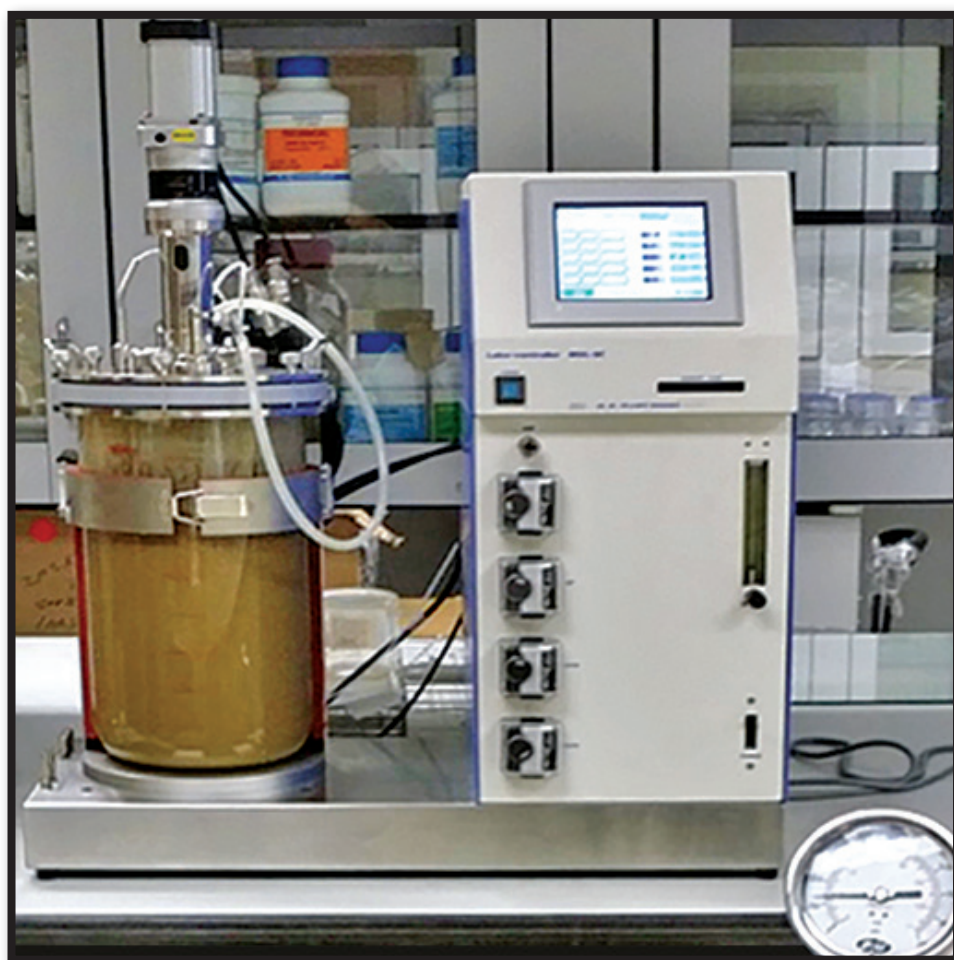




โครงการวิจัยที่ ภ.64-07/ย.1/รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)

# เทคโนโลยีการปรับสภาพกากมันสำปะหลัง สำหรับกระบวนการผลิตเซลลูโลสเอทานอล



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย  
กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ.64-07

การเพิ่มผลผลิตในกระบวนการผลิตเอทานอลจาก  
มันสำปะหลังด้วยเทคโนโลยีเซลลูโลสิกเอทานอล

โครงการย่อยที่ 1

เทคโนโลยีการปรับสภาพกากมันสำปะหลัง  
สำหรับกระบวนการผลิตเซลลูโลสิกเอทานอล

รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)

เทคโนโลยีการปรับสภาพกากมันสำปะหลัง  
สำหรับกระบวนการผลิตเซลลูโลสิกเอทานอล

โดย

กิตติ อรสุญ

วิชญ์ ปั่นพันธ์ุ

เทพฤทธิ์ กัณหานนท์

บรรณาธิการ

อลิสรา คุประสิทธิ์

บุญเรียม น้อยชุมแพ

สลิลดา พัฒนศิริ

วว., ปทุมธานี 2565

สงวนลิขสิทธิ์

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย  
ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ชุตินา เอี่ยมโชติชวลิต

(นางชุตินา เอี่ยมโชติชวลิต)

ผู้ว่าการ

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนทางด้านงบประมาณในการดำเนินการศึกษา "โครงการปรับสภาพกากมันสำปะหลังสำหรับกระบวนการผลิตเซลล์ลิกเอทานอล" และชี้แนะแนวทางในการดำเนินการวิจัย.

ขอขอบคุณบุคคลากรอันมีคุณภาพของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่อำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัย เพื่อประโยชน์สูงสุดของสังคม.

ขอขอบคุณ บริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด ที่ให้การสนับสนุนวัสดุสำหรับดำเนินการทดลอง พร้อมทั้งให้การสนับสนุนแนวคิดและข้อมูลในการดำเนินการวิจัย.

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกหน่วยงานดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้.

## สารบัญ

หน้า

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| กิตติกรรมประกาศ                       | ก  |
| สารบัญตาราง                           | ค  |
| สารบัญรูป                             | ง  |
| ABSTRACT                              | 1  |
| บทคัดย่อ                              | 2  |
| 1. บทนำ                               | 4  |
| 2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ           | 13 |
| 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์               | 18 |
| 4. สรุปผลการวิจัย                     | 39 |
| 5. แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ | 42 |
| 6. ข้อเสนอแนะ                         | 44 |
| 7. เอกสารอ้างอิง                      | 45 |
| ภาคผนวก                               | 49 |

## สารบัญตาราง

|             |  | หน้า |
|-------------|--|------|
| ตารางที่ 1. | องค์ประกอบทางเคมีของผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง    | 9    |
| ตารางที่ 2. | ขั้นตอนในการไฮโดรไลซิสเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ      | 15   |
| ตารางที่ 3. | องค์ประกอบกากสำตะกอนมันสำปะหลัง                          | 18   |
| ตารางที่ 4. | แผนการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยเบส      | 26   |
| ตารางที่ 5. | ผลการทดลองการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนมันสำปะหลัง       | 27   |
| ตารางที่ 6. | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพ | 31   |
| ตารางที่ 7. | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการเปลี่ยนแปลง         | 35   |
| ตารางที่ 8. | ผลการขยายขนาดการปรับสภาพกากตะกอนมันสำปะหลังด้วยเบส       | 38   |

## สารบัญรูป

|  | หน้า |
|--|------|
| รูปที่ 1. การกลั่นเอทานอลและน้ำด้วย 2 หอกกลั่น   | 8    |
| รูปที่ 2. การจัดการน้ำสำจากกระบวนการผลิตเอทานอล  | 8    |
| รูปที่ 3. ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ของการไฮโดรไลซิสแต่ละการทดลอง                            | 19   |
| รูปที่ 4. ผลของอุณหภูมิในการปรับสภาพด้วยการระเปิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ                        | 20   |
| รูปที่ 5. ผลของร้อยละของแข็งในการปรับสภาพด้วยการระเปิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ                   | 22   |
| รูปที่ 6. ผลของอุณหภูมิในการปรับสภาพด้วยเบส  | 23   |
| รูปที่ 7. ผลของร้อยละของแข็งในการปรับสภาพด้วยเบส   | 24   |
| รูปที่ 8. ผลของร้อยละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพด้วยเบส                   | 25   |
| รูปที่ 9. อิทธิพลของปัจจัยหลักทั้ง 3 ปัจจัยที่มีผลต่อร้อยละของแข็ง (%Solid Residue)        | 28   |
| รูปที่ 10. อิทธิพลของปัจจัยหลักทั้ง 3 ปัจจัย ที่มีผลต่อร้อยละการเปลี่ยนแปลง (% Conversion) | 29   |
| รูปที่ 11. อันตรกิริยาระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพ (%Solid Residue) | 29   |
| รูปที่ 12. อันตรกิริยาระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion)            | 30   |
| รูปที่ 13. การกระจายความน่าจะเป็น (Normal Probability) ของสมการที่ (3)                     | 32   |
| รูปที่ 14. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ    | 32   |
| รูปที่ 15. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นสารละลายเบส      | 33   |
| รูปที่ 16. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นสารละลายเบส        | 33   |
| รูปที่ 17. การกระจายความน่าจะเป็นของสมการ (Normal Probability) ของสมการที่ (4)             | 36   |
| รูปที่ 18. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ    | 36   |
| รูปที่ 19. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นสารละลายเบส      | 37   |

## สารบัญรูป (ต่อ)

|            |  | หน้า |
|------------|--|------|
| รูปที่ 20  | พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอนุหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้น<br>สารละลายเบส | 37   |
| รูปที่ 21. | การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากตะกอนมันสำปะหลังด้วยเบส                  | 38   |



# CASSAVA WASTE PRETREATMENT TECHNOLOGY FOR CELLULOSIC ETHANOL PRODUCTION

Kitti Orasoon, Vishnu Panpan and Thaparit Kunhanont

## ABSTRACT

This research aims to develop pretreatment technology for cassava stillage residue (CSR) for cellulosic ethanol production by using CSR from cassava-based ethanol production. The result of CSR chemical composition was  $29.35 \pm 1.05\%$  cellulose,  $19.76 \pm 0.02\%$  lignin,  $2.08 \pm 0.35\%$  hemicellulose and  $12.13 \pm 0.33\%$  ash but starch composition remaining in CSR was only  $1.72 \pm 0.02\%$ . The result showed that hydrolysis of cassava sludge by co-enzymatic system was found to produce a concentration of reducing sugar in the range of 9-10 g/l by using cassava sludge 15% by weight when the presence of glucoamylase in hydrolysis system. No effect of alpha-Amylase and cellulase on CSR hydrolysis without a pretreatment step. The results of the study of factors affecting the steam pretreatment of cassava sludge showed that the optimum reaction temperature was  $180^{\circ}\text{C}$  and the solid/liquid percentage was 10.  $49.14 \pm 0.57$  g/l using 15% solids after pretreatment by weight. The percentage conversion (% conversion) was only 29.48%.

The results of the study of factors affecting the base treatment of cassava sludge showed that the optimum conditions were obtained, the optimum reaction temperature was  $120^{\circ}\text{C}$ , the percentage of solids used in the cassava sludge pretreatment was 15% and the optimum base concentration was 6%. The reducing sugar was  $17.61 \pm 1.84$  g/l by using the solid after treatment equal to 5% by weight. The percentage change can be calculated. (%Conversion) was only 31.70%. Optimization of CSR pretreatment with NaOH by using Box-Behnken Design showed that the optimum condition was  $110^{\circ}\text{C}$  reaction temperature, 10.75% solid loading and 6.78% NaOH can be produced reducing sugar concentration  $22.79 \pm 0.43$  g/L by 5% substrate 31.70% Conversion and  $47.77 \pm 0.93\%$  solid loading.

