บทที่ 3

ผลการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูล

1. ผลการศึกษาองค์ประกอบของเส้นใยปาล์ม

จากการศึกษาองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มที่ไม่ผ่านการเตรียมด้วยวิธีทางเคมี แต่ผ่านการเตรียมด้วยวิธีทางกายภาพโดยการบด และผ่านตะแกรงร่อนขนาด 24 เมช ซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส และลิกนิน 29.82 ± 0.57, 17.79 ± 0.47 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และมีปริมาณความชื้น 9.53 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งจะใกล้เคียงกับที่ Aziz และคณะ (2002) รายงานไว้ โดยปริมาณเซลลูโลส และลิกนินในเส้นใยปาล์มเท่ากับ 32.4 และ 20.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสจะเห็นได้ว่า มีปริมาณไม่สูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับลิกโนเซลลูโลสชนิดอื่นๆ ตามตารางที่ 3 ตัวอย่างเช่น ซังข้าวโพดซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส 41.2 ± 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ฟางข้าวมีปริมาณเซลลูโลส 38.6 ± 0.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และเศษไม้เหลือทิ้งมีปริมาณเซลลูโลส 45-56 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่วนปริมาณลิกนินในเส้นใยปาล์มกับลิกโนเซลลูโลสชนิดอื่นๆ จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่า มีปริมาณลิกนินที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบเส้นใยปาล์ม กับทะลายปาล์มซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส 50.4 ± 1.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และมีปริมาณลิกนินเพียง 10.0 ± 1.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะเห็นได้ว่า เส้นใยปาล์มมีปริมาณเซลลูโลสน้อยกว่า และมีปริมาณลิกนินมากกว่าด้วย ซึ่งจากองค์ประกอบข้างต้นจะเห็นว่าทะลายปาล์มเป็นวัตถุดิบที่ดีกว่าเส้นใยปาล์มในการผลิตเอทานอล แต่จากลักษณะทางกายภาพซึ่งเส้นใยปาล์มมีขนาดเล็กว่าทะลายปาล์มเป็นอย่างมาก (ภาพที่ 23) ทำให้สะดวกในการนำมาทำการเตรียมให้มีขนาดเล็กกว่าโดยการบด ส่งผลให้ต้นทุนในการเตรียมเส้นใยปาล์มเพื่อผลิตเอทานอลต่ำลง

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จะเห็นว่าเส้นใยปาล์มมีข้อได้เปรียบในการนำมาผลิตเอทานอล และอาจจะส่งผลให้ผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูง โดยใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ

2. ผลการศึกษาการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมไฮดรอกไซด์

จากการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ แคลเซียมไฮ-ดรอกไซด์นั้น ทำให้ปริมาณเส้นใยปาล์มมีการเปลี่ยนแปลงดังตารางที่ 4 ซึ่งจากตาราง จะเห็นได้ว่าการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้มีปริมาณเส้นใยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น (เหลือปริมาณ

เส้นใยหลังจากการเตรียม 36 - 66 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สามารถที่จะสลายองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มได้ และเมื่อเพิ่มระยะเวลาที่สารละลายเดือด ปริมาณเส้นใยปาล์มจะลดลงเช่นกัน จากการรายงานของ Silverstein และคณะ (2006) เมื่ออุณหภูมิ ระยะเวลาการต้มเดือด และความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณ Cotton stalks บางส่วนหายไประหว่างการเตรียม ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาที่สารละลายเดือด จะเป็นการเพิ่มระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างสารเคมีกับองค์ประกอบของเส้นใยปาล์ม ทำให้ปริมาณเส้นใยที่เหลือหลังจากการเตรียมลดลง (Silverstein และคณะ, 2006) แต่เมื่อใช้ระยะเวลานานกว่า 60 นาที ปริมาณเส้นใยปาล์มจะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยสังเกตได้ชัดเจนที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่ง Zhu และคณะ (2005a) ได้รายงานการเตรียมฟางข้าวด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าสามารถสลายองค์ประกอบของฟางข้าวได้ 41.5 ± 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อใช้ระยะเวลาสารละลายเดือด 70 นาที แต่เมื่อใช้ระยะเวลานานกว่านี้ ปริมาณฟางข้าวจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง และเมื่อใช้ไมโครเวฟเป็นตัวให้พลังงานแทนการต้มให้เดือด จะสามารถสลายองค์ประกอบได้ 44.6 ± 0.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเวลาผ่านไป 30, 42 และ 70 นาที ด้วยพลังงาน 700, 500 และ 300W ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มระยะเวลานานกว่านี้ ปริมาณฟางข้าวไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Zhu และคณะ, 2005a) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าเมื่อใช้ระยะเวลานานขึ้น ปฏิกิริยาระหว่างเส้นใยกับสารละลายลดลง และคุณภาพของสาระละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เมื่อใช้ไปจะลดต่ำลงด้วย

ดังนั้นสามารถอธิบายได้ว่า ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และระยะเวลาที่สารละลายเดือด มีผลต่อความสามารถในการสลายขององค์ประกอบในเส้นใยปาล์ม ซึ่งถ้าใช้ปริมาณความเข้มข้นมากขึ้น และระยะเวลาเพิ่มขึ้นจะทำให้การละลายขององค์ประกอบเพิ่มขึ้นด้วย แต่การใช้ความเข้มข้น และระยะเวลาเพิ่มขึ้น ทำให้ต้นทุนในการเตรียมเส้นใยเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ดังนั้น ในการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จะต้องพิจารณาถึงความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียม เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการเตรียมเส้นใย

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในเส้นใยปาล์มกับวัตถุดิบทางการเกษตรอื่นๆ

Table 3 Cellulose hemicellulose and lignin contents in palm pressed fiber and agriculture materials

วัตถุดิบ	องค์ประกอบ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง)			อ้างอิง
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	
เส้นใยปาล์ม	29.82 ± 0.57	*	17.79 ± 0.47	งานวิจัยนี้
ทะลายปาล์ม	50.4 ± 1.2	21.9 ± 1.4	10.0 ± 1.7	Umikalson และคณะ, 1997
ซังข้าวโพด	41.2 ± 0.5	25.8 ± 0.5	21.3 ± 0.4	Zhu และคณะ, 2006
ฟางข้าว	38.6 ± 0.4	19.7 ± 0.5	13.6 ± 0.6	Zhu และคณะ , 2005a,b
เศษไม้เหลือทิ้ง	45-56	10-25	18-30	ปิยวรรณ สายมโนพันธ์ และพัชรินทร์ ฉัตรประเสริฐ, 2540 ; Martin, (1991 อ้างโดย พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์, 2545)
ต้นมันสำปะหลัง	32.2	13.85	26.96	

* ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

(a) (b)

ภาพที่ 23 เปรียบเทียบลักษณะของ (a) เส้นใยปาล์ม (b) ทะลายปาล์มเปล่า

Figure 23 Characterization of (a) Palm pressed fiber (b) Oil palm empty fruits brunches

ตารางที่ 4 ปริมาณเส้นใยปาล์มที่เหลือหลังการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (อัตราส่วนเส้นใยต่อปริมาณสารเคมีเท่ากับ 1: 10)

Table 4 Palm pressed fiber residue after pretreated by NaOH or $Ca(OH)_2$ (Ratio of palm pressed fiber : alkaline solution was 1 : 10)

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ระยะเวลาสารละลายเดือด (นาที)	ปริมาณเส้นใยที่เหลือหลังการเตรียม (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง)	
		โซเดียมไฮดรอกไซด์	แคลเซียมไฮดรอกไซด์
1	15	66.06 ± 0.90	86.07 ± 0.31
	30	65.27 ± 0.08	83.31 ± 1.91
	60	64.60 ± 0.99	82.84 ± 2.02
	90	63.33 ± 0.85	83.57 ± 1.67
5	15	53.27 ± 0.89	84.69 ± 1.06
	30	50.14 ± 0.64	81.21 ± 0.87
	60	43.19 ± 0.40	80.65 ± 1.82
	90	42.09 ± 0.75	81.23 ± 0.59
10	15	48.55 ± 0.79	84.13 ± 0.76
	30	47.04 ± 0.73	81.76 ± 1.01
	60	39.22 ± 0.42	81.88 ± 1.21
	90	38.13 ± 0.94	80.81 ± 1.11
15	15	45.59 ± 0.49	82.50 ± 0.80
	30	42.59 ± 0.15	82.16 ± 0.77
	60	38.97 ± 0.50	80.47 ± 1.29
	90	36.27 ± 0.99	79.71 ± 1.27

ส่วนการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณเส้นใยปาล์มที่เหลือหลังจากการเตรียมดังตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่า ปริมาณเส้นใยปาล์มที่เตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะลดลงน้อยมาก (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งปริมาณเส้นใยที่เหลือหลังจากการเตรียมจะอยู่ประมาณ 79 – 86 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และลดลงน้อยกว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทั้งในส่วนของความเข้มข้น และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถสลายองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มได้น้อยและน้อยกว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ไม่สามารถละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ ทำให้การสัมผัสระหว่างเส้นใยกับ

แคลเซียมไฮดรอกไซด์เกิดขึ้นได้น้อย และแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นเบสอ่อน ซึ่งมีความสามารถในการกัดกร่อนได้น้อยกว่าเบสแก่ อีกประการหนึ่งที่ทำให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ สามารถสลายองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มได้น้อยกว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ คือเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเป็นกรัมที่เท่ากัน แคลเซียมไฮดรอกไซด์จะให้ความเข้มข้นน้อยกว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำให้แรงในการกัดกร่อนน้อยกว่าตามไปด้วย อย่างเช่นที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โซเดียมไฮดรอกไซด์จะให้ความเข้มข้น 0.25 โมลลาร์ แต่แคลเซียมไฮดรอกไซด์จะให้ความเข้มข้น 0.14 โมลลาร์

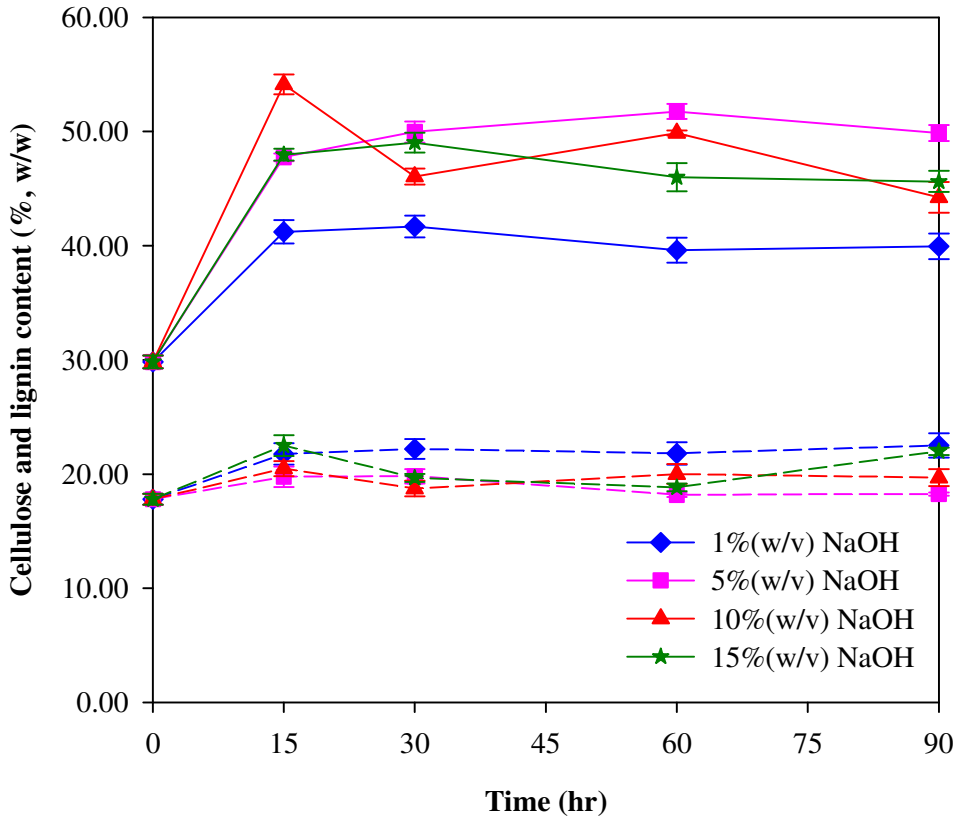
2.1 การเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มหลังการเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีการเปลี่ยนแปลงดังภาพที่ 24 จะเห็นได้ว่า ปริมาณเซลลูโลสในทุกๆสภาวะการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มที่ไม่ผ่านการเตรียมทางเคมี ซึ่งสามารถบ่งบอกได้ว่า สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถละลายองค์ประกอบของเส้นใยปาล์ม โดยส่วนที่สามารถละลายไปนั้น จะเป็นส่วนของเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่บริเวณรอบนอก Umikalsom และคณะ (1998) รายงานว่าการเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะสลายความเป็นผลึกของเซลลูโลส และลิกนินโดยสลายเป็น CO_2, H_2O และ Carboxylic acid

Zhu และคณะ (2005a, 2006c) รายงานว่า น้ำหนักของฟางข้าวที่หายไปหลังจากการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะเป็นองค์ประกอบของฟางข้าว ตัวอย่างเช่น ลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นเหตุผลให้ปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นด้วย Tarkov และ Feist (1969 อ้างโดย Silverstein และคณะ 2006) รายงานว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จะสลายลิกนิน โดยการทำลายพันธะเอสเทอร์ระหว่างลิกนิน กับไซเลน และการสลายแบบนี้จะทำให้เกิดความเป็นรูพรุนด้วย จากนั้น Silverstein และคณะ (2006) ได้รายงานว่าการเตรียม Cotton stalks ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถสลายไซเลนได้ 13.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (0.5% NaOH/90^{0}C 90 min) ถึง 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (2.0% NaOH/90^{0}C 90 min) และทำให้กลูแคนมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น 35.54 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (0.5% NaOH/90^{0}C 30 min) ถึง 50.33 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (2.0% NaOH/121^{0}C 15 psi 60 min) จาก Cotton stalks ที่มีปริมาณกลูแคนเริ่มต้น 31.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

จากการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จะทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 54.13 ± 0.87 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเตรียมโดยใช้ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 29.82 ± 0.57 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก



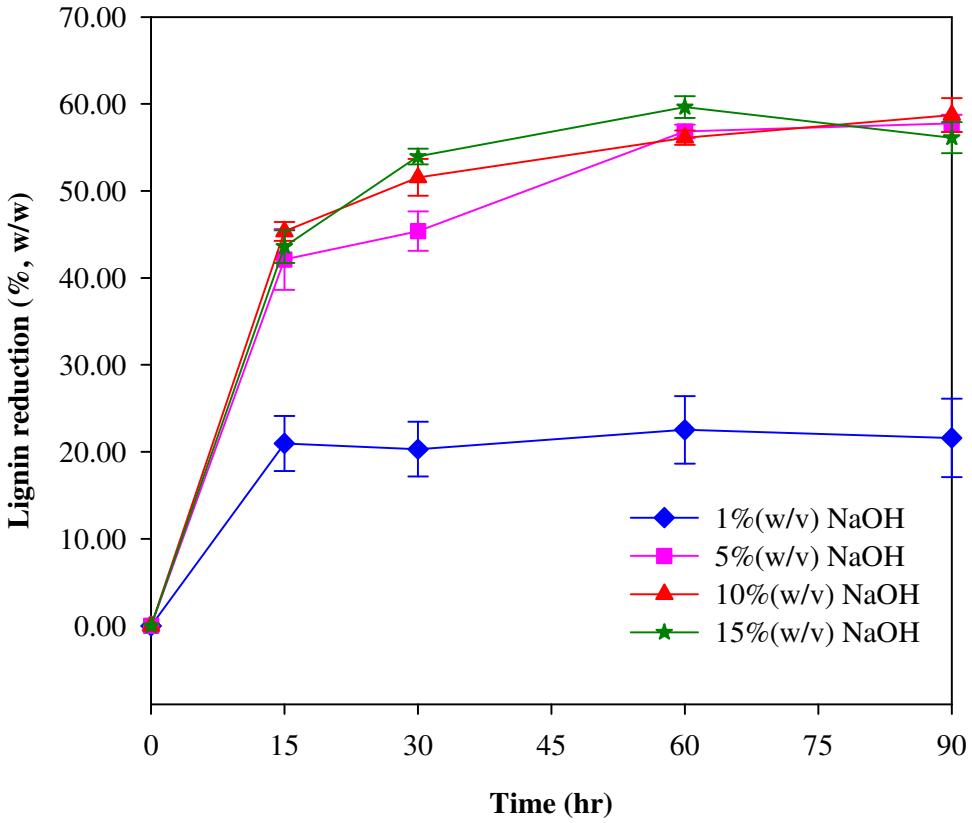
ภาพที่ 24 สัดส่วนปริมาณเซลลูโลส (——) และลิกนิน (- - -) ในเส้นใยปาล์ม หลังการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (อัตราส่วนเส้นใยต่อปริมาณสารเคมีเท่ากับ 1 : 10)

Figure 24 Cellulose (——) and lignin (- - - -) contents in palm pressed fiber after pretreated by NaOH (Ratio of palm pressed fiber : alkaline solution was 1 : 10)

