar yields from palm fiber as functions of surfactant concentrations and enzyme loading is presented in Fig. 4. It can be seen that as the surfactant concentration increased from 0 to 15 g/L, the local maximum value at the center of the design is observed at 7.39 g/L surfactant concentration. In addition, the higher enzyme loading, the greater sugar yields. The results also show that the addition of surfactant could increase rate of enzymatic hydrolysis especially in the region of low enzyme loading. The ability of nonionic surfactant to minimize nonproductive and irreversible binding of cellulose to lignin might be the reason for this benefit [4]. However, as the surfactant concentration is increased greater than 7.39 g/L the sugar yield tends to decline. This might be due to the increase in the number of micelles in the solution. The greater micelle formation could enhance the partitioning of the enzyme into the surfactant micelles, leading to the reduction of free enzyme available for hydrolysis. In addition, the pH of the solution could be changed at high surfactant concentration [3]. Therefore, surfactant is suitable to enhance saccharification of cellulose to glucose with low enzyme loading.

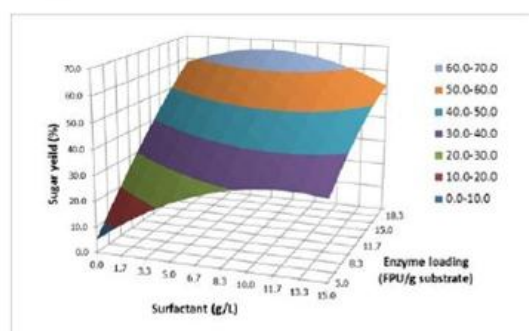


Fig. 4. Response surface plot showing the effect of surfactant concentration and enzyme loading on sugar release from palm fiber.

F. Optimization

The local optimization calculated from the statistical model shows that the sugar yield of 67.65 % from palm fiber was achieved at 107 h hydrolysis time, 20 FPU/g substrate enzyme loading, and 7.39 g/L surfactant concentration.

IV. CONCLUSIONS

The RSM could be employed to optimize three factors, which are hydrolysis time, enzyme loading, and surfactant concentration, for the enzymatic hydrolysis of palm fiber. The addition of low concentration of nonionic surfactant could increase sugar yield at optimum concentration, revealing the ability of the nonionic surfactant to minimize nonproductive binding of enzyme to lignin. Thus, the nonionic surfactant could enhance conversion of cellulose to glucose especially with low enzyme loading. The role of surfactant on enzymatic hydrolysis and the effect of surfactants on ethanol fermentation should be further discussed.

ACKNOWLEDGMENT

We would like to acknowledge the materials and financial supported from The Southern Palm (1978) Co., Ltd., Department of Chemical Engineering, Bio-gas and research center in Department of Environmental Engineering, faculty of Engineering, and the graduate school of Prince of Songkla University.

REFERENCES

- [1] P. Boonsawang, Y. Subkaree, and T. Srinorakutara, "Ethanol production from palm pressed fiber by prehydrolysis prior to simultaneous saccharification and fermentation (SSF)," *Biomass and Bioenergy*, vol. 40, pp. 127-132, 2012.
- [2] F. Hamzah, A. Isris, and T. K. Shuan, "Preliminary study on enzymatic hydrolysis of treated oil palm (Elaeis) empty fruit bunches fibre (EFB) by using combination of cellulase and β 1-4 glucosidase," *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, pp. 1055-1059, 2011.
- [3] K. H. Chu and X. Feng, "Enzymatic conversion of newspaper and office paper to fermentable sugars," *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 91, pp. 123-130, 2013.
- [4] T. Eriksson, J. Borjesson, and F. Tjerneid, "Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 31, pp. 353-364, 2002.
- [5] H. J. Kim, S. B. Kim, and C. J. Kim, "The effects of nonionic surfactants on the pretreatment and enzymatic hydrolysis of recycled newspaper," *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 12, pp. 147-151, 2007.
- [6] N. Hemmatinejad, F. Vahabzadeh, and S. S. Kordestani, "Effect of surfactant on enzymatic hydrolysis of cellulosic fabric," *Iranian Polymer Journal*, vol. 11, pp. 333-338, 2002.
- [7] M. Alkasrawi, T. Eriksson, J. Borjesson, A. Wingren, M. Galbe, F. Tjerneid, and G. Zacchi, "The effect of Tween20 on simultaneous saccharification and fermentation of softwood to ethanol," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 33, pp. 71-78, 2003.
- [8] Y. Subkaree, "Optimal condition for ethanol production from palm pressed fiber using simultaneous saccharification and fermentation (ssf)," M. D., Department of Biotechnology, Faculty of Argo-Industry, Prince of Songkla University, Hadyai, Thailand, 2007.



Jatuporn Parnthong is a graduate student who has received her master's degree, she was with the Department of Chemical Engineering, Prince of Songkla University Scholarship Awards during Enrolment: Prince of Songkla University for Graduate Studies Grant.



Suratsawadee Kungsanant received her Ph.D in petrochemical technology, she was with the Department of Chemical Engineering, Prince of Songkla University, now she is a lecturer.

ประวัติผู้เขียน

| | | | |
|----------------------|---------------------------------------|--------------------------|---------------------|
| ชื่อ สกุล | นางสาว จตุพร ปานทอง | | |
| รหัสประจำตัวนักศึกษา | 5510120127 | | |
| วุฒิการศึกษา | | | |
| | วุฒิ | ชื่อสถาบัน | ปีที่สำเร็จการศึกษา |
| | วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี) | มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ | 2555 |

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนโครงการตรี-โทห้าปี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ. 2555
- ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ปีงบประมาณ 2556

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Jatuporn Parnthong and Suratsawadee Kungsanant. (2014). Statistical Optimization for Application of Nonionic Surfactants in Enzymatic Hydrolysis of Palm Fiber for Ethanol Production. International Journal of Chemical Engineering and Application, 5: 23-25.