# เทคโนโลยีการปรับสภาพกากมันสำปะหลังสำหรับกระบวนการ ผลิตเซลลูโลสเอทานอล

กิตติ อรสุญ<sup>1</sup>, วิษณุ ปั้นพันธ์<sup>1</sup> และ เทพฤทธิ์ กัญหานนท์<sup>1</sup>

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการศึกษาเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังสำหรับกระบวนการผลิตเซลลูโลสเอทานอล โดยใช้กากตะกอนน้ำมันสำปะหลังหลังการกลั่นและแยกน้ำเป็นวัตถุดิบในการศึกษามีผลการทดลองดังนี้

การศึกษาองค์ประกอบกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง พบว่า มีองค์ประกอบหลักของเส้นใยเป็นเซลลูโลสร้อยละ 29.35±1.05 องค์ประกอบลิกนินร้อยละ 19.76±0.02 องค์ประกอบเฮมิเซลลูโลส ร้อยละ 2.08±0.35 และ องค์ประกอบเถ้าร้อยละ 12.13±0.33 โดยมีปริมาณแป้งเหลืออยู่ในกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังร้อยละ 1.72±0.02.

การไฮโดรไลซิสกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยระบบเอนไซม์ร่วม พบว่าสามารถผลิตความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ได้ในช่วง 9-10 กรัมต่อลิตร โดยใช้กากตะกอนน้ำมันสำปะหลังร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก เมื่อมีเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในระบบ ส่วนเอนไซม์อื่นๆ ไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสโดยไม่ผ่านขั้นตอนการปรับสภาพ.

ผลการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง พบว่าที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส และร้อยละของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 10 โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ 49.14±0.57 กรัมต่อลิตร โดยใช้ของแข็งหลังการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก สามารถคำนวณการร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) ได้เพียง ร้อยละ 29.48.

<sup>1</sup>ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมพลังงานสะอาดและสิ่งแวดล้อม, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.).

ผลการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง พบว่า ได้สภาวะที่เหมาะสมอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส ร้อยละของแข็งที่ใช้ในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังเท่ากับร้อยละ 15 และความเข้มข้นของเบสที่เหมาะสมเท่ากับร้อยละ 6 โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $17.61 \pm 1.84$  กรัมต่อลิตร โดยใช้ของแข็งหลังการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก สามารถคำนวณการร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) ได้เพียงร้อยละ 31.70.

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยเบสของกากมันสำปะหลัง การออกแบบการทดลองด้วยวิธีการออกแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design) พบว่า ได้สภาวะที่เหมาะสมที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 111 องศาเซลเซียส ร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ (%Solid Loading) เท่ากับ 10.75 และร้อยละความเข้มข้นของสารละลายเบส (%NaOH) เท่ากับ 6.78 โดยที่สภาวะดังกล่าว มีค่าเฉลี่ยร้อยละของแข็ง (%Solid Residue) เท่ากับ  $47.77 \pm 0.93$  และ ค่าเฉลี่ยร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) เท่ากับ  $41.03 \pm 0.82$  หรือ ผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $22.79 \pm 0.43$  กรัมต่อลิตร โดยใช้ของแข็งหลังการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก.

# 1. บทนำ

## 1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ

ตามแผนพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก พ.ศ. 2561 – 2580 (Alternative Energy Development Plan : AEDP2018) สนับสนุนให้นำผลผลิตทางการเกษตรส่วนเกินที่เหลือใช้จากการบริโภคภายในประเทศและการส่งออกแล้วมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอเอทานอลเชิงพาณิชย์ ได้แก่กากน้ำตาลซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลจากอ้อย และมันสำปะหลัง เพื่อไม่ให้เกิดกระทบกับปริมาณผลผลิตทางการเกษตรที่จะต้องใช้เพื่อเป็นอาหารสำหรับการบริโภค เนื่องจากข้อจำกัดของเทคโนโลยียานยนต์ในการรองรับการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพในสัดส่วนที่สูงขึ้น และพระราชบัญญัติกองทุนน้ำมันเชื้อเพลิง พ.ศ. 2562 ที่มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 24 กันยายน พ.ศ. 2562 กำหนดไม่ให้ใช้เงินกองทุนน้ำมันเชื้อเพลิงอุดหนุนราคาน้ำมันที่มีเชื้อเพลิงชีวภาพเป็นส่วนผสม จึงจำเป็นต้องปรับลดเป้าหมายการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพในแผน AEDP 2018 เหลือการใช้และการผลิตเอทานอลเกรดเชื้อเพลิงที่ 7.50 ล้านลิตรต่อวัน ในปี พ.ศ. 2580 อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันประเทศไทยยังคงมีกำลังการผลิตเอทานอลที่ 5.97 ล้านลิตรต่อวัน แบ่งเป็นสัดส่วนเอทานอลที่ผลิตมาจากกากน้ำตาลร้อยละ 65 และ เอทานอลที่ผลิตมาจากมันสำปะหลังร้อยละ 35 โดยเฉพาะการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังภายในประเทศไทยมีการผลิตเป็นเอทานอลเพียงร้อยละ 51.2 เนื่องจากต้นทุนในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังแพงกว่าต้นทุนในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล ดังนั้น การลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังต่อลิตร จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการสนับสนุนนโยบายการพัฒนาพลังงานทดแทนของประเทศไทย และถูกระบุในประเด็นในการขับเคลื่อนด้านการพัฒนาเทคโนโลยีและองค์ความรู้สำหรับแผน AEDP2018 อีกด้วย (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน 2563).

ชุดโครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังด้วยการนำเอากากส่ามันสำปะหลัง (Cassava Stillage Residue) มาผ่านกระบวนการเซลล์ูโลสิคเอทานอลเพื่อเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการเลี้ยงหัวเชื้อยีสต์แล้ว นำกลับเข้าสู่กระบวนการผลิตเดิม โดยงานวิจัยนี้เป็นโครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการวิจัยดังกล่าว จึงมุ่งเป้าไปยังขั้นตอนการปรับสภาพ (Pretreatment) เนื่องจากขั้นตอนดังกล่าวจะส่งผลในการลดความเป็นผลึกของวัสดุเซลลูโลสเพิ่มพื้นที่ผิวชีวมวลในการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ และกำจัดเฮมิเซลลูโลสและทำลายลิกนินที่ปกปิดอยู่ ส่งผลให้สายโซ่เซลลูโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้รวดเร็วและเพิ่มขึ้น จึงมีนัยสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการผลิตเซลล์ูโลสิคเอทานอล (Binod *et al.* 2010) ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากส่ามันสำปะหลัง เพื่อเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับกระบวนการเซลล์ูโลสิคเอทานอลในอนาคต.

## 1.2 สภาพปัญหา/ความต้องการของกลุ่มเป้าหมายที่จะนำผลงานไปใช้ประโยชน์/ที่จะรับการถ่ายทอด

กากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง (Cassava Stillage Residue) เป็นกากของแข็งอุตสาหกรรมเกษตรที่ระหว่างกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากมันสำปะหลัง โดยได้จากการแยกกากตะกอน (Residue) และ น้ำเสีย (Waste water) ออกจากกันด้วยเครื่องแยกน้ำและกาก (Separator) โดยปกติแล้วน้ำเสียจะถูกส่งเข้าสู่กระบวนการผลิตไบโอแก๊สเพื่อผลิตเป็นพลังงานกลับเข้าสู่กระบวนการผลิต และส่วนที่เป็นกากจะถูกส่งขายให้กับผู้ประกอบการผลิตอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตามเนื่องจากคุณค่าทางโภชนาการต่ำและองค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสสูงของกากตะกอนมันสำปะหลังจึงไม่เหมาะที่จะนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่นเดียวกับกากตะกอนหลังการกลั่นของเมล็ดพืช (Dried Distiller's Grains; DDGs) ทำให้เป็นการขายวัตถุดิบของเสียออกจากโรงงานในราคาต่ำ (Cookman and Glatz 2009).

โดยปัจจุบันประเทศไทยมีกำลังการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง 2.09 ล้านลิตรต่อวัน โดยคิดเป็นผลพลอยได้กระบวนการผลิตกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง ประมาณ 2,000 ตันต่อวัน หรือมากกว่า 750,000 ตันต่อปี โดยมีความชื้นร้อยละ 70 – 80 (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2564) ซึ่งกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังเป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสถูกบรรจุหนาแน่นโดยชั้น (Layer) ของลิกนินซึ่งปกป้องเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากการย่อยสลายของเอนไซม์ ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องมีขั้นตอนการปรับสภาพเพื่อทำลายลิกนินที่ปกปิดอยู่ เพื่อให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสสามารถรวมกิจกรรมกับเอนไซม์ได้ อย่างไรก็ตามเทคโนโลยีในการปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลสยังไม่เป็นที่ชัดเจนว่าวิธีการไหนดีที่สุดและต้องคำนึงถึงรูปแบบในการเข้าทำลายขององค์ประกอบภายในวัสดุลิกโนเซลลูโลสควบคู่ไปกับองค์ประกอบภายในวัสดุลิกโนเซลลูโลสแต่ละชนิด ดังนั้น กระบวนการปรับสภาพจึงมีนัยสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการทั้งระบบและเป็นกุญแจสำคัญที่จะบรรลุเป้าหมายในการผลิตเซลลูโลสเอทานอล คือ ใช้พลังงานน้อยที่สุดและราคาถูกที่สุด (Yang and Wyman 2008).

อย่างไรก็ตาม งานวิจัยที่ผ่านมาของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วิชญ์ ปั้นพันธ์ และคณะ 2561 และ Chang and Holtzaple 2000) โดยเฉพาะกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง (Cassava Stillage Residue) และกากชานอ้อย (Bagasse) ซึ่งเป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่เป็นผลพลอยได้ของโรงงานผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทย ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องหาวิธีการในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังเพื่อพัฒนาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับกระบวนการเซลลูโลสเอทานอล.

### 1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังสำหรับกระบวนการผลิต เซลลูลอสิกเอทานอล.

### 1.4 ขอบเขตของโครงการ

ใช้กากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง หลังการกลั่นและแยกน้ำเป็นวัตถุดิบในการศึกษา โดยเปลี่ยนวิธีการในการปรับสภาพวัตถุดิบ และหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีการออกแบบการทดลอง (Design of Experiment).