สำหรับในส่วนของปริมาณลิกนินนั้น หลังจากการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณลิกนินเพิ่มขึ้นในทุกๆความเข้มข้น และระยะเวลาการเตรียม แต่เพิ่มขึ้นไม่มากนัก (ปริมาณลิกนินเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 18-22 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) (ภาพที่ 24) ทั้งนี้อาจจะเป็นผลมาจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถที่จะกำจัดลิกนินได้โดยตรง แต่จะกำจัดโดยผ่านทางการละลายของเฮมิเซลลูโลส ซึ่งจากลักษณะโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส ลิกนินยึดหรือเกิดพันธะกับเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นถ้าเฮมิเซลลูโลสสลาย จะทำให้ลิกนินหลุดออกมาด้วย

เมื่อสังเกตปริมาณลิกนินที่หายไป (Lignin reduction) จากภาพที่ 25 จะสังเกตได้ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจาก 1 เป็น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณลิกนินที่หายไปจะสูงขึ้น (จากประมาณ 19.24 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที เป็น 38 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที) ซึ่งเหมือนกับการรายงานของ Silverstein และคณะ (2006) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จากความเข้มข้น 0.5 เป็น 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะทำให้ปริมาณลิกนินที่หายไปเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นจาก 5 ถึง 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณลิกนินที่หายไปจะคงที่ (ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์)



ภาพที่ 25 ปริมาณลิกนินที่ลดลง จากการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (อัตราส่วนเส้นใยต่อปริมาณสารเคมีเท่ากับ 1 : 10)

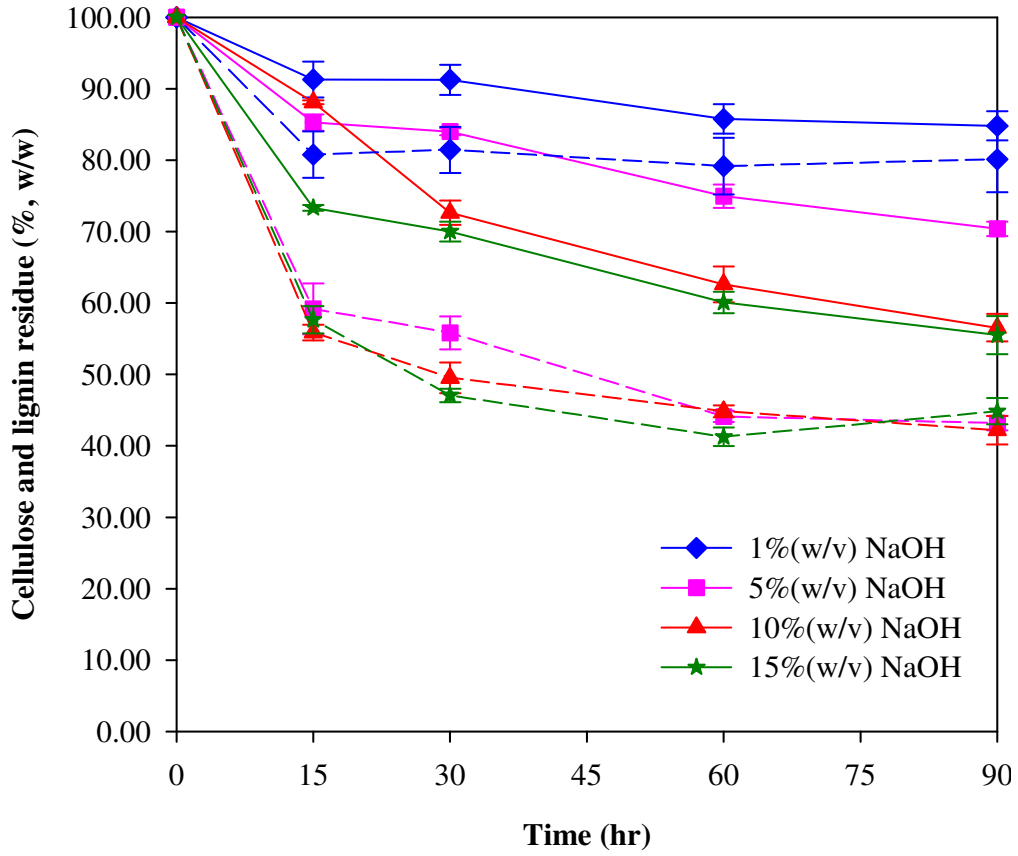
Figure 25 Lignin reduction after pretreated palm pressed fiber by NaOH (Ratio of palm pressed fiber : alkaline solution was 1 : 10)

ส่วนระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณลิกนินที่หายไปเพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่ถ้าใช้ระยะเวลานานกว่า 60 นาที ปริมาณลิกนินที่หายไปจะเริ่มคงที่ (ภาพที่ 25) ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อเพิ่มระยะเวลาให้สารละลายเดือด

นานขึ้น ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณลิกนินที่หายไป (ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์) ตามภาพที่ 25 ซึ่งจากการรายงานของ Silvertein และคณะ (2006) ความเข้มข้นที่ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นค่าความเข้มข้นที่ต่ำ ซึ่งสามารถกำจัดปริมาณลิกนินได้เล็กน้อยเท่านั้น แม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาในการเตรียมถึง 90 นาที และเพิ่มอุณหภูมิสูงเป็น 121 องศาเซลเซียส ในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อก็ตาม

จากการทดลองสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สามารถกำจัดปริมาณลิกนินได้สูงสุด 59.64 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จากการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 60 นาที Silverein และคณะ (2006) ได้รายงานว่าสามารถกำจัดปริมาณลิกนินใน Cotton stalks ได้ 65.65 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาการต้มเดือดที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นระยะเวลา 90 นาที ส่วน Varga และคณะ (2002 อ้างโดย Silvertein 2006) สามารถกำจัดปริมาณลิกนินได้ถึง 95 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ในการเตรียม corn stover ด้วยสารละลายเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

เมื่อสังเกตปริมาณเซลลูโลสที่เหลือ จากการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามภาพที่ 26 จะเห็นได้ว่า ปริมาณเซลลูโลสที่เหลือจากการเตรียม จะลดลงในทุกๆสภาวะการเตรียม (ปริมาณเซลลูโลสเริ่มต้นเท่ากับ 29.82 ± 0.57 กรัม คิดเป็น 100.00 เปอร์เซ็นต์) แสดงให้เห็นว่า ในการเตรียมเส้นใยปาล์ม เซลลูโลสส่วนหนึ่งจะละลายออกมาด้วย เนื่องจากโซเดียมไฮ-ดรอกไซด์ จะสลายลิกนินโดยการทำลายพันธะเอสเทอร์ระหว่างไซเลน กับ ลิกนิน ทำให้เกิดช่องว่าง หรือ รูพรุนที่เข้าถึงส่วนของเซลลูโลส (Tarkov และ Feist 1969 อ้างโดย Silverstein และคณะ, 2006) ทำให้เซลลูโลสถูกไฮโดรไลซีส และจะถูกไฮโดรไลซีสมาก ถ้าใช้ระยะเวลาในการเตรียมนานเกินไป จะเห็นได้ชัดเจนที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามภาพที่ 26 ซึ่งจากการรายงานของ Silverstein และคณะ (2006) ในการเตรียม cotton stalks ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้กลูแคนสลายไป 12.82 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (1%(w/v) NaOH/121^{0}C, 15psi, 30 min) ถึง 30.14 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (2.0%(w/v) NaOH/90^{0}C, 60 min) ดังนั้น ในการเตรียมที่เหมาะสมจะต้องเหลือปริมาณเซลลูโลสในปริมาณมาก และเหลือลิกนินในปริมาณน้อย



ภาพที่ 26 ปริมาณเซลลูโลส(——) และลิกนิน(- -) ที่เหลือในเส้นใยปาล์มหลังการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

Figure 26 Cellulose (——) and lignin (----) residues in palm pressed fiber after pretreated by NaOH

ในการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเหลือปริมาณเซลลูโลสอยู่มากที่สุด (ประมาณ 84 – 91 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) แต่ในขณะเดียวกันนั้น ก็เหลือปริมาณลิกนินอยู่มากเช่นกัน (ประมาณ 79 – 81 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ส่วนในการเตรียมด้วย 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีปริมาณเซลลูโลสเหลืออยู่ใกล้เคียงกัน (ประมาณ 56 - 88 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) และปริมาณลิกนิน 42 - 59 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่วนในการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเหลือปริมาณเซลลูโลสอยู่น้อยที่สุดประมาณ 55 – 73 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก แต่ปริมาณลิกนินใกล้เคียงกับที่เตรียมด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ประมาณ 41 – 57 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (ภาพที่ 26) ดังนั้นสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อ

ปริมาตร จะเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเตรียมเส้นใยปาล์มมากกว่า 1 และ 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ในการทดสอบความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลส และลิกนินที่เหลืออยู่หลังการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที กับ การเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที พบว่าปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มที่เตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที มีปริมาณน้อยกว่า ปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มที่เตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที อย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณลิกนินไม่มีความแตกต่าง แสดงให้เห็นว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที มีความเหมาะสมมากกว่า การเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที

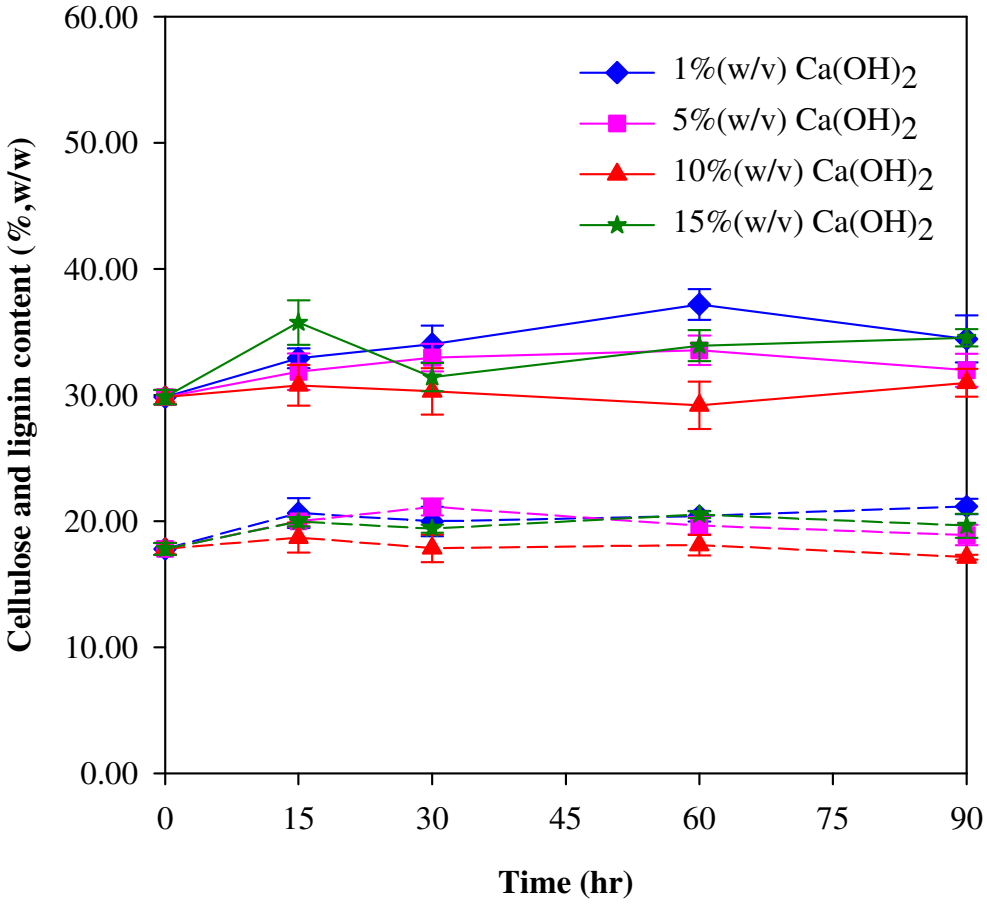
ในการทดสอบความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลส และลิกนินที่เหลืออยู่หลังการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที กับ การเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 30 นาที พบว่า ปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มที่เตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที มากกว่าปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มที่เตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 30 นาที อย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณลิกนิน การเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 30 นาที เหลืออยู่น้อยกว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารเดือด 15 นาที แต่เมื่อพิจารณาโดยรวมแล้วปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มที่เตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 30 นาที เหลืออยู่น้อยมาก (ประมาณ 72.64 ± 1.72 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ปริมาณลิกนินถึงจะมีความแตกต่าง แต่การเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที ก็เหลืออยู่ไม่มาก (ประมาณ 55.86 ± 1.10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) และการใช้ระยะเวลาสั้นกว่า จะเป็นการลดต้นทุนในการเตรียมด้วย ดังนั้นสรุปได้ว่า การเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดย

น้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที มีความเหมาะสมมากกว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 30 นาที

2.2 การเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์

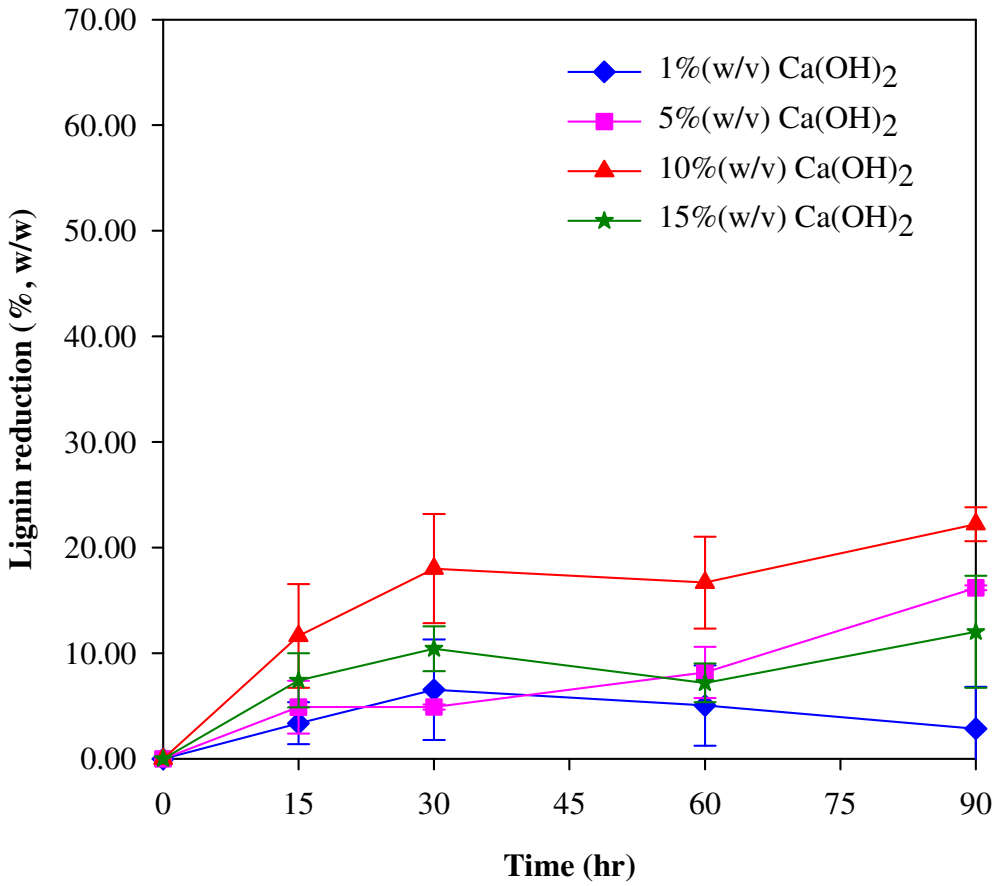
ปริมาณเซลลูโลสหลังจากการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ จะมีการเปลี่ยนแปลงตามภาพที่ 27 ซึ่งจากภาพจะเห็นได้ว่า ปริมาณเซลลูโลสในบางสภาวะการเตรียมมีปริมาณเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนบางสภาวะการเตรียมปริมาณเซลลูโลสไม่แตกต่าง จากที่ไม่ได้ทำการเตรียม และเมื่อดูจากปริมาณเส้นใยปาล์มที่เหลือหลังเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ลดลงน้อยมาก (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่า แคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถสลายองค์ประกอบของเส้นใยปาล์มได้น้อย ไม่ว่าจะเป็นเฮมิเซลลูโลส หรือลิกนินก็ตาม ซึ่งเมื่อดูปริมาณลิกนินที่หายไปตามภาพที่ 28 จะเห็นได้ว่า ปริมาณลิกนินที่หายไปน้อยมาก เพียง 2 - 22 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เท่านั้น จากการรายงานของ Sun และคณะ (1995) การเตรียม wheat straw ด้วยแคลเซียม ไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ไม่สามารถที่จะกำจัดลิกนินออกไปได้

เมื่อพิจารณาปริมาณเซลลูโลส และปริมาณลิกนินที่เหลือหลังจากการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ตามภาพที่ 29 ผลปรากฏว่า ทั้งปริมาณเซลลูโลส และลิกนินที่เหลือมีปริมาณสูง โดยปริมาณเซลลูโลสจะเหลืออยู่ประมาณ 80 - 100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (ปริมาณเซลลูโลสเริ่มต้นเท่ากับ 29.82 ± 0.57 กรัม คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ส่วนปริมาณลิกนินจะเหลืออยู่ประมาณ 77 – 99 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (ปริมาณลิกนินเริ่มต้นเท่ากับ 17.79 ± 0.47 กรัม คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)