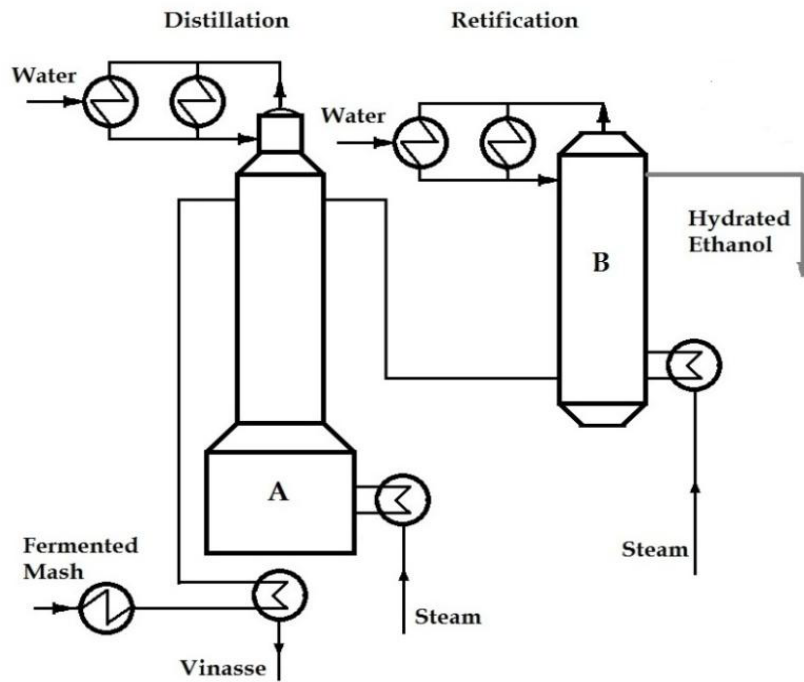
### 1.5 การทบทวนวรรณกรรม

ในปัจจุบันวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลในประเทศไทยมีอยู่เพียง 2 แบบ คือ วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ อ้อย (Sugarcane) หัวบีทรูท (Sugar Beet) หญ้าหวาน (Sweet Grass) เป็นต้น และวัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง เป็นต้น โดยวัตถุดิบซึ่งมีศักยภาพในการผลิตเอทานอลในประเทศไทยมีอยู่ 2 ชนิด คือ กากน้ำตาล และมันสำปะหลัง งานวิจัยนี้จะเจาะจงเฉพาะมันสำปะหลังเท่านั้น โดยมันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต โดยมีรากเป็นส่วนเก็บสะสมคาร์โบไฮเดรต โดยหัวมันสำปะหลังส่วนใหญ่จะถูกส่งเข้าสู่โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง และเปลี่ยนเป็นมันอัดเม็ด หรือมันเส้น เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมปศุสัตว์ และอุตสาหกรรมเอทานอล เป็นต้น โดยสิ่งที่เรียกรวมๆ ว่า กากมันสำปะหลัง (Cassava Waste) สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ ได้มาจาก 2 กระบวนการ คือ

กากมันสำปะหลังที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง (Cassava Bagasse) หรือ เส้นใยมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังที่ถูกแยกออกจากการสกัดแยกแป้งมันสำปะหลังด้วยน้ำ โดยกากมันสำปะหลังจะถูกส่งเข้าสู่เครื่องอัดกากและนำไปตากแดดบนพื้นซีเมนต์ กากแห้งนี้จะถูกส่งขายไปยังโรงงานผลิตอาหารสัตว์ หรือใช้ในการเพาะเห็ดต่อไป (Srinorakutara *et al.* 2006).

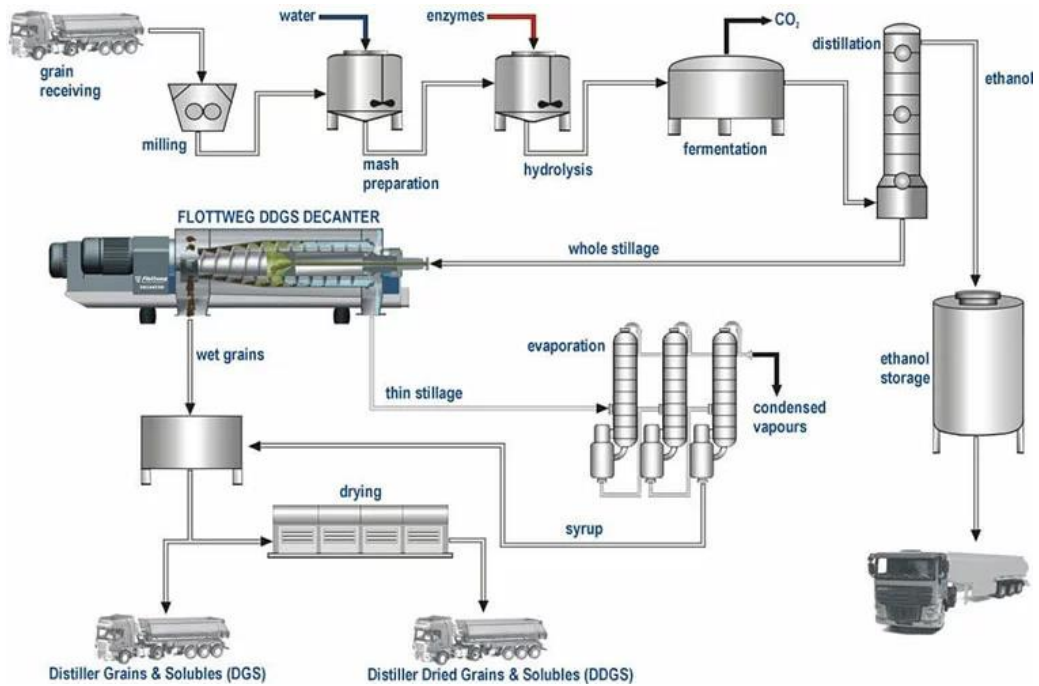
กากมันสำปะหลังที่ได้จากกระบวนการผลิตเอทานอล (Cassava Stillage Residue) ที่ได้จากกระบวนการผลิตเอทานอล ซึ่งจะผ่านกระบวนการที่แตกต่างจากกากมันสำปะหลังที่ได้จากโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านกระบวนการทางเคมี โดยในกระบวนการผลิตเอทานอลมันสำปะหลัง จะมีการทำให้เกิดเจล (Gelatinization) เป็นขั้นตอนแรกในการย่อยสลายแป้ง เนื่องจาก จากว่า ในสภาวะปกติเอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับพันธะเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลน้ำตาลในแป้งได้ด้วยเหตุนี้จึงต้องทำการทำให้เกิดเจล หรือการทำให้โมเลกุลของแป้งเกิดการบวมตัวด้วยน้ำร้อน (88 องศาเซลเซียส) จึงเป็นสิ่งจำเป็นก่อนทำการย่อยด้วยเอนไซม์ โดยปัจจุบันนิยมใช้เครื่องนึ่งแรงดัน (Jet Cooker) โดยในเครื่องดังกล่าวไอน้ำจะถูกฉีดเข้าไปใส่สเลอร์โดยตรง โดยรักษาอุณหภูมิที่

105 - 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 - 15 วินาที ด้วยความร้อนและแรงดันไอน้ำจะทำให้เกิดเจลอย่างสมบูรณ์ ก่อนที่จะส่งเข้าสู่ขั้นตอนการทำให้เหลว (Liquefaction) โดยกระบวนการนี้จะใช้เอนไซม์อัลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) ในการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) สายโซ่พอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้ความหนืดของ สเลอรี่ลดลงผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือ เด็กซ์ทริน (Dextrin) หรือ พอลิเมอร์สายโซ่สั้น ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลน้อยกว่า 10 โมเลกุล ซึ่งเกิดจากสายโซ่อะไมโลสและอะไมโลแพกทิน ถูกย่อยกลายเป็นสายโซ่สั้นๆ ปัจจุบันขั้นตอนการทำให้เกิดเจลและการทำให้เหลวจะทำพร้อมกัน โดยเติมเอนไซม์อัลฟา-อะไมเลสในสเลอรี่ก่อนเข้าสู่เครื่องนี้แรงดัน ก่อนเข้าสู่ขั้นตอนในการทำหวานหรือแซ็กคาไรฟิเคชัน (saccharification) จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) หรืออะไมโลกลูไซเดส (amylglucosidase) เพื่อย่อยเด็กซ์ทรินกลายเป็นกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมัก ปัจจุบันนิยมในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลพร้อมๆ กับการเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอล (simultaneous saccharification and fermentation; SSF) ด้วยเชื้อยีสต์ *saccharomyces cerevisiae* โดยเชื้อยีสต์จะทำการเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลหก ได้แก่ กลูโคส ฟรักโทส และกาแล็กโทส ให้กลายเป็นเอทานอลด้วยกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) ระหว่างนี้จะมีการคายความร้อนและปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากกระบวนการหมัก โดยขั้นตอนนี้จะใช้เวลา 48 - 72 ชั่วโมง โดยทั่วไปน้ำหมักที่ได้จากกระบวนการหมักจะประกอบด้วยน้ำเอทานอล และองค์ประกอบอื่นๆ เช่น น้ำตาลซึ่งไม่สามารถหมักได้ (Non-fermentable sugar) โอลิโกแซ็กคาไรด์ ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายที่ไม่สมบูรณ์ในขั้นตอนการทำหวาน (Saccharification) กลีเซอรอล (ปฏิกิริยาข้างเคียงของยีสต์) กรดแล็กติกและกรดแอซิดิก (เกิดจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ) คาร์บอนไดออกไซด์ และองค์ประกอบอื่นๆ อย่างไรก็ตามในน้ำหมักปกติจะมีองค์ประกอบหลัก คือ น้ำและเอทานอล ปัจจุบันสำหรับการกลั่นของผสมเอทานอลและน้ำด้วยหอกลั่นนั้นจะประกอบด้วย หอกลั่น 2 หอ เรียกว่า หอกลั่นที่ 1 หรือ Concentration column และหอกลั่นที่ 2 หรือ Rectification column ในหอกลั่นที่ 1 น้ำหมักจะถูกป้อนเข้ากลางหอกลั่นที่ 1 โดยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเกิดจากกระบวนการหมักจะระเหยขึ้นด้านบน ภายใต้ความดันสุญญากาศ 0.1 - 0.5 มิลลิบาร์ ส่วนเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 35 - 50 จะถูกดึงออกกลางหอกลั่นที่ 1 เข้าสู่หอกลั่นที่ 2 ส่วนด้านล่างหอจะได้น้ำกากสา (Stillage หรือ Vinasses) ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยน้ำกากสาที่เหลือด้านล่างหอจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นของแข็งและของเหลว ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกส่งเข้าสู่เครื่องแยกกากและน้ำ (Separator) เช่น เครื่องอัดกรอง (Filter Press) เครื่องปั่นแยก (Turbo Separator) หรือ เครื่องรีดตะกอน (Decanter) ซึ่งแต่ละแบบจะมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันไป ส่วนน้ำเสีย (Waste Water) โดยทั่วไปแล้วจะถูกนำไปบำบัดน้ำเสียด้วยระบบผลิตไบโอแก๊ส ส่วนตะกอนกากสำมะปริง (Cassava Stillage Residue) จะถูกนำไปกำจัด หรือขายต่อให้กับอุตสาหกรรมอื่นต่อไป (Cardona, 2010) ดังแสดงในรูปที่ 2.



(กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2564)

รูปที่ 1. การกลั่นเอทานอลและน้ำด้วย 2 หอกั่น คือ A) Concentration column  
B) Rectification column.



(Cardona, 2010)

รูปที่ 2. การจัดการน้ำสำจากกระบวนการผลิตเอทานอล.