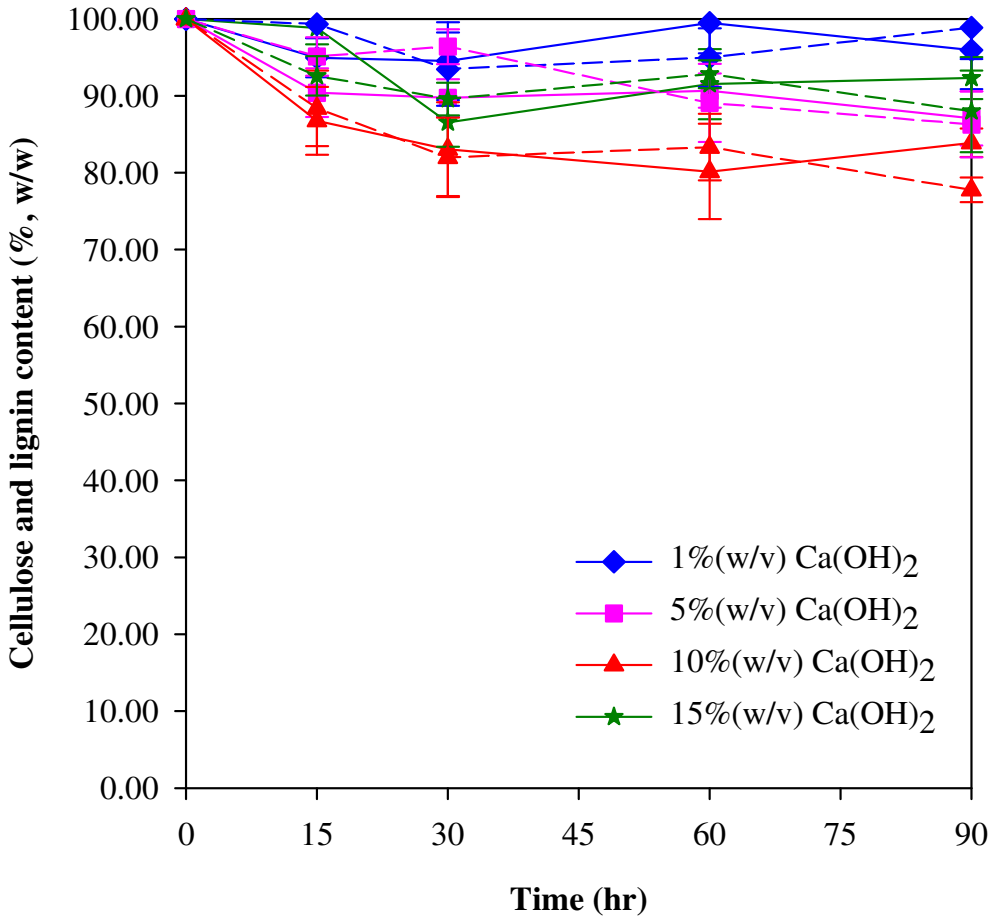
ภาพที่ 27 สัดส่วนปริมาณเซลลูโลส (——) และลิกนิน (--)ในเส้นในปาล์มหลังการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (อัตราส่วนเส้นใยต่อปริมาณสารเคมีเท่ากับ 1 : 10)

Figure 27 Cellulose (——) and lignin (----) contents in palm pressed fiber after pretreated by $Ca(OH)_2$ (Ratio of palm pressed fiber : alkaline solution was 1 : 10)



ภาพที่ 28 ปริมาณลิกนินที่ลดลงหลังจากการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

Figure 28 Lignin reduction after pretreated palm pressed fiber by $Ca(OH)_2$



ภาพที่ 29 ปริมาณเซลลูโลส (——) และลิกนิน-(- - -) ที่เหลือหลังการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

Figure 29 Cellulose (——) and lignin (----) residues after pretreated palm pressed fiber by $Ca(OH)_2$

2.3 เปรียบเทียบการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ กับการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลสที่เหลืออยู่ระหว่างการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ กับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (ปูนขาว) ปรากฏว่าปริมาณเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (ปูนขาว) จะมีปริมาณมากกว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามภาพที่ 26 และ 29 ซึ่งถ้าดูจากปริมาณเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในเส้นใยปาล์มนั้น จะทำให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (ปูนขาว) เป็นสารเคมีที่มีความเหมาะสมในการเตรียมเพราะมีปริมาณเซลลูโลสที่เหลืออยู่มาก และมากกว่าการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่เมื่อ

พิจารณาในส่วนของปริมาณลิกนินที่เหลืออยู่ตามภาพที่ 26 และ 29 จะเห็นได้ว่าปริมาณลิกนินที่เหลืออยู่ในเส้นใยปาล์มจากการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ น้อยกว่าการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ อย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งลิกนินจะเป็นตัวสำคัญในขั้นตอนการไฮโดรไลซีส ถ้ามีปริมาณลิกนินอยู่มากในวัตถุดิบจะทำให้การไฮโดรไลซีสเกิดขึ้นได้น้อย เพราะลิกนินจะเป็นตัวขัดขวางไม่ให้เอนไซม์ สัมผัสกับเซลลูโลส ฉะนั้นถ้าทำการเตรียมให้วัตถุดิบมีปริมาณลิกนินน้อยลง จะเป็นผลดีต่อการไฮโดรไลซีส ซึ่งการเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะลดปริมาณลิกนินได้ดีกว่า

ในการเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะให้ปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 24) และเร็วกว่าการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (ภาพที่ 27) แสดงให้เห็นว่า การเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถที่จะกำจัดส่วนอื่นไปได้รวดเร็วกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเหมือนกับการรายงานของ Sun และคณะ (1995) การเตรียม Wheat straw ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในเวลา 6 ชั่วโมง การเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จะสามารถสลายลเฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้เร็วกว่า และมากกว่าการเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

สำหรับลิกนินจะเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งในการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์ ซึ่งจากการรายงานของ Umikalsom และคณะ (1998) พบว่า เมื่อปริมาณลิกนินลดลงจาก 12 เป็น 6.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การไฮโดรไลซีส จะเพิ่มเกือบเป็นเส้นตรง และการไฮโดรไลซีสจะยังคงเพิ่มขึ้น เมื่อลดปริมาณลิกนินจาก 6.5 เป็น 4.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

การเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะมีปริมาณเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มลดลง ซึ่งเกิดจากการไฮโดรไลซีสของเซลลูโลสบางส่วน แสดงให้เห็นว่า สารเคมีสามารถที่จะเข้าถึงตัวเซลลูโลส ซึ่งเป็นผลมาจากเส้นใยปาล์มเกิดช่องว่าง หรือรูพรุน ถ้าในการเตรียมทำให้เซลลูโลสในเส้นใยปาล์มเกิดการไฮโดรไลซีสได้มาก แสดงว่าสารเคมีสามารถเข้าถึงเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มได้มาก ซึ่งน่าจะทำให้เส้นใยปาล์มมีความเป็นรูพรุนเพิ่มขึ้นมากด้วย และความเป็นรูพรุนนี้จะส่งผลให้การไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เกิดขึ้นได้ดี เพราะเอนไซม์เข้าถึงเซลลูโลสในเส้นใยปาล์มได้มาก Umikalsom และคณะ(1998) รายงานว่าในการเตรียมทลายปาล์มเปล่าด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดไนตริก และกรดไฮโดรคลอริก จะทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสที่ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อนำมาไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส การเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะให้ปริมาณการไฮโดร-ไลซีสสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่า การเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ นอกจากจะกำจัดลิกนินได้แล้วยังทำให้โครงสร้างของทะลายปาล์มเปล่ามีความเหมาะสมในการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลู-

เลส และจากการไฮโดรไลซีส cotton stalks ที่เตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ และกรดซัลฟิวริก ผลปรากฏว่าการไฮโดรไลซีส cotton stalks ที่เตรียมด้วยโซเดียมไฮ-ดรอกไซด์จะให้การเปลี่ยนแปลงของเซลลูโลสเป็นกลูโคส และไซเลนเป็นไซโลสมากที่สุด (Silverstein และคณะ, 2006)

จากเหตุผลข้างต้นที่กล่าวมานั้นสามารถสรุปได้ว่าการเตรียมเส้นใยปาล์มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะมีความเหมาะสมมากกว่า การเตรียมด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

ในส่วนของการเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆนั้น การเตรียมด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที (10%(w/v) NaOH/Boiling 15 min) เป็นการเตรียมที่เหมาะสมในการทดลองครั้งนี้

เมื่อเปรียบเทียบการเตรียมวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสในงานวิจัยนี้กับงานวิจัยอื่นๆ อย่างเช่น ในการเตรียมฟางข้าวตามวิธีของ Zhu และคณะ (2005a, 2005b, 2006) ในตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่าปริมาณเซลลูโลสในการเตรียมด้วยวิธีของ Zhu และคณะ จะมีปริมาณมากกว่า อาจจะเป็นเพราะในฟางข้าว และฟางข้าวโพดมีปริมาณเซลลูโลสเริ่มเริ่มต้นสูงอยู่แล้ว และในการใช้พลังงานซึ่งปริมาณมาก และใช้ระยะเวลานานกว่าด้วย

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จากวัตถุดิบที่เตรียมด้วยวิธีต่างในการวิจัยนี้ กับงานวิจัยอื่นๆ

Table 5 Cellulose hemicellulose and lignin contents before pretreated and after pretreated in lignocellulose material.

วัตถุดิบ	องค์ประกอบทางเคมีก่อนเตรียม (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง)			วิธีการเตรียม	องค์ประกอบทางเคมีหลังเตรียม (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง)			อ้างอิง
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน		เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	
เส้นใยปาล์ม	29.82 ± 0.57	*	17.79 ± 0.47	10%(w/v) NaOH /Boiling 15 min	54.13 ± 0.87	*	20.48 ± 0.66	งานวิจัยนี้
ฟางข้าว	38.6 ± 0.4	19.7 ± 0.5	13.6 ± 0.6	1%(w/v) NaOH/Boiling 70 min	65.4 ± 0.7	14.3 ± 0.6	6.0 ± 0.8	Zhu และคณะ, 2005a.
ฟางข้าว	38.6 ± 0.4	19.7 ± 0.5	13.6 ± 0.6	1%(w/v) NaOH/Microwave 700W 30 min	69.2 ± 0.3	10.2 ± 0.8	4.9 ± 0.3	
ฟางข้าวสาลี	41.2 ± 0.5	25.8 ± 0.8	21.3 ± 0.4	1%(w/v) NaOH/Boiling 60 min	73.5 ± 0.7	11.2 ± 0.5	-	Zhu และคณะ, 2006.
ฟางข้าวสาลี	41.2 ± 0.5	25.8 ± 0.8	21.3 ± 0.4	1%(w/v) NaOH/Microwave 700W 25 min	79.6 ± 0.6	7.8 ± 0.5	-	
ฟางข้าว	38.6 ± 0.4	19.7 ± 0.5	13.6 ± 0.6	1%(w/v) NaOH/Microwave 300W 60 min	69.3 ± 1.3	10.3 ± 0.8	5.0 ± 0.4	Zhu และคณะ, 2006.
ฟางข้าว	38.6 ± 0.4	19.7 ± 0.5	13.6 ± 0.6	2%(w/v) H_2SO_4/Microwave 300W 30 min	54.2 ± 0.6	9.4 ± 0.5	17.8 ± 0.7	
ฟางข้าว	38.6 ± 0.4	19.7 ± 0.5	13.6 ± 0.6	2%(w/v) H_2SO_4/Microwave 300W 30 นาที ต่อด้วย 1%NaOH/Microwave 300W 30 นาที	76.3 ± 0.8	3.2 ± 0.3	5.3 ± 0.3	Zhu และคณะ, 2006.
ฟางข้าว	38.6 ± 0.4	19.7 ± 0.5	13.6 ± 0.6	2%(w/v) H_2SO_4/Microwave 300W 30 นาที ต่อด้วย 1%NaOH/Microwave 300W 30 นาที ต่อด้วยการเติม H_2O_2 0.3% ใน NaOH ไว้ในที่มืด 12 hr	80.6 ± 0.4	3.2 ± 0.2	3.8 ± 0.2	Zhu และคณะ, 2006.
เหง้ามันสำปะหลัง	81.14	11.41	6.45	แช่ 24 hr ใน 2 M NaOH แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 50 ^{0}C เป็นระยะเวลา 90 นาที	96.46	1.85	1.69	พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์, 2545

* ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

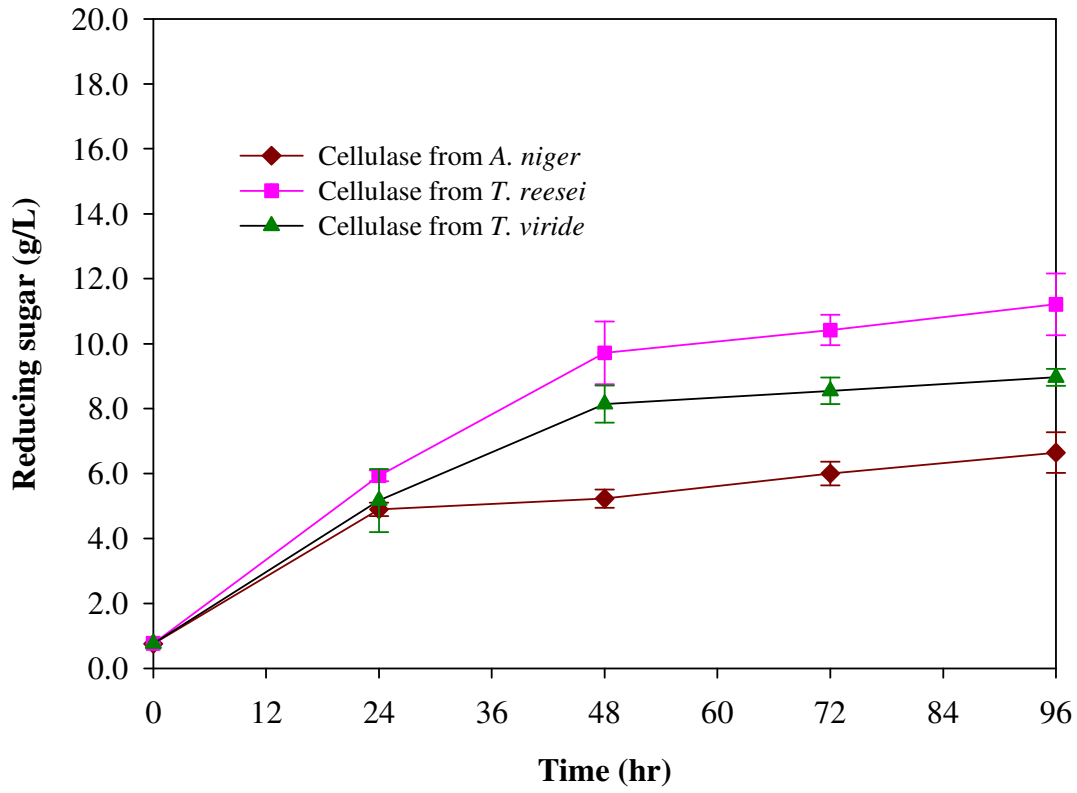
3 ผลการศึกษาการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์ม ที่ผ่านการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 15 นาที ที่สารละลายเดือด (10% (w/v) NaOH/boiling 15 min)

3.1 ผลการศึกษาการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากทางการค้าชนิดต่างๆ

จากการศึกษาการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มที่ผ่านการเตรียมด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที แล้วบดให้มีขนาด 24 เมช ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า 3 ชนิดคือ เซลลูเลสจากเชื้อ *Aspergillus niger* เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* และเซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma viride* ปริมาณ 10 FPU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ที่มีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที จะทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์มีการเปลี่ยนแปลงตามภาพที่ 30 และ 31 ตามลำดับ ซึ่งจากภาพเห็นได้ว่า ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะเพิ่มขึ้น และหลังจาก 24 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *A. niger* จะเริ่มคงที่ ส่วนเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* และจากเชื้อ *T. viride* จะเริ่มคงที่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยเส้นใยปาล์มด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มากที่สุด (11.21 $\pm$ 0.95 กรัมต่อลิตร) ตามด้วยการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. viride* (8.96 $\pm$ 0.25 กรัมต่อลิตร) และ *A. niger* (6.65 $\pm$ 0.62 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับ สำหรับเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ (ภาพที่ 31) มีการเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาล-รีดิวส์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ปริมาณมากที่สุด (24.22 $\pm$ 2.07%) ตามด้วยเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. viride* (19.25 $\pm$ 0.76%) และเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *A. niger* (14.10 $\pm$ 1.05%)