นอกจากนี้ยังมีผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตรในการผลิตมันสำปะหลัง เช่น เหง้ามันสำปะหลัง (Cassava Stem) ใบมันสำปะหลัง (Cassava Leaves) และเปลือกมันสำปะหลัง (Cassava Peels) ที่ถูกเรียกรวมๆ ว่า ของเสียจากอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง (Cassava Waste) โดยผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมมันสำปะหลังจะมีองค์ประกอบแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. องค์ประกอบทางเคมีของผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง

| Cassava Composition | Stillage Residue         | Bagasse                     | Stems                    | Leaves | Peels |
|---------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------|-------|
| %Cellulose          | 24.93                    | 35.57                       | 22.8                     | 17.3   | 29.84 |
| %Starch             | ND.                      | 61.19                       | 15.00                    | 2.43   | 14.17 |
| %Hemicellulose      | 16.03                    | 5.36                        | 28.8                     | 27.65  | 23.4  |
| %Lignin             | 15.74                    | 4.53                        | 22.1                     | 20.1   | 10.88 |
| %Crude Protein      | 14.17                    | 1.78                        | 3.68                     | 19.96  | 5.29  |
| %Ash                | 0.37                     | 2.27                        | 1.9                      | 2.5    | 3.7   |
| Reference           | Cui <i>et al.</i> (2014) | Ortega <i>et al.</i> (2018) | Pooja and Padmaja (2015) |        |       |

จากตารางจะสังเกตเห็นได้ว่าผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมมันสำปะหลังทั้งหมด มีองค์ประกอบของแป้งติดอยู่ในโครงสร้างเนื่องจากไม่สามารถนำเอาโมเลกุลของแป้งออกมาด้วยกระบวนการทางกล (Mechanical Technique) โดยเฉพาะเหง้าและใบมันสำปะหลังที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการใดๆ แต่เก็บได้จากพื้นที่เพาะปลูกทำให้มีหลายงานวิจัยพยายามที่จะเอาผลพลอยได้จากมันสำปะหลังดังกล่าวมาผลิตน้ำตาลเพื่อกระบวนการทางชีวภาพ ดังนี้

### 1.5.1 การผลิตน้ำตาลจากกากมันสำปะหลังจากโรงงานแปรงมันสำปะหลัง (Cassava Bagasse)

Srinorakutara *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์และการหมักเอทานอลจากกากมันสำปะหลังจากโรงงานแปรงมันสำปะหลัง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมสามารถผลิตความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ได้ร้อยละ 8.92 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 3.62 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ประสิทธิภาพการหมักร้อยละ 91.

Gaewchingduang and Pengthemkeerati (2010) ได้ทำการศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพของกากมันสำปะหลังด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล (Hydrothermal) หรือ

การระเบิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ (Stream Explosion) สภาวะร้อยละ 2 ของแข็งที่อุณหภูมิ 115–130 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 15–90 นาที พบว่า อุณหภูมิที่สูง และระยะเวลาที่มากขึ้น จะช่วยทำให้ประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสสูงขึ้น อย่างไรก็ตามนักวิจัยได้ให้ความเห็นว่า อาจส่งผลต่อผลพลอยได้ที่ไม่เป็นที่ต้องการและส่งผลกระทบต่ออาหารหมักได้ โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ 0.535-0.570 มิลลิกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ต่อกรัมกากมันสำปะหลัง.

Ortega *et al.* (2018) ได้ทำการศึกษาผลของเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz.) ที่ส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบและโครงสร้างของกากมันสำปะหลัง พบว่า องค์ประกอบของแป้งในโครงสร้างถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส (Licquozyme Supra 2.2X) และ เอนไซม์เซลลูเลส (celluSEB) ร้อยละ 29.98 โดยใช้สัดส่วนของแข็งต่อของเหลว (1:15) และความ เป็นผลึกของกากมันสำปะหลังลดลง.

Yu *et al.* (2018) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย ด้วยเอนไซม์อะไมเลสด้วยการไฮโดรไลซิสกรดที่ความเข้มข้นต่ำแบบสองขั้นตอน (ขั้นตอนที่ 1 กรด ซัลฟิวริกร้อยละ 0.01 ขั้นตอนที่ 2 กรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.05) โดยทำการปรับเปลี่ยนวิธีการในการ ไฮโดรไลซิส พบว่า มีประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสไซโลสและกลูโคสเท่ากับร้อยละ 82.40 และ 72.98 ตามลำดับ ณ สภาวะการไฮโดรไลซิส 2 ขั้นตอน ขั้นตอนที่ 1 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ขั้นตอนที่ 2 อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 190 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 10 นาที โดยไม่พบสารหน่วงปฏิกิริยาการหมักในการไฮโดรไลซิสด้วยกรด.

### 1.5.2 การผลิตน้ำตาลจากเหง้าและใบมันสำปะหลัง (Cassava Stem and Leaves)

Han *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยกรดด้วยวิธีการ ออกแบบการทดลอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง คือ อุณหภูมิใน การทำปฏิกิริยาที่ 177 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 10 นาที และความเข้มข้นกรด 0.14 โมลาร์ โดยหลังจากการปรับสภาพที่สภาวะดังกล่าว แล้วทำการไฮโดรไลซิสที่ปริมาณเอนไซม์ เซลลูเลส 20 หน่วยกระดาษากรองต่อกรัม และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 30 หน่วยต่อกรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง แล้วทำการหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้ความเข้มข้น 7.55 กรัมต่อลิตร.

Pooja and Padmaja (2015) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพ เหง้า ใบ และเปลือกมัน สำปะหลังระหว่างการปรับสภาพด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล การปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับคลื่น ไมโครเวฟ และการปรับสภาพด้วยกรด พบว่า การปรับสภาพด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล เป็นเวลา 30 นาที ให้ประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสดีที่สุด.

Kouteu Nanssou *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพ เหง้าและเปลือกมันสำปะหลัง พบว่า สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสของเปลือกและเหง้า

มันสำปะหลังได้เท่ากับร้อยละ 39.84 และ 55.4 ตามลำดับ โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำไฮโดรเทอร์มอลเท่ากับ 223 และ 224 องศาเซลเซียส เวลาในการทำปฏิกิริยา 50.3 และ 52.1 นาที และร้อยละของแข็งเท่ากับ 11.48 และ 10.7 ตามลำดับ.

Sivamani and Baskar (2018) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลังด้วยการปรับสภาพด้วยกรดออกซาลิก พบว่า การปรับสภาพด้วยกรดออกซาลิกที่สภาวะที่เหมาะสมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสได้ร้อยละ 34 สามารถผลิตเป็นเอทานอลได้เท่ากับ 0.32 กรัมเอทานอลต่อกรัมเหง้ามันสำปะหลัง โดยใช้ท่อยูลินทรีย์ร่วมระหว่าง *Kluyveromyces marxianus* และ *Klebsiella oxytoca*.

Pooja et al. (2018) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจาก เหง้า ใบ และเปลือกมันสำปะหลัง ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและเบสร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ พบว่า การปรับสภาพด้วยเบสร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ 53.75 41.29 และ 57.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สามารถผลิตเป็นเอทานอลได้เท่ากับ 24.86 กรัมต่อลิตร.

### 1.5.3 การผลิตน้ำตาลจากเปลือกมันสำปะหลัง (Cassava Peels)

Olanbiwoninu and Odunfa (2012) ได้ทำการศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกมันสำปะหลังโดยใช้วิธีการในการปรับสภาพที่แตกต่างกัน พบว่า การปรับสภาพเปลือกมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก 0.1 โมลาร์ อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่า สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสด้วยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* และ *Aspergillus terreus* ได้ถึงร้อยละ 88 และ 98 ตามลำดับ โดยคำนวณประสิทธิภาพจากความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในสภาวะควบคุ่ม.

Aruwajoye et al. (2017) ได้ทำการศึกษาวิธีการปรับสภาพร่วมระหว่างการแช่ (Soaking) ด้วยกรด และการปรับสภาพด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล พบว่า ที่การแช่กรดที่อุณหภูมิ 69.62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.57 ชั่วโมง แล้วไฮโดรเทอร์มอลด้วยกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 3.68 เป็นเวลา 5 นาที โดยใช้ร้อยละของแข็งเท่ากับร้อยละ 9.65 จะสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ 0.93 กรัม น้ำตาลต่อกรัมเปลือกมันสำปะหลัง โดยที่มีสัดส่วนของสารหน่วงปฏิกิริยาการหมักน้อยมาก.

Aruwajoye et al. (2019) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสของเปลือกมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสภาวะที่เหมาะสมตามงานวิจัยของ Aruwajoye et al. (2017) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ 0.58 กรัม น้ำตาลต่อกรัมเปลือกมันสำปะหลัง โดยใช้เปลือกมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้วร้อยละ 10.16 ปริมาณเอนไซม์อะไมเลส 125.30 หน่วยต่อกรัม ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 74.06 หน่วยต่อมิลลิลิตร และเอนไซม์เซลลูเลส ร้อยละ 2.34.

#### 1.5.4 การผลิตน้ำตาลจากกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอล (Cassava Stillage Residue)

Liao *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยวิธีการเชิงกล โดยใช้เครื่องบดแบบลูกบอล พบว่า การปรับสภาพด้วยวิธีการเชิงกลดังกล่าวสามารถลดความเป็นผลึกของกากมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญ และพลังงานพันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างเพิ่มขึ้น.

Cui *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยวิธีการของเหลวไอออนิก (1-butyl-3-methyl imidazolium chloride) พบว่า กากตะกอนน้ำมันสำปะหลังที่ทำการปรับสภาพแล้วมีอัตราการไฮโดรไลซิสสูงกว่าการไม่ทำการปรับสภาพอย่างมีนัยสำคัญ.

Lu *et al.* (2017) ได้ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยวิธีการไฮโดรเทอร์มอล พบว่า อุณหภูมิในการปรับสภาพที่ 193 องศาเซลเซียส ของแข็งร้อยละ 11.4 เป็นเวลา 51 นาที สามารถผลิตเอทานอลจากกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังได้เท่ากับ 69.5 มิลลิกรัมเอทานอลต่อกรัมกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง.

จากงานวิจัยที่ผ่านมาทั้งหมด พบว่า มีความสนใจการนำผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำตาลเพื่อเป็นสารตั้งต้นสำหรับกระบวนการโดยเน้นไปที่กากมันสำปะหลังที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ส่วนการผลิตน้ำตาลจากกากมันสำปะหลังจากโรงงานเอทานอลหรือกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังมีการศึกษาอยู่เล็กน้อยดังทราบมาแล้ว และยังไม่มีความรู้ในการปรับสภาพมากพอที่จะมีศักยภาพในเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้ยังนิยมทำการศึกษการผลิตแก๊สมีเทนร่วมกับแก๊สไฮโดรเจนจากวัตถุดิบดังกล่าว (Luo *et al.* 2010a, Luo *et al.* 2010b, Luo *et al.* 2010c, Zhang *et al.* 2011, Wang *et al.* 2012a, Wang *et al.* 2012b และ Cheng *et al.* 2015) เพราะสามารถผนวกเข้ากับระบบผลิตไบโอแก๊สเดิมได้ โดยไม่นิยมมาผ่านกระบวนการเซลล์ลูโลสิกมากนัก ประกอบกับงานวิจัยที่ผ่านมาของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วิษณุ ปั้นพันธุ์ และคณะ, 2561) และงานวิจัยตามปริทัศน์ดังกล่าวมาแล้ว ไม่สามารถตอบโจทย์ในการปรับสภาพชีวมวลที่มีองค์ประกอบลิกนินสูงได้ (มากกว่าร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก) ดังนั้น วิธีการในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง (Cassava Stillage Residue) เพื่อพัฒนาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับกระบวนการเซลล์ลูโลสิก เอทานอล.

## 2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

### 2.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

#### 2.1.1. กากตะกอนน้ำมันลำปะหลัง

แหล่งที่มาของกากตะกอนน้ำมันลำปะหลัง จาก บริษัท ทรัพย์ทิพย์ จำกัด จังหวัดลพบุรี เป็น กากตะกอนน้ำมันลำปะหลังที่เก็บหลังจากผ่านกระบวนการกลั่นและปั่นแยกด้วยเครื่องแยกกากและ น้ำเสียเรียบร้อยแล้ว นำมาเก็บรักษาในตู้แช่เย็น อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดลอง.

#### 2.1.2. เอนไซม์

เอนไซม์เซลลูเลส ของบริษัท Novozyme จำกัด โดยมีชื่อทางการค้า Cellic® CTec2 โดยมี กิจกรรมเท่ากับ 864.15 หน่วยกระดาษากรองต่อมิลลิลิตร วัดด้วยวิธี Filter Paper Activity ที่พีเอช 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ของบริษัท Novozyme จำกัด โดยมีชื่อทางการค้า Liquozyme® SC DS

เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ของบริษัท Novozyme จำกัด โดยมีชื่อทางการค้า Spirizyme® Fuel

#### 2.1.3 สารเคมี

|                                     |                          |
|-------------------------------------|--------------------------|
| Sodium Hydroxide                    | บริษัท Ajax Finechem     |
| 3,5-Dinitrosalicylic acid           | บริษัท Merck             |
| Sodium potassium tartrate           | บริษัท Merck             |
| DNS (Dinitrosalicylic acid) reagent | (วิธีเตรียมตามภาคผนวก ก) |

#### 2.2.4 เครื่องมือวัดและอุปกรณ์ทำการทดลอง

- เครื่องวัดความชื้น รุ่น MX-50 ยี่ห้อ AND บริษัท A & D จำกัด (มหาชน)
- เครื่องชั่ง รุ่น Sartorius Basic
- เครื่องปั่นเหวี่ยง รุ่น UNIVERSAL 32 บริษัท BECTHAI
- เครื่องเขย่า (Incubator shaker) รุ่น VS-8480SFN บริษัท VISION SCIENTIFIC
- เครื่อง GC รุ่น 689N บริษัท Agilent Technologies
- เครื่อง Spectrophotometer รุ่น UVIKONxs บริษัท Bangkok High LAB
- กล้องจุลทรรศน์ CK II Inverted Microscope (Olympus, USA)
- ตู้ปลอดเชื้อ Biological Safety Cabinet (Haier, China)
- เครื่องนึ่งความดันเพื่อใช้ฆ่าเชื้อ (Autoclave; Tomy, Japan)
- เครื่องกรองน้ำ Milli Q และทำน้ำกลั่น
- ตู้บลมร้อนแบบมีพัดลม Binder FED series
- เครื่องปฏิกรณ์ความดันสูง Parr

## 2.2 กิจกรรมที่ดำเนินงานวิจัย

### 2.2.1 การศึกษาองค์ประกอบกากตะกอนสำสำปะหลัง

กากตะกอนสำสำปะหลังจะถูกนำไปวิเคราะห์ความชื้นและองค์ประกอบของ เซลลูโลส ลิกนินเฮมิเซลลูโลส และเถ้าด้วยวิธีการ AOAO (1990) และทำการวิเคราะห์ปริมาณแบ่งด้วยวิธีการ Glucoamylase method AACC (1990).

### 2.2.2. การไฮโดรไลซิวกากตะกอนสำสำปะหลังด้วยระบบเอนไซม์ร่วม

เตรียมกากตะกอนสำสำปะหลังด้วยการวัดความชื้นแล้วเติมน้ำกลั่นเพิ่มในกาก ตะกอน สำสำปะหลัง โดยกำหนดสัดส่วนกากตะกอนสำสำปะหลังเท่ากับร้อยละ 15 โดยน้ำหนักกาก ตะกอนสำสำปะหลังต่อปริมาตรของเหลว แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์เบื้องต้นตามสภาวะการ ทดลองที่แนะนำตามแต่ละเอนไซม์ โดยทำการเปลี่ยนแปลงขั้นตอนในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ ชนิดต่างๆ และมีรายละเอียดในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เบื้องต้นของแต่ละเอนไซม์ ดังนี้

เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) เติมปริมาณเอนไซม์ 50 FPU ต่อกรัมกากตะกอนสำสำปะ หลัง แล้วแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที.

เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส (alpha-amylase) เติมปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก เอนไซม์ต่อน้ำหนักกากตะกอนสำสำปะหลัง แล้วแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที.

เอนไซม์กลูโค อะไมเลส (Gluc-Amylase) เติมปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0.6 โดยน้ำหนัก เอนไซม์ต่อน้ำหนักกากตะกอนสำสำปะหลัง แล้วแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที.

แล้วนำกากสำสำปะหลังที่ทำการย่อยเบื้องต้นเรียบร้อยแล้วตามขั้นตอนที่ออกแบบการ ทดลองไว้ในตารางที่ 2 มาทำการย่อยต่อในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว รอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำของเหลวที่ได้ไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงแยก ของแข็ง นำของเหลวไปวัดค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี DNS Methods (Scherz and Bonn 1998).

### 2.2.3 ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยไอน้ำของกากตะกอนสำสำปะหลัง

นำกากตะกอนสำสำปะหลังมาทำการวิเคราะห์ความชื้น เพื่อหาสัดส่วนของของแข็ง และของเหลวภายในกากตะกอนสำสำปะหลัง มาเติมน้ำกลั่นเพิ่มเติม โดยแปรร้อยละของแข็งต่อ ของเหลวเท่ากับ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 โดยน้ำหนัก แล้วนำของผสมดังกล่าวเข้าทำปฏิกิริยาใน หม้อต้มแรงดันสูง (Parr) โดยแปรอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 120, 140, 160, 180 และ 200

องศาเซลเซียส โดยคงอุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 15 นาที แล้วทิ้งให้เย็นข้ามคืน แล้วบีบแยกสารละลายออกจากของแข็งด้วยเครื่องคั้นน้ำกะทิโดยจะมีความชื้นอยู่ประมาณร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก แล้วนำของแข็งดังกล่าว ไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ Cellic® CTEC 2 ความเข้มข้น 50 FPU ต่อกรัมสารตั้งต้น สกัดส่วนของแข็งต่อของเหลวเท่ากับร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก นำเข้าเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวไปทำการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีการ Dinitrosalicylic acid (DNS) (Scherz and Bonn, 1998).

## ตารางที่ 2 ขั้นตอนในการไฮโดรไลซิสเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ

| การทดลอง | ขั้นตอนการไฮโดรไลซิสเบื้องต้น |               |             |
|----------|-------------------------------|---------------|-------------|
| 0        | ไม่มีการเติมเอนไซม์เบื้องต้น  |               |             |
| 1        | Cellulase                     | -             | -           |
| 2        | Alpha-Amylase                 | -             | -           |
| 3        | Glucosylase                   | -             | -           |
| 4        | Cellulase                     | Alpha-Amylase | -           |
| 5        | Cellulase                     | Glucosylase   | -           |
| 6        | Alpha-Amylase                 | Cellulase     | -           |
| 7        | Glucosylase                   | Cellulase     | -           |
| 8        | Cellulase                     | Alpha-Amylase | Glucosylase |
| 9        | Alpha-Amylase                 | Glucosylase   | Cellulase   |

### 2.2.4 ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง

นำกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังมาทำการวิเคราะห์ความชื้น เพื่อหาสัดส่วนของแข็งและของเหลวภายในกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง มาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยแปรความเข้มข้นร้อยละ 0, 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 โดยน้ำหนัก และแปรร้อยละของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 5, 15, และ 25 โดยน้ำหนัก แล้วนำของผสมดังกล่าวเข้าทำปฏิกิริยาในหม้อต้มแรงดันสูง (Parr) โดยแปรอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 50, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 และ 230 องศาเซลเซียส โดยคงอุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 15 นาที แล้วทิ้งให้เย็นข้ามคืน แล้วบีบแยกสารละลายออกจากของแข็งด้วยเครื่องคั้นน้ำกะทิโดยจะมีความชื้นอยู่ประมาณร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก แล้วนำของแข็งดังกล่าว ไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ Cellic® CTEC 2 ความเข้มข้น 50 FPU ต่อกรัมสารตั้งต้น สกัดส่วนของแข็งต่อของเหลวเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก นำเข้าเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวไปทำการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีการ Dinitrosalicylic acid (DNS) (Scherz and Bonn 1998).

## 2.2.5 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยเบสของกากมันสำปะหลังการออกแบบการทดลองด้วยวิธีการออกแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design)

ใช้ Box-Behnken Design ในการออกแบบการทดลองปัจจัย 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาร้อยละของกากมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา และความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการทำปฏิกิริยาตามที่ได้ออกแบบไว้ โดยใช้ช่วงที่เหมาะสมจากการออกแบบการทดลองจากหัวข้อที่ 2.2.4 โดยใช้หม้อต้มความดัน (Auto-clave) แล้วบีบแยกสารละลายออกจากของแข็งด้วยเครื่องคั้นน้ำกะทิ ซึ่งนำหนักและวัดความชื้น แล้วนำของแข็งดังกล่าว ไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ Cellic® CTEC 2 ความเข้มข้น 50 FPU ต่อกรัมสารตั้งต้น สัดส่วนของแข็งต่อของเหลวเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก นำเข้าเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวไปทำการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีการ Dinitrosalicylic acid (DNS) (Scherz and Bonn 1998) แล้วทำการเพื่หาร้อยละของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพดังสมการที่ 1 และหาร้อยละเปลี่ยนแปลงจากการไฮโดรไลซิสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง หลังการปรับสภาพ ดังสมการที่ 2.

$$\text{ร้อยละของแข็งหลังปรับสภาพ (\%Residue)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของแข็งหลังการปรับสภาพ} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของของแข็งเริ่มต้น}} \quad (1)$$

$$\text{ร้อยละการเปลี่ยนแปลง (\%Conversion)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้} \times 100}{\text{ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่คำนวณวัดได้เริ่มต้น}} \quad (2)$$

## 2.2.6 ศึกษาการขยายขนาดในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง

ใช้สภาวะการปรับสภาพที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองการออกแบบการทดลองในหัวข้อ 2.2.6 บีบแยกสารละลายออกจากของแข็งด้วยเครื่องคั้นน้ำกะทิ ซึ่งนำหนักและวัดความชื้นเพื่หาร้อยละของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพ แล้วนำของแข็งดังกล่าว ไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ Cellic® CTEC 2 ความเข้มข้น 50 FPU ต่อกรัมสารตั้งต้น สัดส่วนของแข็งต่อของเหลวเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก นำเข้าเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวไปทำการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีการ Dinitrosalicylic acid (DNS) (Scherz and Bonn 1998).