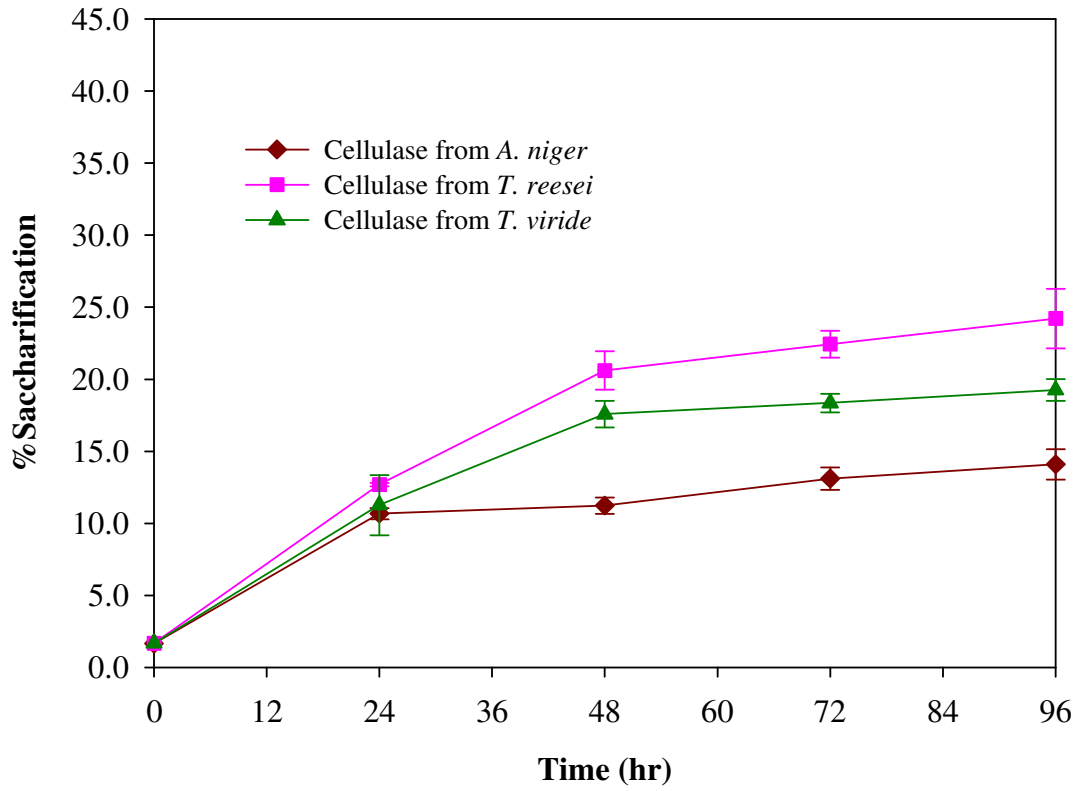
จากปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ข้างต้นนั้น จะเห็นได้ว่า เอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า จากเชื้อแต่ละชนิดมีความสามารถในการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มได้แตกต่างกัน ทั้งนี้เพราะเอนไซม์จากเชื้อแต่ละชนิดมีสภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกัน เซลลูเลสจากเชื้อ *A. niger* มีสภาวะที่เหมาะสมคือพีเอช 4.0 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Hurst และคณะ, 1977) เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* มีสภาวะที่เหมาะสมคือพีเอช 4.8 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Zhu และคณะ, 2005a) และเซลลูเลสจากเชื้อ *T. viride* มีสภาวะที่เหมาะสมคือพีเอช 4.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (Herr, 1980) ทำให้การไฮโดรไลซีสที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศา

เซลเซียส แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ต้องการหาสภาวะที่ทั้งเอนไซม์ และยีสต์สามารถทำงานร่วมกันได้ดีในระบบ SSF จึงได้ทำการทดลองในสภาวะพีเอชเท่ากับ 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะเห็นได้ว่าเซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* มีสภาวะที่เหมาะสมใกล้เคียงกับ สภาวะที่ใช้ในการทดลองมากที่สุด จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ ชุดการทดลองที่ใช้เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวส์ได้สูงที่สุด และจากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสในเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้าทั้ง 3 ชนิดนั้น พบว่า ปริมาณเบต้า-กลูโคซิเดสในเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *A. niger* มีปริมาณมากที่สุด แต่เมื่อนำมาไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มจะให้ปริมาณน้ำตาล รีดิวส์น้อย และน้อยกว่าการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* แสดงให้เห็นว่า การไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มให้ได้น้ำตาลรีดิวส์จะเกิดขึ้นได้มากหรือน้อยไม่ได้มีผลจากปริมาณเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส เพียงอย่างเดียว แต่อาจจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของเซลลูเลสในส่วนของ Endoglucanase และ Exoglucanase (Cellobiohydrolase) ซึ่งแต่ละชนิดมีความสามารถในการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มได้แตกต่างกัน จากการรายงานของ Valjamae และคณะ(2001) ในการศึกษาการไฮโดรไลซีสของเซลลูโลสโดยใช้เอนไซม์ Cellobiohydrolase I (CBH I) ปริมาณ 1 μM ผสมกับเอนไซม์ Endoglucanase (EG) ปริมาณ 0.1 μM หลายชนิด (EG I, EG II, EG II core protein และ EG II จากเชื้อ *Trichoderma reesei* และ EG 38 จากเชื้อ *Phanerochaete chrysosporium*) พบว่า เอนไซม์ผสมระหว่าง CBH I กับเอนไซม์ EG ชนิดต่างๆมีความสามารถในการไฮโดรไลซีสได้แตกต่างกัน โดยเอนไซม์ผสมระหว่าง CBH I กับ EG II และ เอนไซม์ผสมระหว่า CBH I กับ EG 38 มีปริมาณการไฮโดรไลซีสได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มากที่สุด ส่วนการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์ CBH I และ EG เดี่ยวๆจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยมาก และอีกส่วนหนึ่ง อาจจะขึ้นอยู่กับโครงสร้าง หรือหมู่ฟังก์ชันของเอนไซม์เซลลูเลส ที่สามารถที่จะเข้าจับกับเส้นใยปาล์ม หรือสามารถที่จะดูดซับได้ดีเพียงใด ทั้งนี้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* มีโครงสร้างที่เหมาะสมต่อการเข้าจับกับเส้นใยปาล์มมากกว่าเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *A. niger* จึงทำให้การไฮโดรไลซีสเกิดขึ้นได้มากกว่า จากการรายงานของ Juhasz และคณะ (2005) ได้ศึกษาการไฮโดรไลซีส Solka floc, Spruce, Willow และ Corn stover ด้วยเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อ *T. reesei* RUT C30 โดยใช้ Solka floc, Spruce, Willow และ Corn stover เป็นแหล่งคาร์บอนและเอนไซม์ทางการค้า 2 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า การใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็น Corn stover จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มากที่สุด (โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส) โดยที่กิจกรรมของเอนไซม์ (β-Glucosodase, CBH I และ EG) ไม่สูงไปกว่าแหล่งคาร์บอนอื่นๆ แต่ให้ผลการไฮโดรไลซีสในปริมาณสูง ในเกือบทุกๆสารตั้งต้นทั้ง Solka floc, Spruce, Willow และ Corn stover ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากโครงสร้างของเซลลูเลสที่เหมาะสมนั่นเอง



ภาพที่ 30 ปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มที่เตรียมแล้ว ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาณ 10 FPU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 4.8 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที

Figure 30 Reducing sugar from pretreated palm pressed fiber hydrolysis by cellulase 10 FPU/g substrate in citrate buffer pH 4.8, 35^{0}C on orbital shaker 160 rpm.



ภาพที่ 31 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ ที่ได้จากการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มที่เตรียมแล้ว ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาณ 10 FPU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.8 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที

Figure 31 %Saccharification from pretreated palm pressed fiber hydrolysis by cellulase 10 FPU/g substrate in citrate buffer pH 4.8, 35^{0}C on orbital shaker 160 rpm.

แต่อย่างไรก็ตามจากการไฮโดรซีสด้วย *T. reesei* จะเริ่มคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เริ่มลดลง ในส่วนหนึ่งอาจจะเป็นสาเหตุมาจาก เกิดการสะสมของปริมาณน้ำตาลเซลลูไบโอสในระบบ ซึ่งน้ำตาลเซลลูไบโอสจะเป็นตัวยับยั้งของเอนไซม์ Endoglucanase และ Exoglucanase ทำให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการทำงานต่ำลง ดังนั้น การเพิ่มปริมาณเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส ลงไปน่าจะเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ได้ จากการรายงานของ Chen และคณะ (2006) ในการไฮโดรไลซีส corncob ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากเชื้อ *T. reesei* ZU-02 เพียงอย่างเดียว จะทำให้เกิดการสะสมของน้ำตาลเซลลูไบโอส เพราะว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากเชื้อ *T .reesei* ZU-02 มีเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสในปริมาณน้อย ส่งผลให้เซลลูไบโอสยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ β-1,4-endoglucanase และเอนไซม์ β-1,4-exoglucanase ทำให้การไฮโดรไลซีสเกิดขึ้นได้

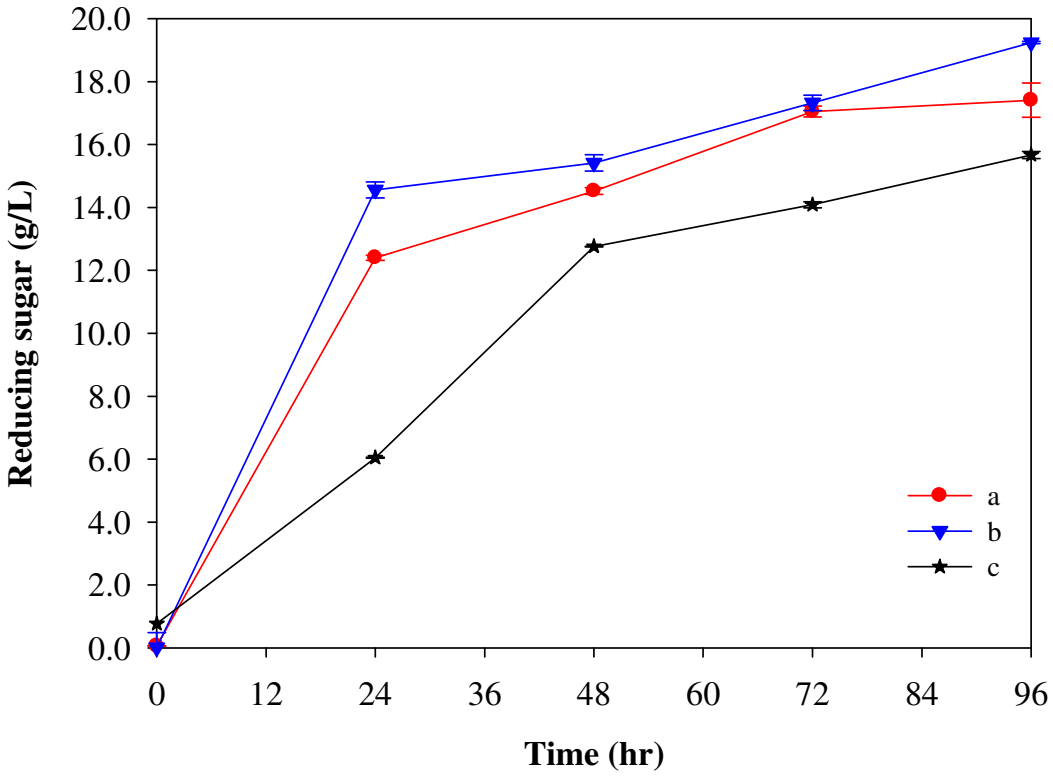
ต่ำ และจากการทดสอบเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า 3 ชนิดคือ Papidase Pomaliq (Gist-Brocades), Celluclast 1.5L (Novo) และ Clarex ML (Genencor) ในการไฮโดรไลซีส corncob ผลปรากฏว่า เอนไซม์เซลลูเลสชนิด Papidase Pomaliq (Gist-Brocades) จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มากที่สุด รองลงมาคือ Celluclast 1.5L (Novo) และ Clarex ML (Genencor) ตามลำดับ เพราะว่าเอนไซม์ชนิด Papidase Pomaliq(Gist-Brocades) มีปริมาณเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสอยู่มากกว่า (Hang และ Wood, 2001)

จากการเปรียบเทียบปริมาณการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อทั้ง 3 ชนิด พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มากที่สุด จึงคัดเลือกให้เป็นเอนไซม์ที่จะใช้ในการทดลองถัดไป โดยจะใช่ร่วมกับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส ในการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์

3.2 ผลการศึกษาการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ร่วมกับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส

จากการศึกษาการไฮโดรไลซีสของเส้นใยปาล์มที่เตรียมด้วยสารละลายโซเดียมไฮ-ดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาสารละลายเดือด 15 นาที แล้วบดให้มีขนาด 24 เมช ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ปริมาณ 10 FPU/g substrate ผสมกับเอนไซม์ เบต้า-กลูโคซิเดสปริมาณ 10 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที จะทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ และเปอร์เซ็นต์การไฮโดรไลซีสของเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์เปลี่ยนแปลงดังภาพที่ 32 และภาพที่ 33 ตามลำดับ จากภาพจะเห็นได้ว่า เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ผสมกับ เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* มีการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ปริมาณ 20 FPU/g substrate เพียงอย่างเดียว เพราะเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส จะเปลี่ยนน้ำตาลเซลลูไบโอส เป็นกลูโคส ในระบบจึงเหลือปริมาณเซลลูไบโอสที่เป็นตัวยับยั้งน้อย การไฮโดรไลซีสจึงเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการรายงานของ Chen และคณะ (2006) เมื่อเติมเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* ลงไปเพิ่มในเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อไฮโดรไลซีส corncob ทำให้การไฮโดรไลซีสเพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ผสมกับ เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส จาก Almonds ให้ปริมาณน้ำตาลน้ำตาลรีดิวส์ต่ำกว่า การไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเพียงชนิดเดียว ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ Almonds มีโครงสร้างที่ไม่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนเซลลูไบโอส

ทำให้เกิดการเปลี่ยนเซลลูไบโอสเป็นกลูโคสได้ช้า และช้ากว่าการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ผสมกับเบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* และเซลลูเลสเพียงอย่างเดียว



หมายเหตุ a : Double cellulase from *T. reesei*

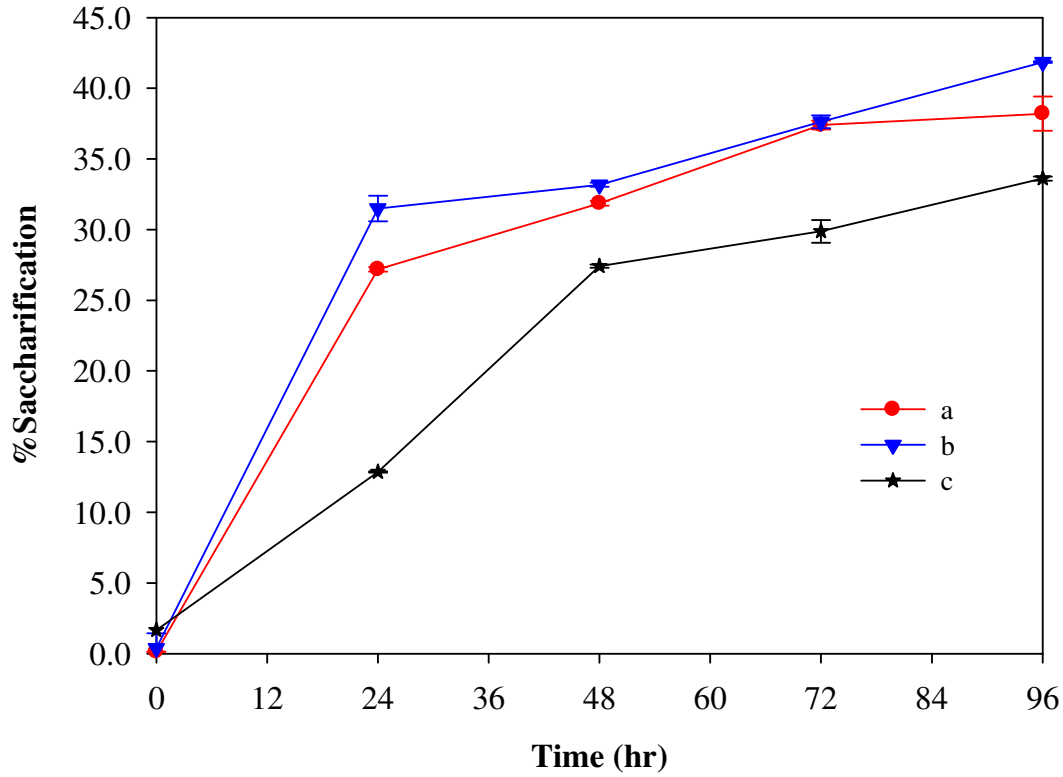
b : Cellulase from *T. reesei* + β-Glucosidase from *A. niger*

c : Cellulase from *T. reesei* + β-Glucosidase from Almonds

d : Cellulase from *T. reesei* + β-Glucosidase from *A. niger* (PPF unpretreate)

ภาพที่ 32 ปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มที่เตรียมแล้ว ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสปริมาณ 10 FPU/g substrate ผสมกับ เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส 10 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.8 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เปรียบเทียบกับเอนไซม์เซลลูเลส 20 FPU/g substrate

Figure 32 Reducing sugar from pretreated palm pressed fiber hydrolysis by cellulase 10 FPU/g substrate mix β-glucosidase 10 IU/g substrate in citrate buffer pH 4.8, 35^{0}C on orbital shaker 160 rpm compared with cellulase 20 FPU/g substrate.



หมายเหตุ a : Double cellulase from *T. reesei*

b : Cellulase from *T. reesei* + β-Glucosidase from *A. niger*

c : Cellulase from *T. reesei* + β-Glucosidase from Almonds

d : Cellulase from *T. reesei* + β-Glucosidase from *A. niger* (PPF unpretreate)

ภาพที่ 33 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์ ที่ได้จากการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มที่เตรียมแล้ว ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาณ 10 FPU/g substrate ผสมกับ เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส 10 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 4.8 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เปรียบเทียบกับเอนไซม์เซลลูเลส 20 FPU/g substrate

Figure 33 %Saccharification from pretreated palm pressed fiber hydrolysis by cellulase 10 FPU/g substrate mix β-glucosidase 10 IU/g substrate in citrate buffer pH 4.8, 35^{0}C on orbital shaker 160 rpm compared with cellulase 20 FPU/g substrate.

จากการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเส้นใยปาล์มเป็นน้ำตาลรีดิวส์นั้น จะเห็นได้ว่า การไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* ผสมกับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ดังนั้น จึงคัดเลือกให้เอนไซม์

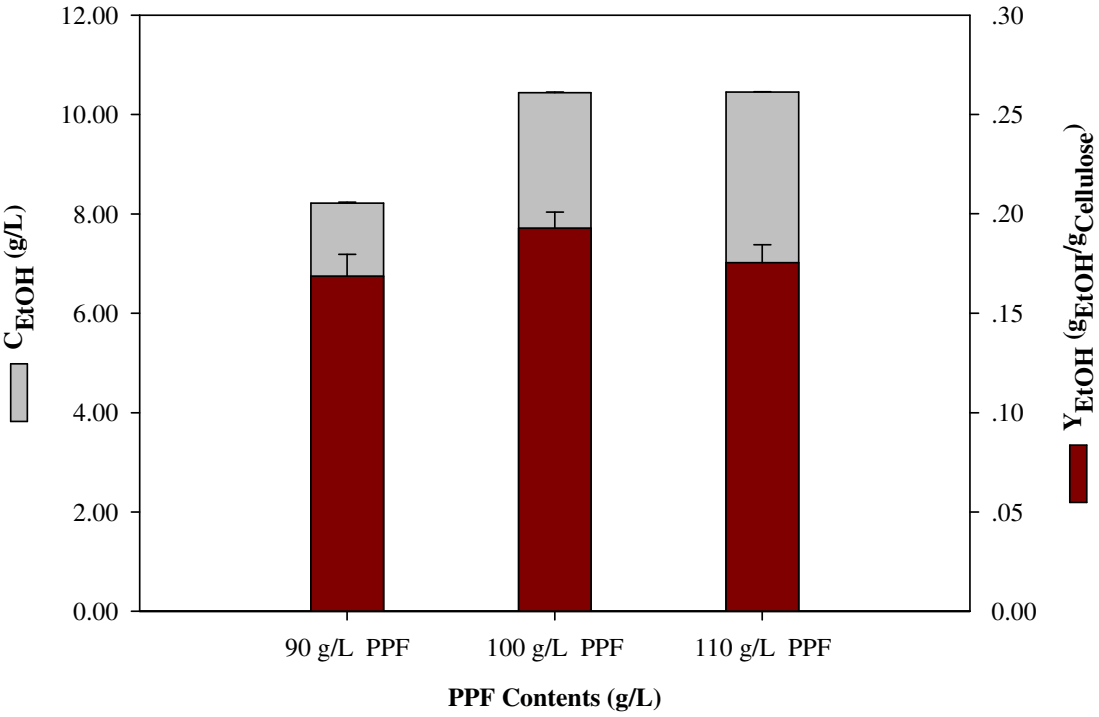
เซลลูเลสจาก *T. reesei* ผสมกับ เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* เป็นเอนไซม์ที่จะใช้ในการทดลองต่อไป

4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มด้วยวิธี SSF ในระบบแบบกะ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5596

4.1 ผลของปริมาณเส้นใยปาล์มที่เหมาะสม

ปริมาณสารตั้งต้นที่เหมาะสมจะต้องให้ปริมาณเอทานอล และผลผลิตสูง แต่การใช้เส้นใยปาล์มเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลนั้น ถ้าใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มสูง จะมีผลต่อความหนืดของระบบ ซึ่งถ้าใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มสูงเกินไปจะทำให้ระบบมีความหนืดสูง การผสมกันเกิดขึ้นได้ยาก ส่งผลให้การสัมผัสระหว่างเส้นใยปาล์มกับเอนไซม์เกิดขึ้นได้น้อย การไฮโดรไลซีสเกิดขึ้นได้น้อยตามไปด้วย ดังนั้นปริมาณเส้นใยปาล์มที่เหมาะสมจะต้องใช้ปริมาณเส้นใยที่มีผลต่อความหนืดของระบบเป็นปัจจัยในการพิจารณา จากการทดลองหาปริมาณเส้นใยปาล์มที่เหมาะสมในช่วง 90 ถึง 110 กรัมต่อลิตร เพื่อผลิตเอทานอลด้วยระบบ SSF โดยมีการเติม Yeast extract 1.0 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 0.03 กรัมต่อลิตร $(NH_4)_2HPO_4$ 0.5 กรัมต่อลิตร และ Tween-20 2.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอาหาร และเติมปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 8 FPU/g substrate และเบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 8 IU/g substarte จะเห็นได้ว่าในการทดลองนี้ใช้ปริมาณเอนไซม์ลดลงจาก 10 FPU/g substrate เป็น 8 FPU/g substrate เพราะในระบบ SSF การยับยั้งที่เกิดจากน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการไฮโดรไลซีสลดลง ทำให้การไฮโดรไลซีสเพิ่มขึ้น ดังนั้นสามารถลดปริมาณเอนไซม์ลงได้ ในการทดลองนี้จะควบคุมพีเอชให้เท่ากับ 5.0 ด้วยซิเตรตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลลาร์ ไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนทำการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณการผลิตเอทานอลตามภาพที่ 34 จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มแตกต่างกัน จะมีการผลิตเอทานอลแตกต่างกัน ที่ปริมาณเส้นใยปาล์ม 90 กรัมต่อลิตร(ปริมาณเอทานอล 8.22 กรัมต่อลิตร) จะให้ปริมาณเอทานอลน้อยกว่าที่ 100 กรัมต่อลิตร (ปริมาณเอทานอล 10.44 กรัมต่อลิตร) เพราะที่ปริมาณเส้นใยปาล์ม 90 กรัมต่อลิตร มีปริมาณสารตั้งต้นสำหรับผลิตเอทานอลที่น้อยกว่าชุดการทดลองอื่น แต่ที่ปริมาณเส้นใยปาล์ม 110 กรัมต่อลิตร (ปริมาณเอทานอล 10.56 กรัมต่อลิตร) จะให้ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับ 100 กรัมต่อลิตร (ปริมาณเอทานอล 10.44 กรัมต่อลิตร) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากที่ปริมาณเส้นใยปาล์ม 110 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเส้นใยปาล์มสูงเกินไป ทำให้ระบบมีความหนืดสูง เกิดการผสมที่ไม่ดี และการไฮโดรไลซีสเกิดขึ้นได้ยาก ถึงแม้จะมีปริมาณสารตั้งต้นที่สูงกว่า แต่เกิดการผลิตเอทานอลที่น้อยกว่า เมื่อใช้เส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อ

ลิตร และปริมาณผลผลิตที่ได้จากการใช้เส้นใยปาล์ม 110 กรัมต่อลิตร กับการใช้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน ดังนั้นจึงเลือกให้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร เป็นปริมาณเส้นใยปาล์มที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยระบบ SSF และเป็นปริมาณเส้นใยปาล์มที่จะใช้ในการทดลองถัดไป เพราะใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มน้อย แต่ให้ผลผลิตมากกว่าการใช้เส้นใยปาล์ม 110 กรัมต่อลิตร จะเป็นการลดต้นทุนที่มาจากเส้นใยปาล์ม

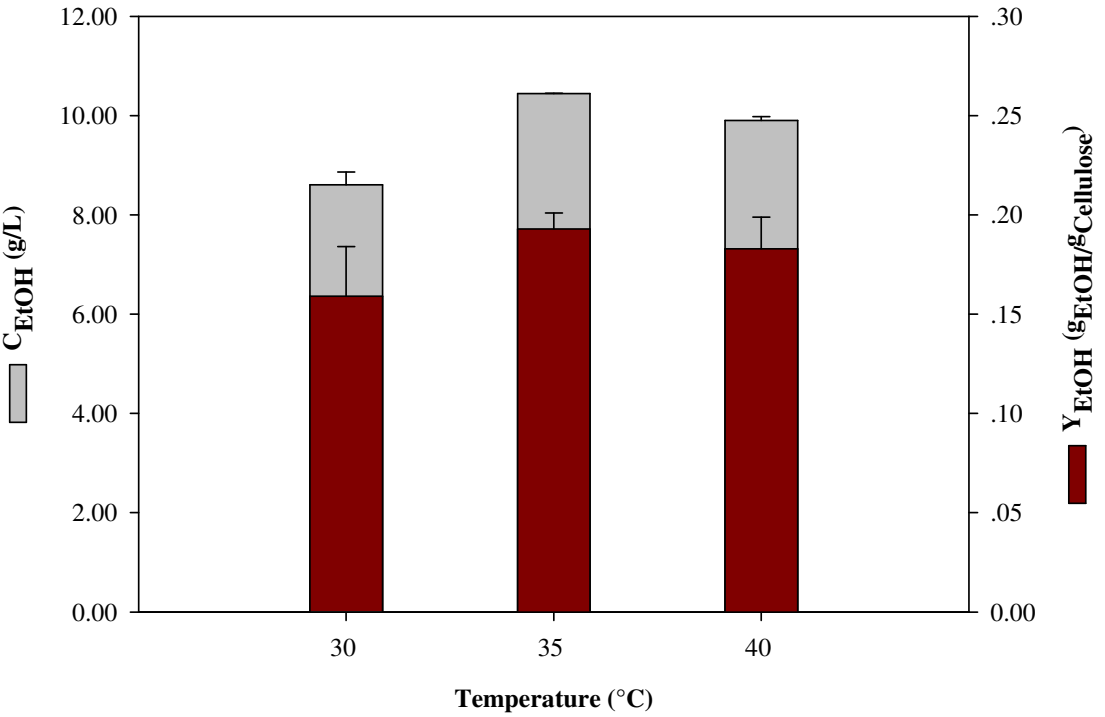


ภาพที่ 34 ปริมาณเอทานอล (C_{EtOH}) และผลผลิต (Y_{EtOH}) ที่ได้จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 90, 100 และ 110 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก *T. reesei* 8 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 8 IU/g substrate ในสารละลาย ซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Figure 34 Ethanol concentrations (C_{EtOH}) and yield (Y_{EtOH}) after ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 90, 100 and 110 g/L. Cellulase from *T. reesei 8* FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 8 IU/g substrate in citrate buffer pH 5.0, 35^0C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr. After hydrolysis at 35^0C for 6 hr.

4.2 ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสม

อุณหภูมิที่เหมาะสมจะต้องให้ปริมาณเอทานอล และผลผลิตสูง และในระบบ SSF อุณหภูมิจะเป็นปัจจัยที่สำคัญ เพราะในระบบ SSF จะมีการรวมการไฮโดรไลซีส กับการหมักไว้ด้วยกัน ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซีสจะสูงประมาณ 50 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักประมาณ 30 องศาเซลเซียส ดังนั้นในระบบ SSF จะต้องหาอุณหภูมิที่ทำให้การไฮโดรไลซีส และการหมัก สามารถเกิดขึ้น และผลิตเอทานอลได้ดี จากการทดลองหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วง 30 ถึง 40 องศาเซลเซียส เพื่อผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร และมีการเติม Yeast extract 1.0 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 0.03 กรัมต่อลิตร $(NH_4)_2HPO_4$ 0.5 กรัมต่อลิตร และ Tween-20 2.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอาหาร และเติมปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 8 FPU/g substrate และเบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 8 IU/g substrate ควบคุมพีเอชให้เท่ากับ 5.0 ด้วยซิเตรตบับเฟอร์ 0.05 โมลลาร์ ไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนทำการหมักที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณการผลิตเอทานอล และผลผลิต ตามภาพที่ 35 จะเห็นได้ว่า การหมักที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันจะให้ปริมาณเอทานอลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ปริมาณเอทานอล 8.61 กรัมต่อลิตร) จะให้ปริมาณเอทานอลต่ำ เพราะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์เกิดขึ้นได้น้อย ส่งผลให้การผลิตเอทานอลต่ำด้วย ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ปริมาณเอทานอล 9.90 กรัมต่อลิตร) จะให้ปริมาณเอทานอลต่ำกว่าที่ 35 องศาเซลเซียส (ปริมาณเอทานอล 10.44 กรัมต่อลิตร) เพราะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เชื้อยีสต์เจริญได้ไม่ดี ทำให้การผลิตเอทานอลลดลง ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบ SSF ที่จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอล และผลผลิตสูงสุด และเป็นอุณหภูมิที่จะใช้ในการทดลองถัดไป



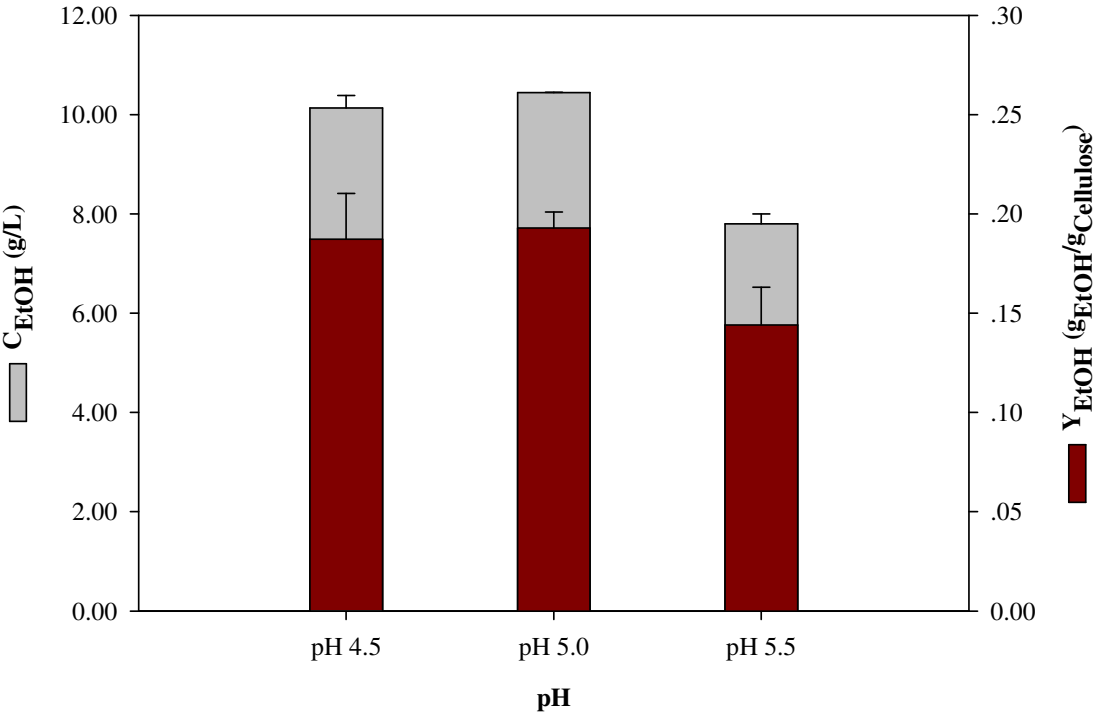
ภาพที่ 35 ปริมาณเอทานอล (C_{EtOH}) และผลผลิต (Y_{EtOH}) ที่ได้จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก *T. reesei* 8 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 8 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Figure 35 Ethanol concentrations (C_{EtOH}) and yield (Y_{EtOH}) after ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Cellulase from *T. reesei 8* FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 8 IU/g substrate in citrate buffer pH 5.0, 30, 35 and 40^{0}C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr. After hydrolysis at 35^{0}C for 6 hr.

4.3 ผลของพีเอชที่เหมาะสม

จากการทดลองหาพีเอชที่เหมาะสมในช่วง 4.5 ถึง 5.5 เพื่อผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร และมีการเติม Yeast extract 1.0 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 0.03 กรัมต่อลิตร $(NH_4)_2HPO_4$ 0.5 กรัมต่อลิตร และ Tween-20 2.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอาหาร และเติมปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 8 FPU/g substrate และเบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 8 IU/g substrate ควบคุมพีเอชให้เท่ากับ 4.5, 5.0 และ 5.5 ด้วย

ซิเตรตบับเฟอร์ 0.05 โมลลาร์ ไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนทำการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณการผลิตเอทานอล และผลผลิต ตามภาพที่ 36



ภาพที่ 36 ปริมาณเอทานอล (C_{EtOH}) และผลผลิต (Y_{EtOH}) ที่ได้จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก *T. reesei* 8 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 8 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 4.5, 5.0 และ 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Figure 36 Ethanol concentrations (C_{EtOH}) and yield (Y_{EtOH}) after ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Cellulase from *T. reesei 8* FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 8 IU/g substrate in citrate buffer pH 4.5, 5.0 and 5.5, 35^0C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr. After hydrolysis at 35^0C for 6 hr.