## 2.3 เป้าหมายในการดำเนินงานวิจัย

2.3.1 หาวิธีการปรับสภาพที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง

2.3.2 หาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง



### 2.3.3 ศึกษาการขยายขนาดและคุณภาพของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง หลังการปรับสภาพ

### 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

#### 3.1 การศึกษาองค์ประกอบกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง

กากตะกอนน้ำมันสำปะหลังถูกนำไปวิเคราะห์ความชื้นและองค์ประกอบของ เซลลูโลส ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเถ้าด้วยวิธีการ AOAC (1990) แต่เนื่องด้วยวิธีการดังกล่าว ไม่ตอบโจทย์ในการวิเคราะห์หาปริมาณแป้งในระบบ เนื่องจากทำให้ได้ค่าการวิเคราะห์เกินจริง ดังนั้น งานวิจัยนี้จะทำการวิเคราะห์ปริมาณแป้งด้วยวิธีการ Glucoamylase method ACCC (1990) โดยได้ผลการวิเคราะห์ ดังแสดงตารางที่ 3.

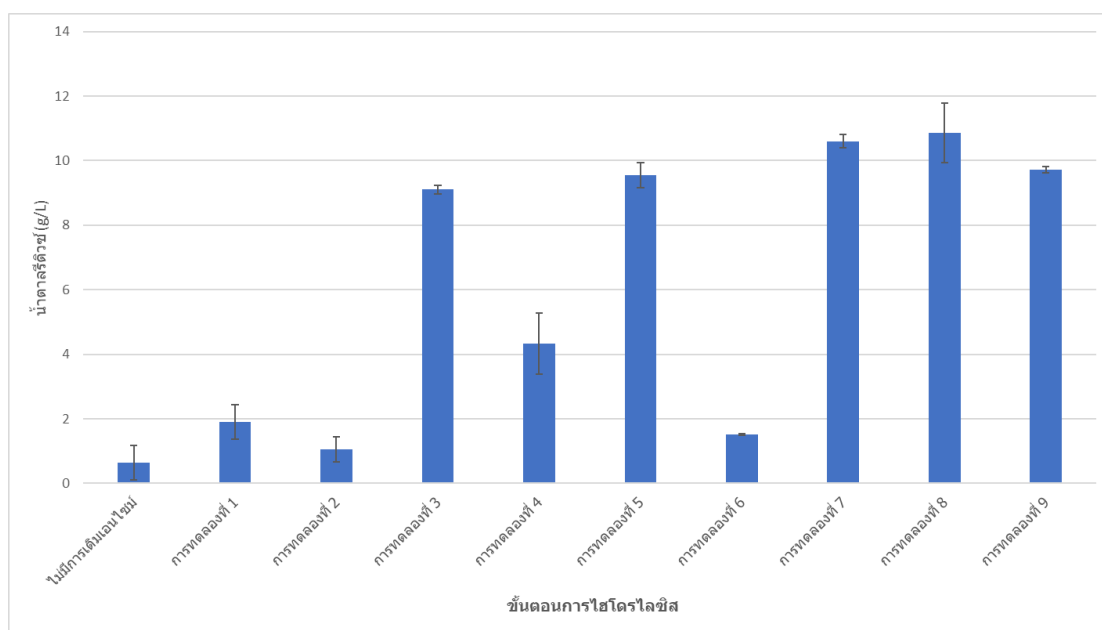
ตารางที่ 3. องค์ประกอบกากสำปะทอน้ำมันสำปะหลัง

| องค์ประกอบ    | ร้อยละ     | วิธีการวิเคราะห์ |
|---------------|------------|------------------|
| Moisture      | 82.91±1.48 | AOAC (1990)      |
| Cellulose     | 29.35±1.05 | AOAC (1990)      |
| Hemicellulose | 2.08±0.35  | AOAC (1990)      |
| Lignin        | 19.76±0.02 | AOAC (1990)      |
| Ash           | 12.13±0.33 | AOAC (1990)      |
| Starch        | 1.72±0.02  | ACCC (1990)      |

กากตะกอนน้ำมันสำปะหลังมีองค์ประกอบหลักของเส้นใยเป็นเซลลูโลสร้อยละ 29.35±1.05 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Cui *et al.* (2014) ที่ร้อยละ 24.93 น้ำหนักแห้ง และมีองค์ประกอบลิกนินใกล้เคียงกันเท่ากับ 19.76±0.02 และ 16.03 น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เนื่องจากเป็นองค์ประกอบที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วยกระบวนการไฮโดรไลซิสจากเอนไซม์ภายใต้กระบวนการผลิตเอทานอล ส่วนสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยงานวิจัยนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ได้เท่ากับร้อยละ 2.08±0.35 โดยน้ำหนักแห้ง แต่งานวิจัยของ Cui *et al.* (2014) มีเฮมิเซลลูโลสสูงถึง ร้อยละ 16.03 โดยน้ำหนักแห้ง อาจจะเป็นเนื่องจากโรงงานผลิตเอทานอลในประเทศไทยมีการใช้เอนไซม์ลดความหนืดภายในระบบการผลิต ซึ่งจะทำให้เกิดการย่อยสลายโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสออกมาบางส่วนด้วย ตรงกันข้ามกับองค์ประกอบเถ้าของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังจากงานวิจัยของ Cui *et al.* (2014) มีปริมาณเถ้าเพียงร้อยละ 0.37 ตรงกันข้ามกับกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังในงานวิจัยนี้ที่มีปริมาณเถ้าสูงถึงร้อยละ 12.13±0.33 เนื่องจากจากมันสำปะหลังเส้นในประเทศไทยค่อนข้างมีทรายสูงทำให้เหลือออกจากกากตะกอนจากการผลิตด้วย ส่วนปริมาณแป้งมีเหลืออยู่ในกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังร้อยละ 1.72±0.02 โดยน้ำหนักแห้ง.

### 3.2 การไฮโดรไลซิสกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยระบบเอนไซม์ร่วม

การทดลองการไฮโดรไลซิสกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังมีสมมุติฐานว่ากระบวนการผลิตเอทานอลจะส่งผลกระทบต่อโครงสร้างของเส้นใยภายในโครงสร้างมันสำปะหลัง ทำให้เกิดรูพรุนที่เอนไซม์จะสามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยทำการไฮโดรไลซิสเบื้องต้นตามสภาวะที่แนะนำไว้จากเอกสารการใช้งาน (Application Sheet) ตามที่ออกแบบไว้ ดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 3.



รูปที่ 3. ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ของการไฮโดรไลซิสแต่ละการทดลอง.

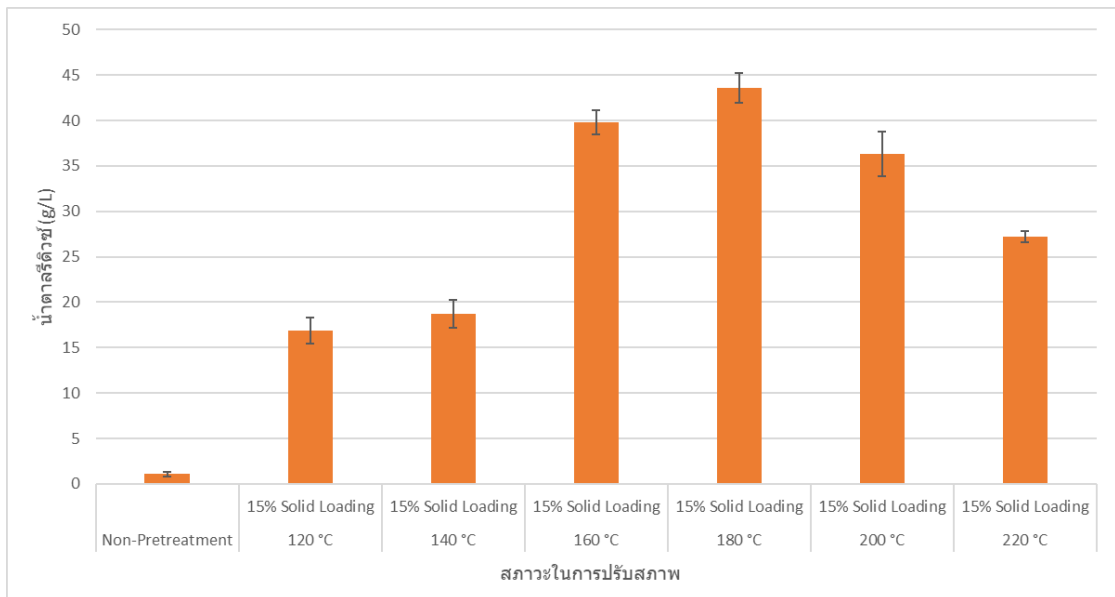
พบว่า การทดลองที่ 3, 5, 7, 8 และ 9 มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ใกล้เคียงกันเท่ากับ  $9.11\pm 0.10$ ,  $9.56\pm 0.39$ ,  $10.60\pm 0.21$ ,  $10.85\pm 0.92$  และ  $9.72$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทั้งหมดมีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งทำหน้าที่ในการย่อยสลายสายโซ่แซ็กคาไรด์หรือโมเลกุลของแป้งที่ผ่านความร้อนกลายเป็นลักษณะอสัณฐานแล้ว ส่วนการเติมเอนไซม์เซลลูเลสจะช่วยเสริมให้มีการไฮโดรไลซิสสายโซ่เซลลูโลสเพียงเล็กน้อย เช่นการทดลองที่ 1, 4 และ 6 ซึ่งสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $1.91\pm 0.53$ ,  $4.34\pm 0.95$  และ  $1.51\pm 0.03$  ตามลำดับ เพราะส่วนใหญ่เป็นผลึกและถูกปกคลุมด้วยโครงสร้างของลิกนินที่แข็งแรงทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนการใช้เอนไซม์อัลฟาอะไมเลสเพียงอย่างเดียวในการทดลองที่ 2 ได้ผลการทดลองใกล้เคียงกับการไม่เติมเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวมีหน้าที่ตัดโครงสร้างแป้งเป็นโอลิโกเมอร์และส่วนใหญ่ถูกทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้เอนไซม์เพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการผลิตน้ำตาลจากกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง.

### 3.3 ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยไอน้ำของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง

การระเบิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ (Steam Explosion) หรือวิธีการไฮโดรเทอร์มอล (Hydrothermal) คือ การปรับสภาพวัสดุเซลลูโลสโดยใช้ไอน้ำเพิ่มอุณหภูมิและความดันให้อยู่ในสภาวะความดันสูงเป็นเวลาสั้นๆ ทำให้พันธะพอลิเมอร์ของเฮมิเซลลูโลสบางส่วนถูกทำลาย อย่างไรก็ตามก็จะทำให้เกิดสารประกอบที่มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ส่งผลไปยังกระบวนการหมัก โดยงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาปัจจัยของวิธีการไฮโดรเทอร์มอล 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความชื้นภายในระบบได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้.

#### 3.3.1 ผลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (Reaction Temperature)

อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาจะส่งผลโดยตรงต่อความดันภายในระบบ โดยงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาอุณหภูมิในการทำการไฮโดรเทอร์มอลในช่วง 120 – 220 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงในการวิจัยจากงานวิจัยที่ผ่านมา (Pooja and Padmaja, 2015, Koueu Nanssou *et al.* 2016 และ Lu *et al.* 2017) โดยจะนำเอาของแข็งที่ได้จากกระบวนการปรับสภาพไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ได้ผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.



รูปที่ 4. ผลของอุณหภูมิในการปรับสภาพด้วยการระเบิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ.

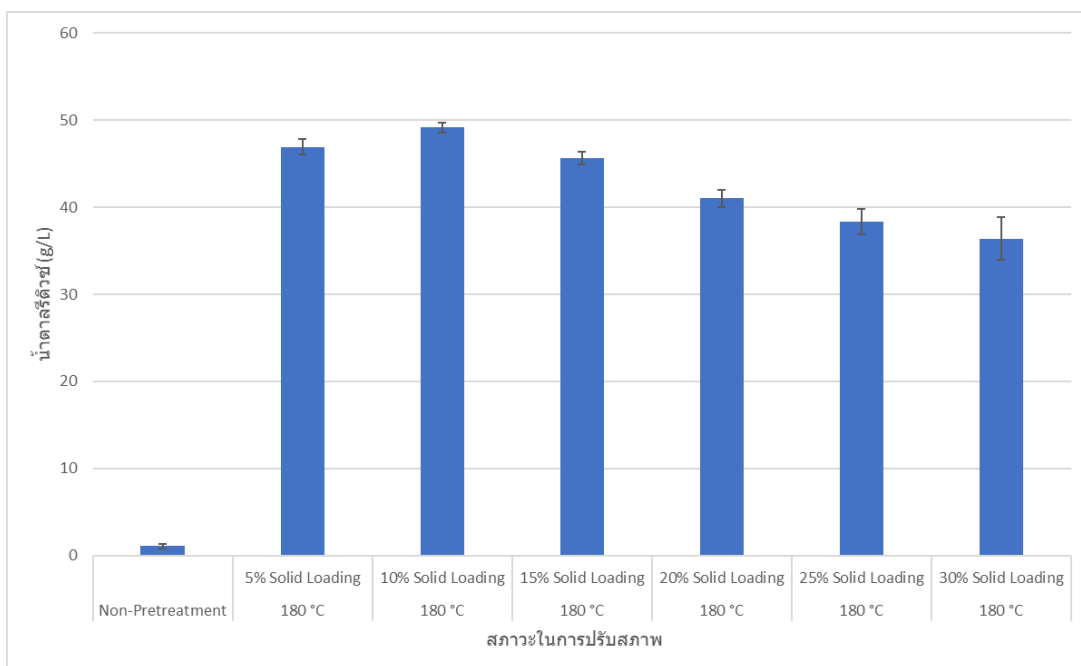
สังเกตได้ว่าการทำการระเบิดโครงสร้างกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยไอน้ำจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตั้งแต่อุณหภูมิ 120, 140, 160 และสูงสุดที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 180 องศาเซลเซียส โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $16.83 \pm 1.44$ ,  $18.71 \pm 1.51$ ,  $39.79 \pm 1.63$  และ  $43.57 \pm 1.63$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยใช้ร้อยละของแข็งต่อสารละลายเท่ากับร้อยละ 15 โดย

น้ำหนัก และหลังจากนั้นที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 200 และ 220 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเท่ากับ  $36.33 \pm 2.45$  และ  $27.23 \pm 0.67$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เนื่องมาจากที่อุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดการเผาไหม้ที่สภาวะไร้อากาศทำให้เส้นใยลิกโนเซลลูโลสกลายเป็นคาร์บอนแข็งแทนการเกิดรูพรุน (วิชญ์ ปันพันธ์ และคณะ, 2561) ซึ่งให้ผลการทดลองเช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Lu *et al.* (2017) ที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมเท่ากับ 193 องศาเซลเซียส โดยแตกต่างจากงานวิจัยของ Koueu Nanssou *et al.* (2016) ที่ช่วงการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมเท่ากับ 220 องศาเซลเซียส ซึ่งเกิดการหาสภาวะที่เหมาะสมของงานวิจัยที่ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลโมลกุลต่ำในการบ่งบอกประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิส แทนการพิจารณาถึงคุณภาพของของแข็งที่เหลือจากกระบวนการปรับสภาพที่ใช้ในกระบวนการถัดไป ส่วนงานวิจัยของ Pooja and Padmaja (2015) เป็นการทำการทดลองไฮโดรเทอร์มอลที่อุณหภูมิต่ำโดยใช้กรดร่วมในการทำปฏิกิริยาซึ่งจะช่วยในการไฮโดรไลซิสร่วมกับประกอบเฮมิเซลลูโลส.

### 3.3.2 ผลร้อยละของแข็งต่อของเหลว (Solid Loading)

ร้อยละของแข็งต่อของเหลวจะส่งผลต่อการถ่ายเทสารผลิตภัณฑ์จากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลส ซึ่งถ้าการถ่ายเทสารผลิตทำได้ง่ายเนื่องจากของเหลวในระบบมากเกินไป แต่อย่างไรก็ตามร้อยละของแข็งต่อของเหลวจะส่งผลโดยตรงกับต้นทุนในการสร้างปฏิกรณ์การปรับสภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาร้อยละของแข็งต่อของเหลวในช่วงร้อยละ 5 – 30 โดยอ้างอิงจากงานวิจัยที่ผ่านมา (Pooja and Padmaja 2015, Koueu Nanssou *et al.* 2016 และ Lu *et al.* 2017) ประกอบกับต้องการเพิ่มสัดส่วนของแข็งในระบบเพื่อลดขนาดปฏิกรณ์ในการทำการปรับสภาพ โดยใช้อุณหภูมิจากการทดลองผลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 180 องศาเซลเซียส โดยจะนำเอาของแข็งที่ได้จากกระบวนการปรับสภาพไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเช่นเดียวกับการทดลองที่ผ่านมาได้ผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 5.

สังเกตได้ว่าการทำการระเบิดโครงสร้างกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยไอน้ำจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นจากร้อยละของแข็งต่อของเหลวที่ร้อยละ 5, 10 และ 15 โดยน้ำหนักสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $46.93 \pm 0.85$ ,  $49.14 \pm 0.57$  และ  $45.63 \pm 0.71$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยหลังจากนั้นเมื่อเพิ่มร้อยละของแข็งต่อของเหลวจะทำให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงที่ร้อยละ 20 25 และ 30 โดยน้ำหนัก จะได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ  $41.01 \pm 0.99$ ,  $38.33 \pm 1.45$  และ  $36.40 \pm 2.41$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งร้อยละของแข็งต่อของเหลวเท่ากับร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ซึ่งได้ผลการทดลองใกล้เคียงกับการทดลองของ Koueu Nanssou *et al.* (2016) และ Lu *et al.* (2017) เท่ากับร้อยละ 10.7 และ 12.5 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ.



รูปที่ 5. ผลของร้อยละของแข็งในการปรับสภาพด้วยการระเบิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ.

จากผลการทดลอง พบว่า ผลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส และร้อยละของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 10 โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $49.14 \pm 0.57$  กรัมต่อลิตร โดยใช้ของแข็งหลังการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก โดยสามารถคำนวณการร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) ได้เพียงร้อยละ 29.48 จึงสามารถสรุปได้ว่าการทำการระเบิดโครงสร้างด้วยไอน้ำไม่เพียงพอต่อการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง.

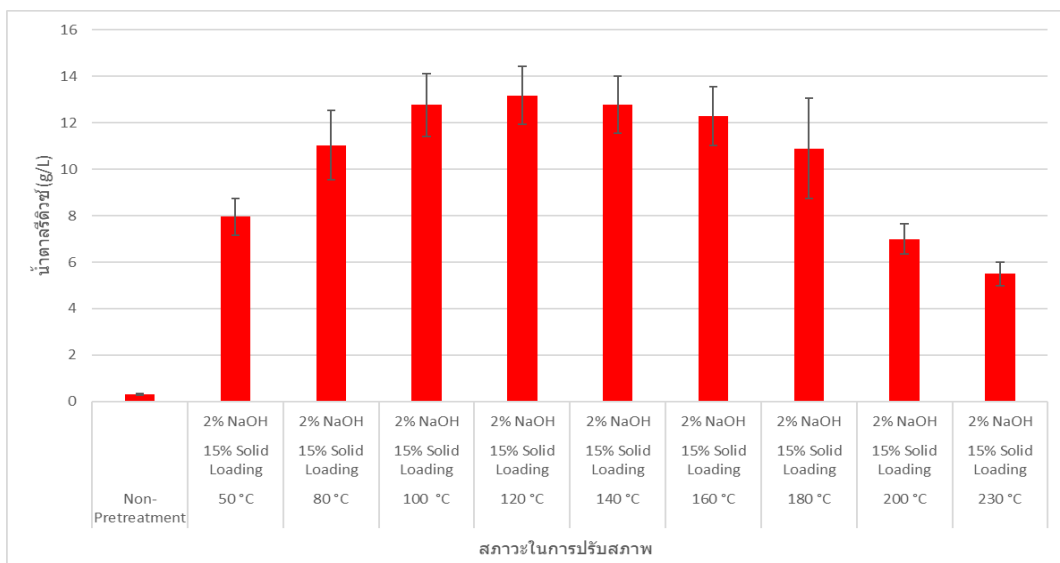
### 3.4 ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง

การปรับสภาพด้วยเบส คือ การใช้สารละลายที่เป็นเบสในการกำจัดลิกนินและบางส่วนของเฮมิเซลลูโลส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าถึงเซลลูโลสของเอนไซม์ การปรับสภาพด้วยเบสมีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสอย่างมีนัยสำคัญ โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่ปรากฏการใช้เบสในการย่อยสลายโครงสร้างของผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง สันนิษฐานว่าเกิดจากการที่การกู้คืน (Recovery) น้ำตาลไซโลส และน้ำตาลกลูโคส ซึ่งได้มาจากการย่อยสลายโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส และโมเลกุลของแป้ง ตามลำดับ แต่เนื่องจากวัตถุดิบกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส และแป้งปริมาณน้อยมาก ดังนั้น งานวิจัยนี้จะทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ร้อยละของแข็งต่อของเหลว และความเข้มข้นของเบสในการทำปฏิกิริยา มีผลการทดลอง ดังนี้

### 3.4.1 ผลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (Reaction Temperature)

ในการศึกษาอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา นั้นจะทำการแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังเท่ากับ 50, 80, 120, 140, 160, 180, 200 และ 240 องศาเซลเซียส พบว่าช่วงอุณหภูมิ 80, 100, 120, 140, 160 และ 180 องศาเซลเซียส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ใกล้เคียงกันที่  $11.04 \pm 1.48$ ,  $12.77 \pm 1.34$ ,  $12.77 \pm 1.23$ ,  $13.18 \pm 1.24$ ,  $12.29 \pm 1.27$  และ  $10.89 \pm 2.1$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 6 ซึ่งแตกต่างจากการทดลองที่ผ่านมาของ (Wu *et al.* 2011a และ Wu *et al.* 2011b) ที่ระบุว่าในระยะเวลาที่มากเพียงพอ การทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องก็สามารถทำปฏิกิริยาปรับสภาพด้วยเบสได้ อาจจะเนื่อง มาจากร้อยละขององค์ประกอบลิกนินในงานวิจัยนี้สูงกว่างานวิจัยที่ผ่านมาทำให้ความเป็นผลึกของลิกโนเซลลูโลสสูงและยากต่อการเข้าถึง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chang and Holtzapple (2000) ที่แสดงผลอย่างชัดเจนว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งผลที่ดีต่อการปรับสภาพด้วยเบส เพราะจะเห็นได้ชัดว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เพียง  $7.95 \pm 0.80$  กรัมต่อลิตร ส่วนอุณหภูมิ 200 และ 230 องศาเซลเซียส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $6.99 \pm 0.65$  และ  $5.49 \pm 0.50$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยแนวโน้มการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง เนื่องมาจากในสภาวะที่มีความเข้มข้นเบสและอุณหภูมิสูงอาจจะทำให้เกิดการย่อยสลายของสายโซ่เซลลูโลส หรืออาจจะเกิดการเผาไหม้กลายเป็นคาร์บอนเช่นเดียวกันกับการปรับสภาพด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิมากกว่า 200 องศาเซลเซียส.