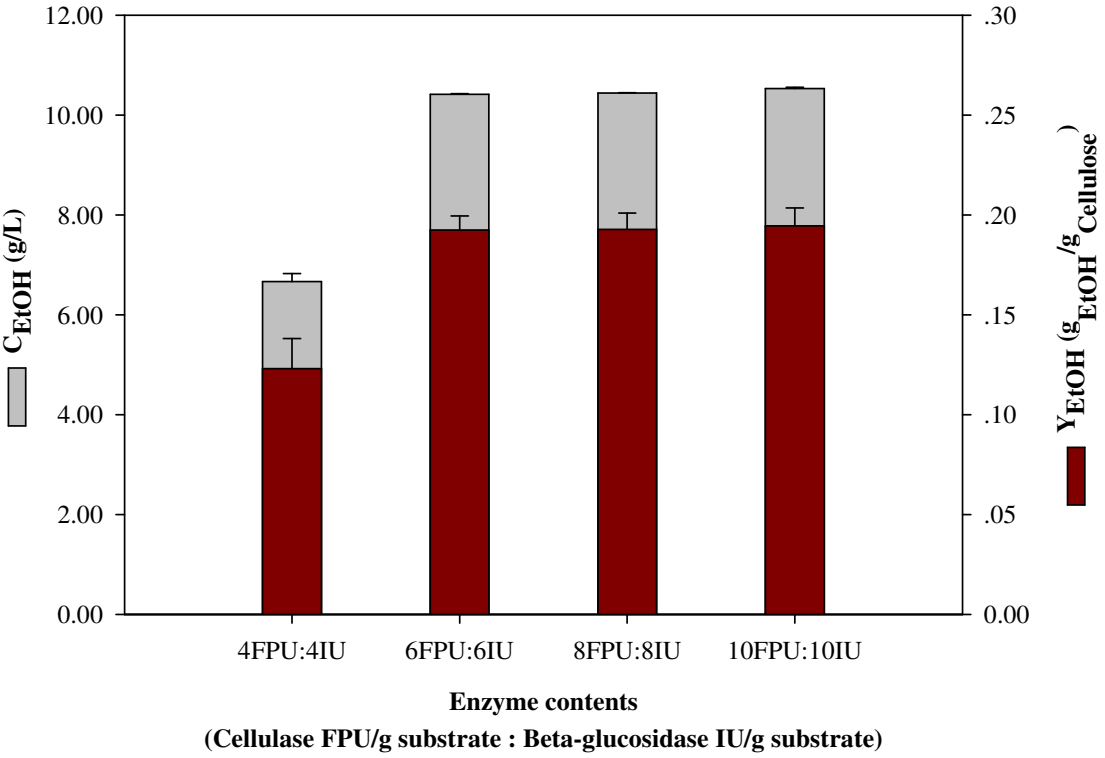
จะเห็นได้ว่า การเปลี่ยนแปลงของพีเอช จะทำให้การผลิตเอทานอลเปลี่ยนแปลงด้วยเช่นกัน จากการทดลองพีเอช 5.0 จะให้ปริมาณการผลิตเอทานอลสูงสุด (10.44 กรัมต่อลิตร) รองลงมาเป็นพีเอช 4.5 (10.14 กรัมต่อลิตร) และพีเอช 5.5 (7.80 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับ สำหรับ

ผลผลิตที่ได้ จากการผลิตเอทานอลโดยใช้พีเอช 5.0 จะมีปริมาณมากที่สุด (0.19 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) รองลงมาเป็น พีเอช 4.5 (0.19 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) และ 5.5 (0.14 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่าที่พีเอช 4.5 การผลิตเอทานอลจะใกล้เคียงกับ พีเอช 5.0 แต่ที่พีเอช 5.5 การผลิตเอทานอลจะลดลง อาจจะเป็นเพราะพีเอชที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซีสของเอนไซม์เซลลูเลสจะอยู่ในช่วง 4.5-5.0 (Castellanos และคณะ, 1995) ส่วนที่พีเอช 5.5 อาจเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซีส ทำให้ได้น้ำตาลเกิดขึ้นน้อย ส่งผลให้การผลิตเอทานอลเกิดขึ้นได้น้อย ดังนั้นจากการทดลองสรุปได้ว่า พีเอช 5.0 จะเป็นพีเอชที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบ SSF ที่จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอล และผลผลิตสูงสุด และเป็นพีเอชที่จะใช้ในการทดลองถัดไป

4.4 ผลของปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม

จากการทดลองหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในช่วง 4 FPU/g substrate :4 IU/g substrate ถึง 10 FPU/g substrate :10 IU/g substrate เพื่อผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร และมีการเติม Yeast extract 1.0 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 0.03 กรัมต่อลิตร $(NH_4)_2HPO_4$ 0.5 กรัมต่อลิตร และ Tween-20 2.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอาหาร และเติมปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 4-10 FPU/g substrate และเบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 4-10 IU/g substrate ควบคุมพีเอชให้เท่ากับ 5.0 ด้วยซิเตรตบับเฟอร์ 0.05 โมลลาร์ ไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนทำการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณการผลิตเอทานอล และผลผลิตตามภาพที่ 37 จะเห็นได้ว่า เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ในช่วง 6-10 FPU/g substrate ผสมกับเบต้า-กลูโคซิเดส 6-10 IU/g substrate ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้มีค่าใกล้เคียงกันประมาณ 10.42-10.54 กรัมต่อลิตร (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์) และปริมาณผลผลิตใกล้เคียงกันด้วย ประมาณ 0.19-0.20 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส (ภาพที่ 37)จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้เอนไซม์เซลลูเลสมากกว่า 6 FPU/g substrate ผสมกับเบต้า-กลูโคซิเดสมากกว่า 6 IU/g substrate จะให้ปริมาณเอทานอลที่ไม่แตกต่างกัน บ่งบอกได้ว่าปริมาณเอนไซม์ที่ใช้มากเกินพอในการไฮโดรไลซีสเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาล ส่วนปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 4 FPU/g substrate ผสมกับเบต้า-กลูโคซิเดส 4 FPU/g substrate จะเป็นปริมาณเอนไซม์ที่น้อยเกินไปในการไฮโดรไลซีสเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาล ดังนั้นจากการทดลองสรุปได้ว่า ปริมาณเอนไซม์ เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 6 FPU/g substrate ผสมกับ เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 6 IU/g substrate เป็นปริมาณเอนไซม์

ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบ SSF ที่จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอล และผลผลิตสูง และเป็นปริมาณเอนไซม์ที่จะใช้ในการทดลองถัดไป

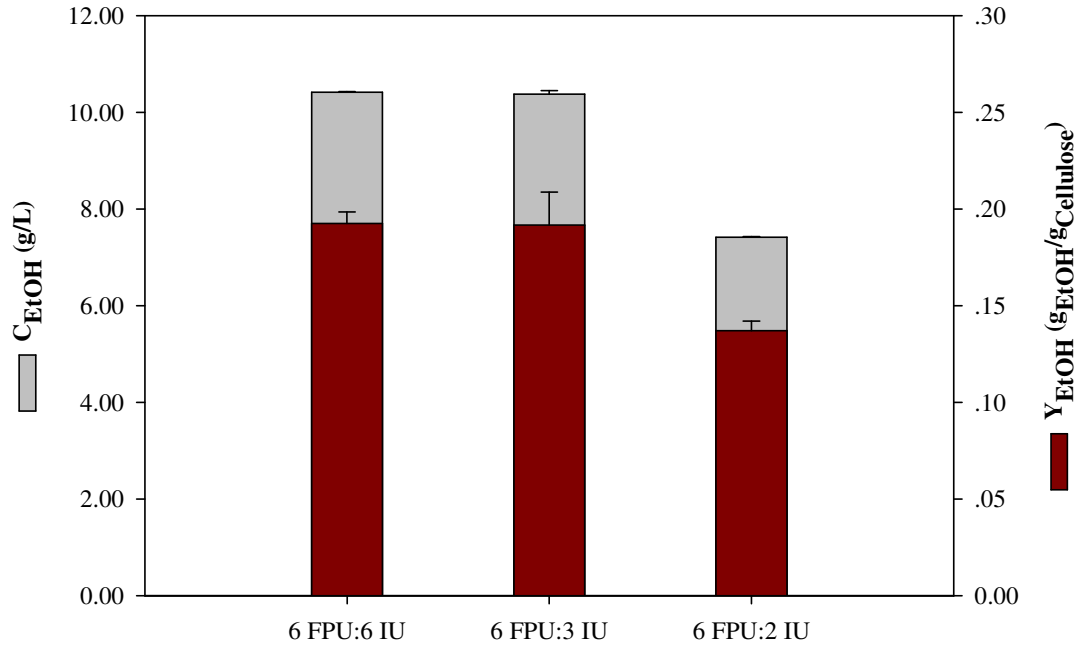


ภาพที่ 37 ปริมาณเอทานอล (C_{EtOH}) และผลผลิต (Y_{EtOH}) ที่ได้จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก *T. reesei* 4-10 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 4-10 IU/g substrate ในสารละลาย ซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Figure 37 Ethanol concentrations (C_{EtOH}) and yield (Y_{EtOH}) after ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Cellulase from *T. reesei* 4-10 FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 4-10 IU/g substrate in citrate buffer pH 5.0, 35^0C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr. After hydrolysis at 35^0C for 6 hr.

4.5 ผลของปริมาณสัดส่วนเอนไซม์เซลลูเลสและเบต้า-กลูโคซิเดสที่เหมาะสม

จากการทดลองหาปริมาณสัดส่วนเอนไซม์ที่เหมาะสมในช่วง 6 FPU/g substrate :6 IU/g substrate ถึง 6 FPU/g substrate :2 IU/g substrate เพื่อผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร และมีการเติม Yeast extract 1.0 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 0.03 กรัมต่อลิตร $(NH_4)_2HPO_4$ 0.5 กรัมต่อลิตร และ Tween-20 2.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอาหาร และเติมปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 6 FPU/g substrate ผสมกับเบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 2-6 IU/g substrate ควบคุมพีเอชให้เท่ากับ 5.0 ด้วยซิเตรตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลลาร์ ไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนทำการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณการผลิตเอทานอล และผลผลิตตามภาพที่ 38 จะเห็นได้ว่าเมื่อลดปริมาณเอนไซม์จาก 6 FPU/g substrate : 6 IU/g substrate เป็น 6 FPU/g substrate : 2 IU/g substrate จะทำให้ปริมาณเอทานอลลดลงจาก 10.42 กรัมต่อลิตร (ผลผลิต 0.19 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) เป็น 7.42 กรัมต่อลิตร (ผลผลิต 0.14 กรัม เอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) แต่สำหรับปริมาณเอนไซม์ 6FPU/g substrate : 3 IU/g substrate ให้ปริมาณเอทานอล 10.38 กรัมต่อลิตร (ผลผลิต 0.19 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้ปริมาณเอนไซม์ 6 FPU/g substrate : 6 IU/g substrate (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์) จะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณสัดส่วนของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสลดลง ปริมาณเอทานอลจะลดลงเช่นกัน แต่จากการลดสัดส่วนจาก 6 FPU/g substrate : 6 IU/g substrate เป็น 6 FPU/g substrate : 3 IU/g substrate ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกัน แต่เราสามารถที่จะลดปริมาณเอนไซม์ลงได้ จะทำให้สามารถลดต้นทุนในการผลิตลง ดังนั้นจึงสรุปว่าปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 6 FPU/g substrate ผสมกับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส 3 IU/g substrate เป็นปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบ SSF และเป็นปริมาณเอนไซม์ที่จะใช้ในการทดลองถัดไป



ภาพที่ 38 ปริมาณเอทานอล (C_{EtOH}) และผลผลิต (Y_{EtOH}) ที่ได้จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก *T. reesei* 6 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 2-6 FPU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Figure 38 Ethanol concentrations (C_{EtOH}) and yield (Y_{EtOH}) after ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Cellulase from *T. reesei* 6 FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 2-6 IU/g substrate in citrate buffer pH 5.0, 35^0C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr. After hydrolysis at 35^0C for 6 hr.

จากการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสม ในการผลิตเอทานอลแบบ SSF สรุปได้ว่าปริมาณเส้นใยปาล์มที่เตรียมแล้ว 100 กรัมต่อลิตร พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.0 โดยใช้ซิเตรตบับเฟอร์ เป็นสารควบคุมพีเอช อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส และปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 6 FPU/g substrate ผสมกับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 3 IU/g substrate เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบ SSF ซึ่งภายใต้สภาวะนี้ สามารถผลิตเอทานอลได้ 10.38 กรัมต่อลิตร ในเวลา 24 ชั่วโมง ตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณเอทานอล และผลผลิตที่ได้จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

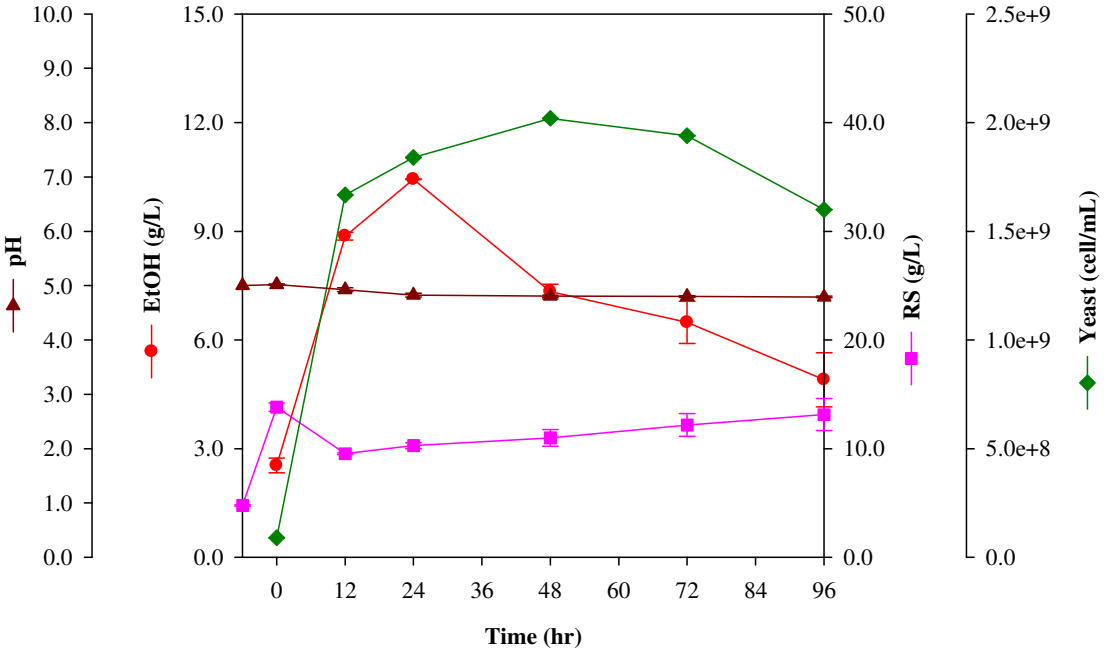
Table 6 Ethanol concentration and yield after SSF for 24 hr

เส้นใยปาล์ม (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (cellulase FPU/g substrate : β-glucosidase IU/g substrate)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($g_{EtOH}/g_{Cellulose}$)
90	5.0	35	8 : 8	8.22 ± 0.02	0.17 ± 0.01
100	5.0	35	8 : 8	10.44 ± 0.01	0.19 ± 0.01
110	5.0	35	8 : 8	10.56 ± 0.01	0.18 ± 0.01
100	4.5	35	8 : 8	8.61 ± 0.26	0.16 ± 0.03
100	5.0	35	8 : 8	10.44 ± 0.01	0.19 ± 0.01
100	5.5	35	8 : 8	9.90 ± 0.08	0.18 ± 0.02
100	5.0	30	8 : 8	10.14 ± 0.25	0.19 ± 0.02
100	5.0	35	8 : 8	10.44 ± 0.01	0.19 ± 0.01
100	5.0	40	8 : 8	7.80 ± 0.20	0.14 ± 0.02
100	5.0	35	4 : 4	6.67 ± 0.16	0.12 ± 0.02
100	5.0	35	6 : 6	10.42 ± 0.01	0.19 ± 0.01
100	5.0	35	8 : 8	10.44 ± 0.01	0.19 ± 0.01
100	5.0	35	10 : 10	10.54 ± 0.02	0.20 ± 0.01
100	5.0	35	6 : 3	10.38 ± 0.07	0.19 ± 0.02
100	5.0	35	6 : 2	7.42 ± 0.01	0.14 ± 0.01

5. การเปลี่ยนแปลงของเอทานอลภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอทานอลภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จะเห็นได้ว่าหลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง แล้วทำการหมักเอทานอลด้วยระบบ SSF ที่ 35 องศาเซลเซียส จะเห็นได้ว่าเมื่อเข้าระบบ SSF ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 12 ชั่วโมงแรก และสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง (ปริมาณเอทานอลสูงสุด 10.43 กรัมต่อลิตรผลผลิต 0.19 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) จากปริมาณน้ำตาลรีดิวส์หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณ 13.82 กรัมต่อลิตร และหลังจาก 12 ชั่วโมงของการหมักด้วยวิธี SSF ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงเหลือ 9.53 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นค่อยๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้ง ส่วนปริมาณเชื้อยีสต์ที่มีชีวิตยังสูง และคงที่ แสดงให้เห็นว่าในระบบยังมีน้ำตาลที่เชื้อใช้ได้เหลืออยู่ ตามภาพที่ 39 บ่งบอกว่าเอนไซม์ยังคงทำงาน และมีกิจกรรมที่ดีอยู่ ส่วนปริมาณ

เอทานอลหลังจากการหมักที่ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลดลงนั่น เกิดมาจากการระเหยไป ในการผลิตเอทานอลด้วยระบบ SSF ต้องทำการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนนั่น เพราะต้องมีการเติม Potassium Metabisulfite (KMS) เพื่อฆ่าเชื้อที่ติดมากับเอนไซม์ จึงไม่สามารถเติมเชื้อยีสต์ลงไปทันทีได้ ต้องเว้นระยะเวลาอย่างน้อย 6 ชั่วโมงเพื่อให้ KMS ทำปฏิกิริยาก่อน จึงเติมเชื้อยีสต์ลงไปได้ ซึ่งจากการทดลองผลิตเอทานอลด้วยระบบ SSF ที่ไม่มีการเติม KMS ลงฆ่าเชื้อจะได้เอทานอล 3.7 กรัมต่อลิตร ในเวลา 24 ชั่วโมงของการหมัก และเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงไม่มีปริมาณเอทานอลเหลืออยู่เลย



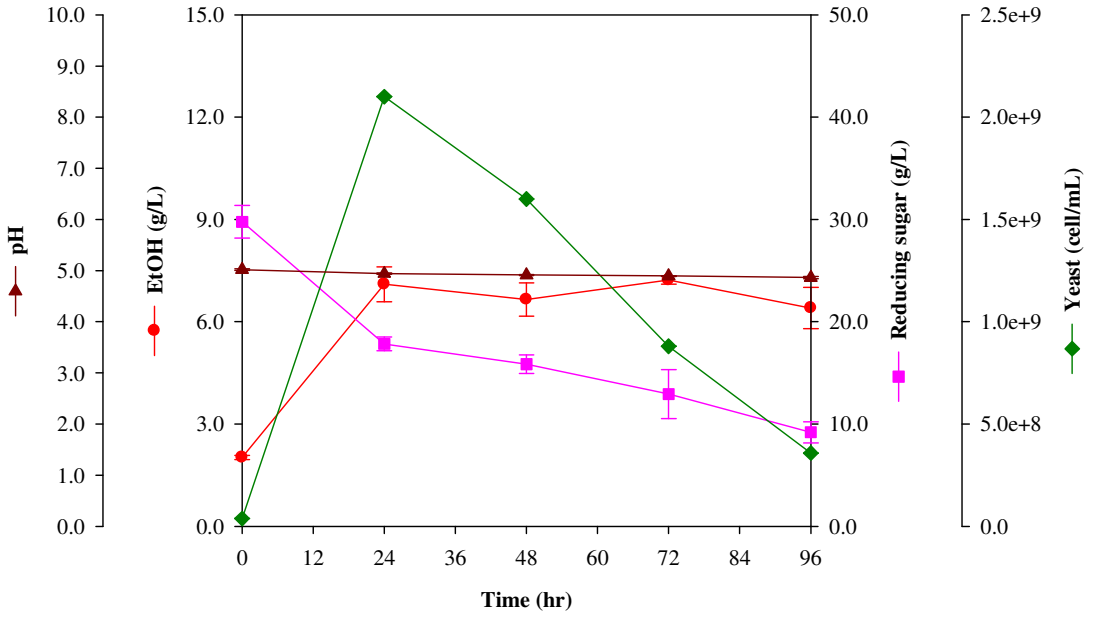
ภาพที่ 39 ปริมาณเอทานอล, พีเอช, น้ำตาลรีดิวส์ และเชื้อยีสต์ ในการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส จาก *T. reesei* 6 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 3 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง

Figure 39 Ethanol concentrations, pH, reducing sugar and yeasts between ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Cellulase from *T. reesei* 6 FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 3 IU/g substrate in citrate buffer pH 5.0, 35^{0}C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr. After hydrolysis at 35^{0}C for 6 hr.

6. การผลิตเอทานอลแบบ SHF

ในการผลิตเอทานอลแบบ SHF เป็นการผลิตเอทานอลโดยแยกกระบวนการไฮโดร-ไลซีสออกจากการหมัก ซึ่งทั้งสองขั้นตอนมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่างกัน จากการทดลองเห็นได้ว่า หลังจากการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์ที่ 50 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไล-ซีสด้วยเอนไซม์) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองแยกสารละลาย นำมาหมักเอทานอลที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมของการเจริญของเชื้อยีสต์ จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 7.10 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมงของการหมัก ผลผลิต 0.13 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส จาก ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นหลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง 29.77 กรัมต่อลิตร และลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนปริมาณเชื้อจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมง และ หลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 40) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำตาลที่ยีสต์สามารถใช้ได้ เหลืออยู่น้อย ทำให้ยีสต์ไม่มีอาหารในการเจริญเติบโต ทำให้หยุดการเจริญเติบโต และตายในที่สุด ส่วนปริมาณเอทานอลหลังจากเวลา 24 ชั่วโมงของการหมัก ไม่เพิ่มขึ้น และไม่ลดลงเหมือนกับการ หมักแบบ SSF ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพราะอุณหภูมิต่ำกว่า อัตราการระเหยต่ำ ทำให้ปริมาณ เอทานอลค่อนข้างคงที่

เมื่อเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลแบบ SSF กับแบบ SHF ในตารางที่ 7 จะเห็นได้ว่า ปริมาณเอทานอล และผลผลิตที่ได้จากการผลิตแบบ SSF สูงกว่าการผลิตเอทานอลแบบ SHF ซึ่ง การที่ระบบ SHF ให้ปริมาณเอทานอลต่ำกว่าระบบ SSF ส่วนหนึ่งมาจากระบบ SSF มีการ ไฮโดรไลซีสตลอดเวลาระหว่างการหมัก ทำให้ได้น้ำตาลเกิดขึ้นมากกว่า และส่งผลให้ผลิตเอทา นอลได้สูงกว่าระบบ SHF และอีกส่วนหนึ่งจะเกิดจากในระบบ SHF มีการกรองเพื่อแยกสารละลาย มาหมัก อาจจะทำให้สูญเสียน้ำตาลบางส่วนไประหว่างการกรอง ซึ่งอาจจะติดไปกับเส้นใยปาล์มที่ เหลือจากการไฮโดรไลซีส



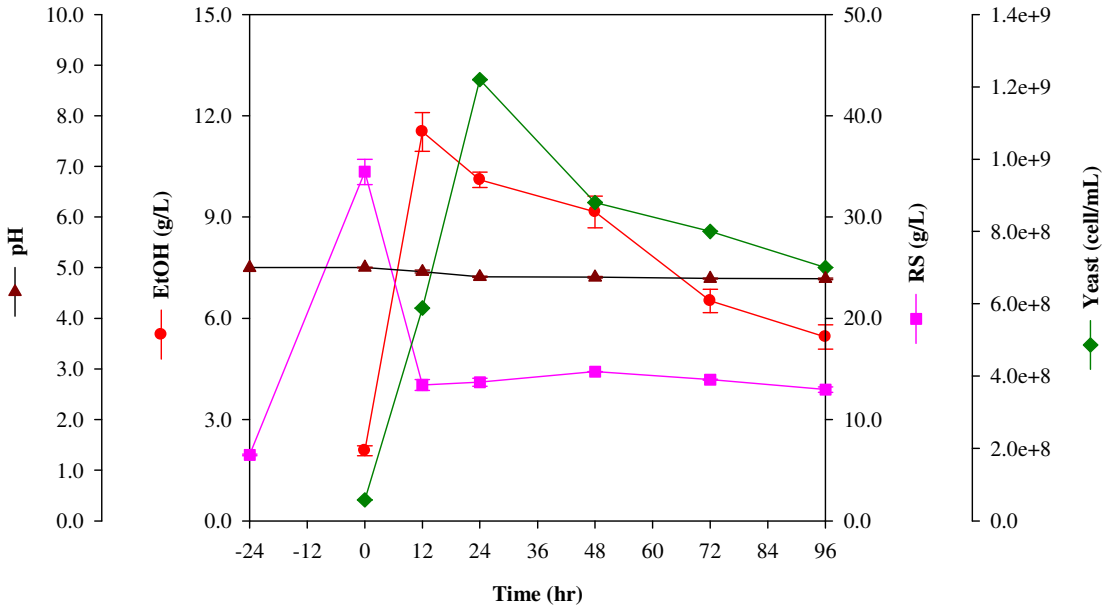
ภาพที่ 40 ปริมาณเอทานอล, พีเอช, น้ำตาลรีดิวส์ และเชื้อยีสต์ ในการผลิตเอทานอลแบบ SHF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ไฮโดรไลซีสโดยใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสจาก *T. reesei* 6 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 3 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หมักเอทานอล ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

Figure 40 Ethanol concentrations, pH, reducing sugar and yeasts between ethanol production by SHF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Hydrolysis with cellulase from *T. reesei* 6 FPU/g substrate mix β-glucosidase from *A. niger* 3 IU/g substrate in citrate buffer pH 5.0, 50^{0}C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr and fermentation at 30^{0}C for 96 hr

ตารางที่ 7 การผลิตเอทานอลแบบ SSF กับแบบ SHF

Table 7 Ethanol production by SSF and SHF

ชนิดของการหมัก	ไฮโดรไลซีส		อุณหภูมิการหมัก (^{0}C)	ที่เวลา 24 ชั่วโมงของการหมัก	
	อุณหภูมิ (^{0}C)	ระยะเวลา (hr)		ปริมาณเอทานอล (g/L)	ผลผลิต ($g_{EtOH}/g_{cellulose}$)
SSF	35	6	35	10.43	0.19
SHF	50	24	30	7.10	0.13



ภาพที่ 41 ปริมาณเอทานอล, พีเอช, น้ำตาลรีดิวส์ และเชื้อยีสต์ ในการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส จาก *T. reesei* 6 FPU/g substrate ผสมกับ เบต้า-กลูโคซิเดสจาก *A. niger* 3 IU/g substrate ในสารละลายซิเตรตบับเฟอร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที หลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Figure 41 Ethanol concentrations, pH, reducing sugar and yeasts between ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Cellulase from *T. reesei* 6 FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 3 IU/g substrate in citrate buffer pH 5.0, 35^{0}C on oribital shaker 160 rpm for 24 hr. After hydrolysis at 50^{0}C for 24 hr.

7. ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการไฮโดรไลซีสแบบกะ ที่ 50 องศาเซลเซียส ก่อนเข้าระบบ SSF

เพื่อเพิ่มผลผลิตเอทานอลในระบบ SSF จึงได้ทำการทดลองให้มีการไฮโดรไลซีสก่อนที่จะเข้าสู่ระบบ SSF โดยไม่มีการแยกเส้นใยปาล์มออก จากการทดลองจะเห็นได้ว่าหลังจากการไฮโดรไลซีสที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 34.46 กรัมต่อลิตร และหลังเข้าระบบ SSF เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 11.53 กรัมต่อลิตร(ผลผลิต 0.21 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลลูโลส) และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงเหลือ 13.42 กรัมต่อลิตร และจะคงที่ ส่วนปริมาณเชื้อยีสต์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในเวลา 24 ชั่วโมง และจะลดลง แสดงว่าเชื้อยีสต์ไม่สามารถใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโต จึงทำให้หยุดการเจริญเติบโต และตายในที่สุด การที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์คงที่ และเชื้อไม่สามารถใช้น้ำตาลได้ บ่ง

บอกได้ว่าเอนไซม์มีกิจกรรมเหลืออยู่น้อย อาจจะเป็นผลมาจากการลดอุณหภูมิจาก 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซีส เหลือ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในระบบ SSF ส่วนปริมาณเอทานอลหลังจากการหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมงจะลดลง เนื่องจากเอทานอลส่วนหนึ่งระเหยออกไป (ภาพที่ 41)

8. ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่ 50 องศาเซลเซียส ก่อนเข้าระบบ SSF

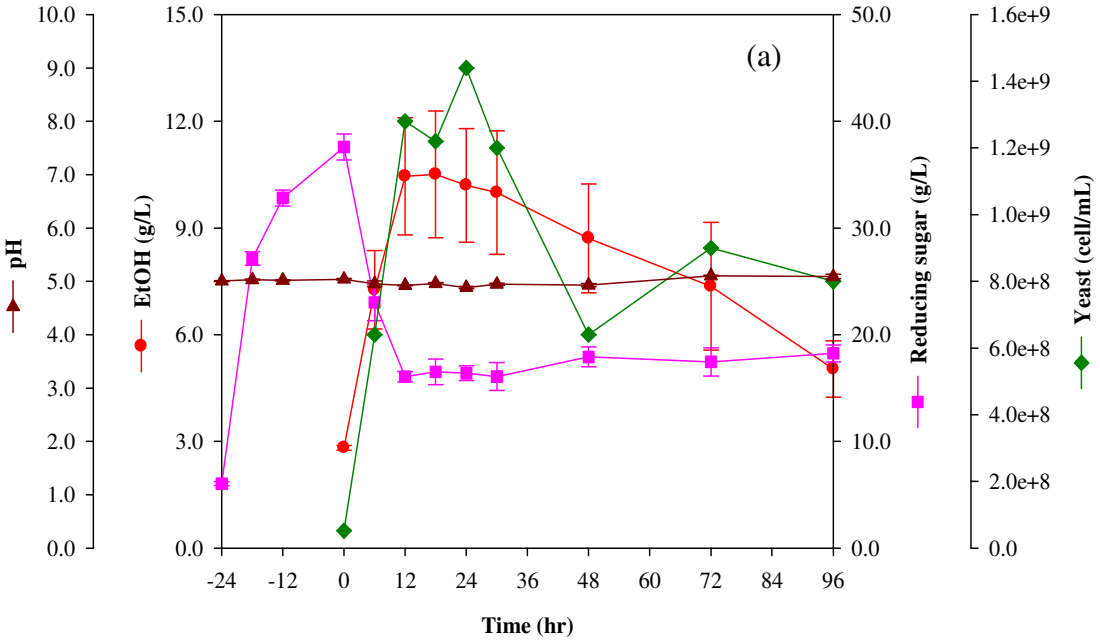
ในการทดลองใช้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร จะให้ปริมาณเอทานอลต่ำอยู่ เนื่องจากในปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเซลลูโลสอยู่ต่ำ ซึ่งจะส่งผลให้การผลิตเอทานอลต่ำด้วย ดังนั้นการเพิ่มปริมาณเส้นใยปาล์ม จะทำให้การผลิตเอทานอลสูงขึ้นได้ แต่ถ้าใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้นสูงกว่า 100 กรัมต่อลิตร ระบบจะมีความหนืดทำให้การไฮโดรไลซีสเกิดได้ยาก ทำให้การผลิตเอทานอลต่ำ เนื่องจากการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร แบบกะที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเข้าระบบ SSF นั้น สามารถทำให้ความหนืดของระบบลดลงได้ ซึ่งในการเติมเส้นใยปาล์มลงไประหว่างการไฮโดรไลซีส จะทำให้การไฮโดร-ไลซีสได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการไฮโดรไลซีสเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ด้วยเอนไซม์ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีการเพิ่มเส้นใยปาล์ม 50 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการไฮโดรไลซีส ก่อนการหมักเอทานอลด้วยระบบ SSF ที่ 35 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณเอทานอล และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เปลี่ยนแปลงตามภาพที่ 42

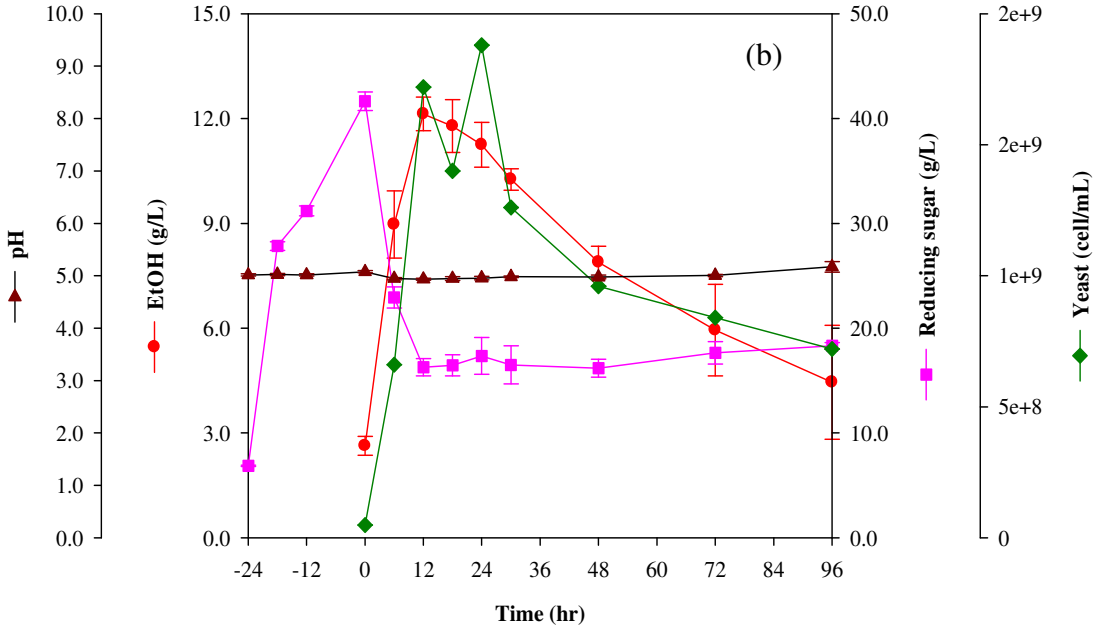
จากภาพที่ 42a แสดงผลของการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 6 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีส ก่อนเข้าระบบ SSF จะเห็นได้ว่าใน 6 ชั่วโมงแรกของการไฮโดรไลซีส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเมื่อเติมเส้นใยปาล์มลงไปที่เวลา 6 ชั่วโมง การไฮโดรไลซีสจะช้าลง เนื่องจากการเติมเส้นใยปาล์มลงไป จะเป็นการเพิ่มความหนืดให้แก่ระบบ การสัมผัสระหว่าเอนไซม์ กับเส้นใยปาล์มจะเกิดขึ้นได้ยาก ทำให้การไฮโดรไลซีสช้าลง และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 37.59 กรัมต่อลิตร สูงกว่าการไฮโดรไลซีสแบบกะ และเมื่อเข้าระบบ SSF เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จะให้ปริมาณเอทานอล 10.46 กรัมต่อลิตร และเหลือปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 16.06 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวส์คงที่ ส่วนปริมาณเชื้อยีสต์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และลดลง เช่นเดียวกับการไฮโดรไลซีสแบบกะ ก่อนเข้าระบบ SSF

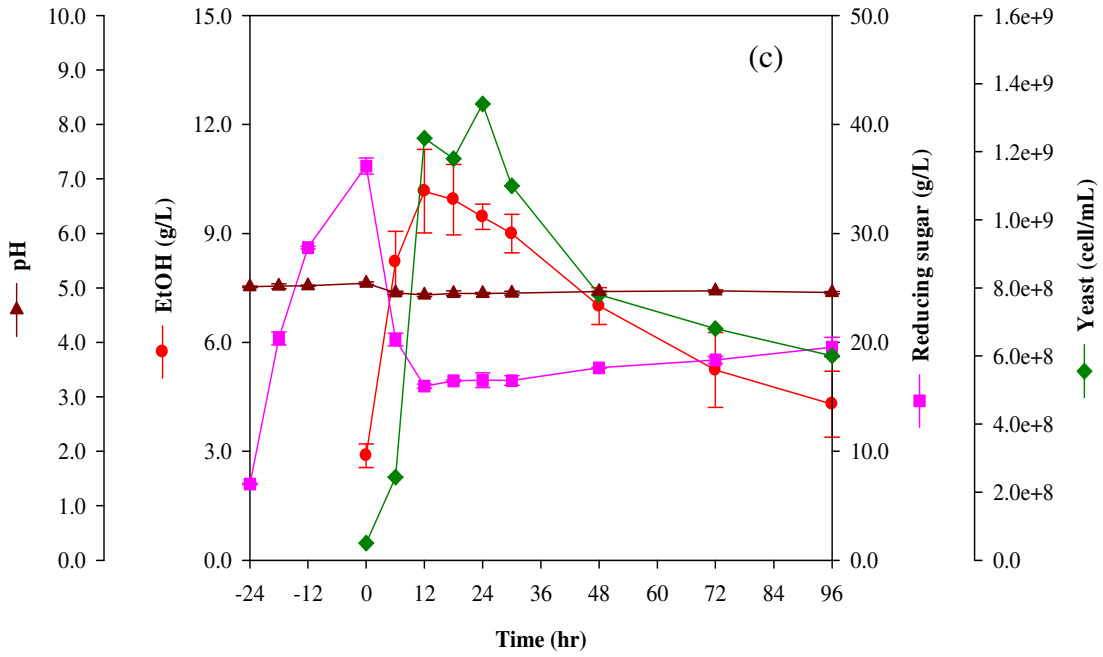
จากภาพที่ 42b แสดงผลของการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 12 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีส ก่อนเข้าระบบ SSF จะเห็นได้ว่าที่ 6 ชั่วโมงแรกของการ

ไฮโดรไลซีส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะช้าลง และเมื่อเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอีกครั้ง เนื่องจากการเติมเส้นใยปาล์มเพิ่มที่เวลา 12 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีส ซึ่งเป็นระยะเวลาที่นานเพียงพอที่จะทำให้ระบบเดิมมีความหนืดน้อยลงมาก การเติมเส้นใยเพิ่มที่เวลา 12 ชั่วโมง ระบบจึงมีความหนืดน้อยกว่าการเติมที่เวลา 6 ชั่วโมง ทำให้การสัมผัสระหว่าเอนไซม์ กับเส้นใยปาล์มง่ายขึ้น การไฮโดรไลซีสจึงเกิดขึ้นได้เร็ว และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 41.64 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการไฮโดรไลซีสแบบกะ และแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มเพิ่มที่เวลา 6 ชั่วโมงของการไฮโดรไล-ซีส และเมื่อเข้าระบบ SSF เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จะให้ปริมาณเอทานอล 12.13 กรัมต่อลิตร เหลือปริมาณน้ำตาลริดิวส์ 16.67 กรัมต่อลิตร และหลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวส์คงที่ ส่วนปริมาณเชื้อจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และลดลง เช่นเดียวกับการไฮโดรซีสแบกะ ก่อนเข้าระบบ SSF

จากภาพที่ 42c แสดงผลของการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีส แต่ใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ก่อนเข้าระบบ SSF จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ใน 6 ชั่วโมงแรกจะเพิ่มขึ้นช้ากว่าการใช้ปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ดังข้างต้น และเมื่อเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะเพิ่มขึ้น แต่ไม่เร็วมากนัก เนื่องจากการใช้เส้นใยปาล์มเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร เป็นปริมาณที่น้อย ทำให้การไฮโดรไลซีสได้น้ำตาลรีดิวส์น้อย และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 36.18 กรัมต่อลิตร มากกว่าการไฮโดรไลซีสแบบกะใกล้เคียงกับการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 6 ชั่วโมง (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์) แต่น้อยกว่าการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 12 ชั่วโมง และเมื่อเข้าระบบ SSF เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จะให้ปริมาณปริมาณเอทานอล 10.17 กรัมต่อลิตร เหลือปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 15.49 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวส์คงที่ ส่วนปริมาณเชื้อยีสต์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และลดลง เช่นเดียวกับการไฮโดรไลซีสแบบกะก่อนเข้าระบบ SSF


(a)
pH
EtOH (g/L)
Reducing sugar (g/L)
Yeast (cell/mL)
Time (hr)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
15.0
12.0
9.0
6.0
3.0
0.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
1.6e+9
1.4e+9
1.2e+9
1.0e+9
8.0e+8
6.0e+8
4.0e+8
2.0e+8
0.0
-24
-12
0
12
24
36
48
60
72
84
96


(b)
pH
EtOH (g/L)
Reducing sugar (g/L)
Yeast (cell/mL)
Time (hr)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
15.0
12.0
9.0
6.0
3.0
0.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
2e+9
2e+9
1e+9
5e+8
0
-24
-12
0
12
24
36
48
60
72
84
96



หมายเหตุ (a) : เติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 6 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีสที่ 50 องศาเซลเซียส

(b) : เติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 12 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีสที่ 50 องศาเซลเซียส

(c) : เติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีสที่ 50 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 42 การผลิตเอทานอลแบบ SSF ด้วยปริมาณเส้นใยปาล์มเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 6 FPU/g substrate และ เบต้า-กลูโคซิเดส 3 IU/g substrate โดยมีการไฮโดรไลซีสที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเข้าระบบ SSF ที่ 35 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0 อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที

Figure 42 Ethanol production by SSF using initial palm pressed fiber 100 g/L. Cellulase from *T. reesei* 6 FPU/g substrate mix β-glusidase from *A. niger* 3 IU/g substrate hydrolysis at 50^{0}C for 24 hr prior to SSF at 35^{0}C in citrate buffer pH 5.0 on oribital shaker 160 rpm.

เมื่อเปรียบเทียบการไฮโดรไลซีสแบบกะ ก่อนเข้าระบบ SSF กับการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมปริมาณเส้นใยปาล์ม 50 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ ก่อนเข้าระบบ SSF ตามตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่าการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 12 ชั่วโมงของการไฮโดรไลซีส ก่อนเข้าระบบ SSF จะมีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ และปริมาณเอทานอลได้ แต่ไม่สามารถเพิ่มผลผลิตได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการไฮโดรไลซีสแบบกะ ก่อนเข้าระบบ SSF ส่วนการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์มที่เวลา 6 ชั่วโมง กับการเติม

เส้นใยปาล์มที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง ไม่สามารถเพิ่มน้ำตาลรีดิวส์ และปริมาณเอทานอลได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการไฮโดรไลซีสแบบกะ ก่อนเข้าระบบ SSF

ในการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะ ที่มีการเติมเส้นใยปาล์ม 50 กรัมต่อลิตร ที่เวลาต่างๆ สามารถเพิ่มน้ำตาลรีดิวส์ได้ เพราะมีการเพิ่มปริมาณเส้นใยปาล์มลงไปนั้นเอง แต่เมื่อดูปริมาณที่เพิ่มขึ้น จะเพิ่มขึ้นไม่มากนัก (ประมาณ 2-7 กรัมต่อลิตร) ทั้งที่เพิ่มปริมาณเส้นใยปาล์มลงไป 50 กรัมต่อลิตร เนื่องมาจากไม่มีการเติมเอนไซม์ลงไปเพิ่มเติม ทำให้ปริมาณเอนไซม์ต่อสารตั้งต้นน้อยลง การไฮโดรไลซีสจึงเกิดน้อย ส่งผลต่อการผลิตเอทานอลน้อยด้วย จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการไฮโดรไลซีสแบบกึ่งกะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะสามารถส่งเสริมให้เกิดการผลิตเอทานอลที่เพิ่มขึ้น โดยควรมีการเติมเอนไซม์ในสัดส่วนของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้นที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มผลผลิตของเอทานอลด้วย

ตารางที่ 8 ปริมาณเอทานอล และผลผลิตที่ได้จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF โดยมีการไฮโดรไล-ซีสแบบกะ และแบบกึ่งกะ ก่อนเข้าระบบ SSF

Table 8 Ethanol concentration, yield and productivity after ethanol production by SSF. Batch and fed-batch hydrolysis prior to SSF

ปริมาณเส้นใยเริ่มต้น (g/L)	Fed-batch		ปริมาณเส้นใยสุดท้าย (g/L)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์หลัง 24 ชั่วโมง (g/L)	ที่เวลา 12 ชั่วโมง ของ SSF	
	เวลาที่เติม (hr)	ปริมาณที่เติม (g/L)			เอทานอล (g/L)	ปริมาณผลผลิต (g EtOH/g cellulose)
100	-	-	100	34.46	11.53	0.21
100	6	50	150	37.59	10.46	0.13
100	12	50	150	41.64	12.13	0.15
50	6 และ 12	50 และ 50	150	36.18	10.17	0.13

9. เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลกับงานวิจัยอื่นๆ

จากการผลิตเอทานอลแบบ SSF ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมคือ ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 6 FPU/g substrate และเบต้า-กลูโคซิเดสจากเชื้อ *A. niger* 3 IU/g substrate อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0 ด้วยสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลลาร์ อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอล 10.38 กรัมต่อลิตร เมื่อนำไปเทียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆตามตารางที่ 9 เห็นได้ว่าปริมาณเอทานอลที่ได้ในงานวิจัยนี้มีปริมาณต่ำกว่า อาจจะเป็นเพราะว่าปริมาณเซลลูโลสที่อยู่ในเส้นใยปาล์มมีอยู่น้อย ทำให้การไฮโดรไลซีสเซลลูโลสในเส้นใยเป็นน้ำตาลได้น้อย และระบบการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ยัง

ไม่ดีเพียงพอ เพราะมีน้ำตาลที่เหลือหลังจากการหมัก ที่เชื้อไม่สามารถใช้ได้อยู่ค่อนข้างสูง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเอทานอลน้อยด้วย แต่อย่างไรก็ตาม การผลิตเอทานอลตามงานวิจัยนี้ มีข้อได้เปรียบในเรื่อง ต้นทุนในการเตรียมเส้นใยปาล์ม และปริมาณเอนไซม์ที่ใช้น้อยกว่า ใช้เวลาในการผลิตเอทานอลแค่ 12 ชั่วโมง

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์ม และวัตถุดิบต่างๆ ด้วยวิธีการผลิตแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

Table 9 Ethanol productions from palm pressed fiber and other materials by Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

วัตถุดิบ	วิธีการเตรียม	สภาวะที่ใช้ในการหมักแบบ SSF				เชื้อจุลินทรีย์	เวลา (hr)	ปริมาณเอทานอล	เปลี่ยนแปลง (%)	เอกสารอ้างอิง
		ปริมาณเอนไซม์	พีเอช	อุณหภูมิ (^{0}C)	อัตราการเขย่า (rpm)					
ฟางข้าว 100 g/L	1% NaOH ต้มเดือด 60 นาที	*T.reesei* Cellulase Cellulase 10.6 FPU/g substrate Cellobiase 3.8 CBU/g substrate	5.3	40	160	*S.cerevisiae* YC-097 1.5 x 10^8 ใช้ 10% (v/v)	96	23.7 **g/L**	52.8	Zhu และคณะ,2005b
ฟางข้าว 100 g/L	1% NaOH/Microwave 700W 30 นาที	*T.reesei* Cellulase Cellulase 7.95 FPU/g substrate Cellobiase 2.94 CBU/g substrate	5.3	40	160	*S.cerevisiae* YC-097 1.5 x 10^8 ใช้ 10% (v/v)	72	25.8 **g/L**	57.5	Zhu และคณะ,2005b
Populus niger 10%(w/v)	Steam explosion 210 ^{0}C 4 นาที	Cellulase 15 FPU/g substrate	-	42	150	*K.maxianus* CECT 4% (v/v)	160	19.0 **g/L**	71.2	Ballesteros และคณะ, 2004
Eucalyptus 10%(w/v)	Steam explosion 210 ^{0}C 4 นาที	Cellulase 15 FPU/g substrate	-	42	150	*K.maxianus* CECT 4% (v/v)	160	17.0 **g/L**	62.5	Ballesteros และคณะ, 2004
Wheat straw 10% (w/v)	Steam explosion 190 ^{0}C 8 นาที	Cellulase 15 FPU/g substrate	-	42	150	*K.maxianus* CECT 4% (v/v)	160	18.1 **g/L**	62.5	Ballesteros และคณะ, 2004
Sweet Sorghum bagasse 10% (w/v)	Steam explosion 210 ^{0}C 2 นาที	Cellulase 15 FPU/g substrate	-	42	150	*K.maxianus* CECT 4% (v/v)	160	16.2 **g/L**	60.9	Ballesteros และคณะ, 2004
Bassica carinata	Steam explosion	Cellulase 15 FPU/g substrate	-	42	150	*K.maxianus* CECT	160	19.0 **g/L**	68.1	Ballesteros

10%(w/v)	210 ^{0}C 8 นาที					4% (v/v)				และคณะ, 2004
Solka floc 10%(w/v)	No pretreatment	Cellulase 40 FPU/g substrate	5.1	40	150	*S.cerevisiae* 10% (v/v)	43	2.3%(w/v)	-	Ballesteros และคณะ, 2004
			5.1	43	150	*K.fragillis* 10% (v/v)	48	2.8%(w/v)	-	
							72	3.0%(w/v)	-	
Sugar cane 10% (w/v)	(NaOH + H_0O_2)/Autoclave 15 นาที 121 ^{0}C	Cellulase 40 FPU/g substrate	5.1	40	150	*S.cerevisiae* 10% (v/v)	96	2.0%(w/v)	-	Ballesteros และคณะ, 2004
			5.1	43	150	*K.fragillis* 10% (v/v)	48	2.2%(w/v)	-	
							72	2.5%(w/v)	-	
Antigonum teptopus 10% (w/v)	(NaOH + H_0O_2)/Autoclave 15 นาที 121 ^{0}C	Cellulase 40 FPU/g substrate	5.1	40	150	*S.cerevisiae* 10% (v/v)	72	1.9%(w/v)	-	Ballesteros และคณะ, 2004
			5.1	43	150	*K.fragillis* 10%(v/v)	24	2.0%(w/v)	-	
							48	2.3%(w/v)	-	
Solka floc 10%(w/v)	No pretreatment	Cellulase 40 FPU/g substrate β-Glucosidase 50 IU/g substrate	5.1	40	150	*S.cerevisiae* 10%(v/v)	24	2.5%(w/v)	-	Ballesteros และคณะ, 2004
			5.1	43	150	*K.fragillis* 10%(v/v)	24	2.5%(w/v)	-	
							48	3.3%(w/v)	-	
Sugar cane 10% (w/v)	(NaOH + H_0O_2)/Autoclave 15 นาที 121 ^{0}C	Cellulase 40 FPU/g substrate β-Glucosidase 50 IU/g substrate	5.1	40	150	*S.cerevisiae* 10%(v/v)	48	2.0%(w/v)	-	Ballesteros และคณะ, 2004
			5.1	43	150	*K.fragillis* 10%(v/v)	24	2.0%(w/v)	-	
							48	2.5%(w/v)	-	
Antigonum teptopus 10% (w/v)	(NaOH + H_0O_2)/Autoclave 15 นาที 121 ^{0}C	Cellulase 40 FPU/g substrate β-Glucosidase 50 IU/g substrate	5.1	40	150	*S.cerevisiae* 10%(v/v)	48	2.1%(w/v)	-	Ballesteros และคณะ, 2004
			5.1	43	150	*K.fragillis* 10%(v/v)	24	2.3%(w/v)	-	
							48	2.7%(w/v)	-	
Solka floc 6% (w/v)	No pretreatment	Cellulase 15 FPU/g substrate β-Glucosidase 15 IU/g substrate	4.4-5.3	40	-	*K.maxianus* 2 x 10^9 Cell/mL	72	17.8 g/L	0.337 EtOH/g cellulose	Kadar และคณะ, 2004

						S.cerevisiae 2 x 10^9 Cell/mL	72	16.6 g/L	0.314 EtOH/g cellulose	
Old corrugated cardboard (OCC) 6% (w/v)	No pretreatment	Cellulase 15 FPU/g substrate β-Glucosidase 15 IU/g substrate	4.4-5.3	40	-	*K.maxianus* 2 x 10^9 Cell/mL	72	14.1 g/L	0.312 EtOH/g cellulose	Kadar และคณะ, 2004
						S.*cerevisiae* 2 x 10^9 Cell/mL	72	14.2 g/L	0.315 EtOH/g cellulose	
Paper sludge 6% (w/v)	No pretreatment	Cellulase 15 FPU/g substrate β-Glucosidase 15 IU/g substrate	4.4-5.3	40	-	*K.maxianus* 2 x 10^9 Cell/mL	72	8.8 g/L	0.325 EtOH/g cellulose	Kadar และคณะ, 2004
						S.cerevisiae 2 x 10^9 Cell/mL	72	9.8 g/L	0.334 EtOH/g cellulose	
Corn cobs 20% w/v	2%NaOH/Autoclaved			37	150	*S.cerevisiae*	96	27 g/l	0.24 g ethanol/g substrate	Latif and Rajoka, 2001.
				37	150	*C.tropicalis*	96	23 g/l	0.20 ethanol/g substrate	Latif and Rajoka, 2001.
				37	150	Co-culture	96	21 g/l	0.19 ethanol/g substrate	Latif and Rajoka, 2001.