จึงสามารถสรุปได้ช่วงอุณหภูมิที่ 80–180 องศาเซลเซียส เป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยเบส โดยที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ให้ผลการทดลองที่ดีที่สุด จึงเลือกอุณหภูมิดังกล่าวในการทดลองในปัจจัยต่อไป.

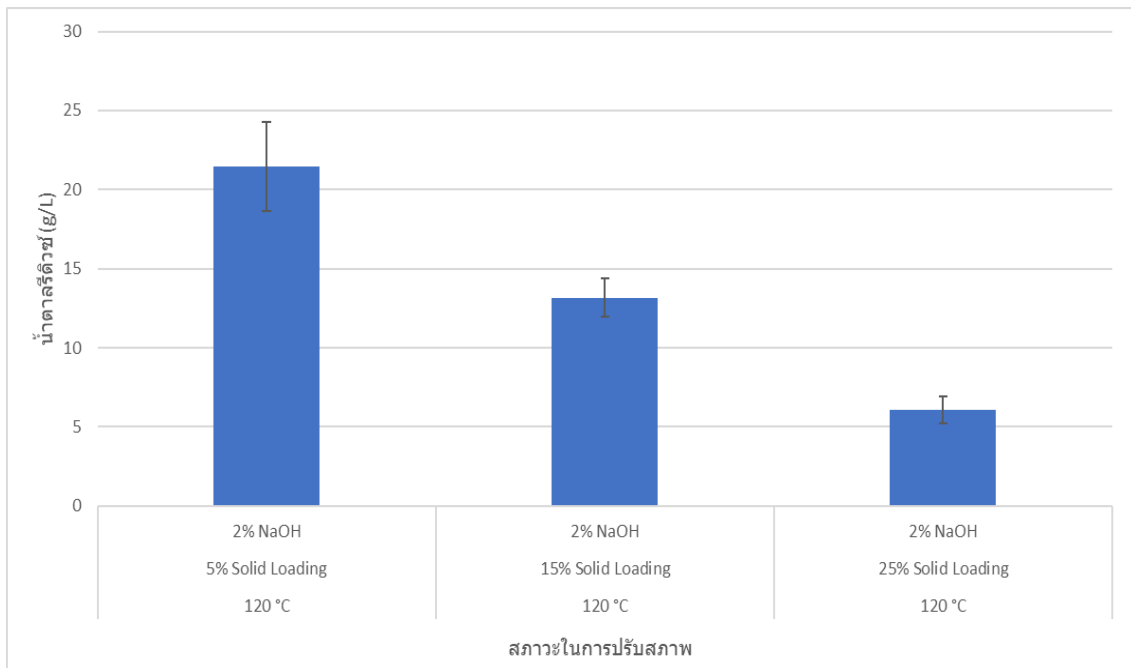


รูปที่ 6. ผลของอุณหภูมิในการปรับสภาพด้วยเบส.

### 3.4.2 ร้อยละของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา (Percent Solid Loading)

ในการศึกษาร้อยละของกากมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา จะทำการแปรร้อยละของแข็งที่ใช้ในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังเท่ากับร้อยละ 5, 15, และ 25 โดยน้ำหนัก จากผลการทดลอง พบว่า การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงตามร้อยละตะกอนน้ำมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ  $21.45 \pm 2.81$ ,  $13.18 \pm 1.24$  และ  $6.08 \pm 0.87$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 7 เนื่องจากร้อยละของกากมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลโดยตรง เนื่องมาจากเมื่อของแข็งในระบบเพิ่มขึ้นจะทำให้ของเหลวอิสระภายในระบบลดลง ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนิน นอกจากนี้ในระบบที่ทำการศึกษาไม่มีการกวนผสมทำให้ร้อยละของแข็งในระบบส่งผลอย่างชัดเจน และเมื่อเกิดการย่อยสลายของสายโซ่ลิกนินยังทำให้เกิดสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดการหน่วงปฏิกิริยาของสารผลิตภัณฑ์อีกด้วย ซึ่งตรงกับงานวิจัยที่ผ่านมา (Jancker – Obermeier *et al.* 2012, Wu *et al.* 2011a, Wu *et al.* 2011b และ McIntosh and Vancov 2010)

จึงสามารถสรุปได้ว่ายิ่งการเพิ่มของแข็งในระบบจะทำให้ประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสลดลงอย่างไรก็ตามการที่ใช้สัดส่วนของแข็งในระบบน้อยมาก จะส่งผลต่อขนาดปฏิกรณ์ปรับสภาพที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ดังนั้น อ้างอิงจากงานวิจัยที่ผ่านมา (Jancker – Obermeier *et al.*, 2012; Wu *et al.* 2011a, Wu *et al.* 2011b และ McIntosh and Vancov, 2010) ที่มีสภาวะที่เหมาะสมร้อยละของแข็งต่อของเหลวในระบบที่ร้อยละ 5 – 15 โดยน้ำหนัก และงานวิจัยนี้จะเลือกเอาร้อยละของแข็งที่สูงที่สุดในการทดลองขั้นตอนต่อไป.



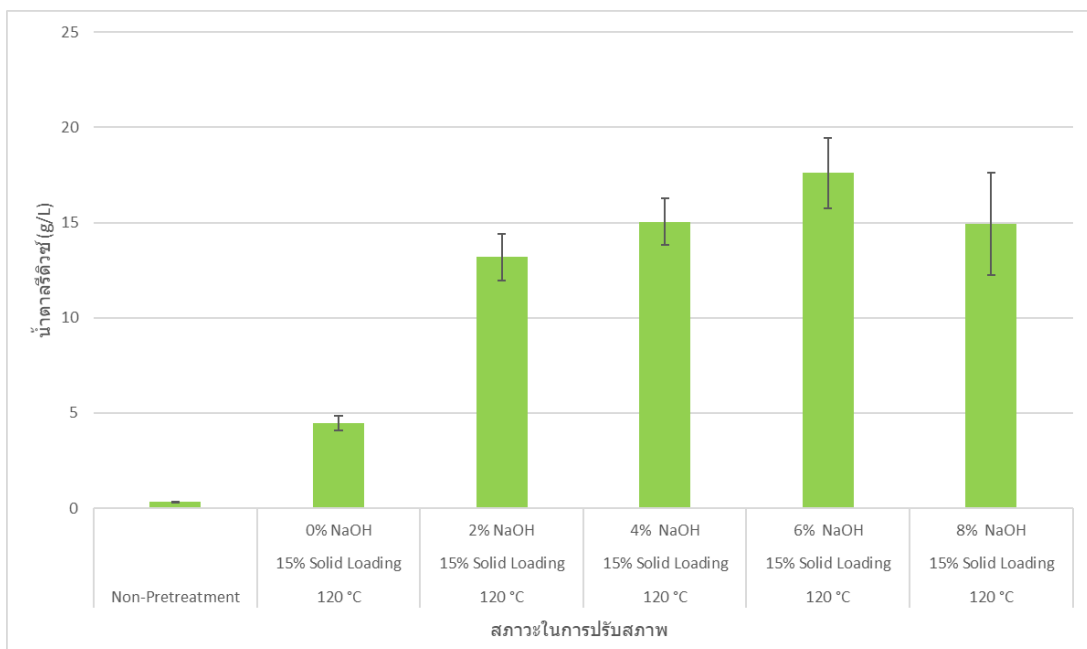
รูปที่ 7. ผลของร้อยละของแข็งในการปรับสภาพด้วยเบส.



### 3.4.3 ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการทำปฏิกิริยา (NaOH Concentration)

ในการศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการทำปฏิกิริยาจะทำการทดลองโดยแปรความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ 0, 2, 4, 6 และ 8 พบว่า เมื่อทำการปรับสภาพด้วยเบสที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น จะทำให้การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ทำได้อัตราสูงขึ้นและเริ่มคงที่ ณ ช่วงร้อยละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 – 8 โดยมีผลของความเข้มข้น ดังแสดงในรูปที่ 8 ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยที่ผ่านมาที่ระบุว่าแนวโน้มประสิทธิภาพการปรับสภาพด้วยเบสจะเพิ่มขึ้นจนถึงโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 แล้วแนวโน้มเริ่มคงที่ เนื่องจากสารเคมีซึ่งเข้าทำปฏิกิริยาเพียงพอต่อการเข้าทำปฏิกิริยา (Janker – Obermeier *et al.* 2012; Wu *et al.* 2011a, Wu *et al.* 2011b และ McIntosh and Vancov, 2010) อาจจะเนื่องมาจากร้อยละองค์ประกอบลิกนินในงานวิจัยนี้สูงกว่างานวิจัยอื่น ทำให้ความเข้มข้นของ NaOH ที่เหมาะสมเพิ่มขึ้น.

จึงสามารถสรุปได้ว่าช่วงความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพด้วยเบสต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 4 และดีที่สุดที่ร้อยละ 6 โดยสภาวะอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 120 องศาเซลเซียส ร้อยละของแข็งต่อของเหลวร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และร้อยละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โดยน้ำหนัก โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $17.61 \pm 1.84$  กรัมต่อลิตร โดยสามารถคำนวณการร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) ได้เพียงร้อยละ 31.70 จึงสามารถสรุปได้ว่าสภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง.



รูปที่ 8. ผลของร้อยละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพด้วยเบส.

### 3.5 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยเบสของกากมันสำปะหลังการ

#### ออกแบบการทดลองด้วยวิธีการการออกแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design)

การออกแบบการทดลอง คือ การทดลองเพียงครั้งเดียวหรือต่อเนื่อง โดยทำการเปลี่ยนแปลงค่าตัวแปรนำเข้าในระบบ หรือกระบวนการที่ต้องการศึกษา เพื่อให้สามารถสังเกตและชี้ถึงสาเหตุต่างๆ ที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผลลัพธ์ที่ได้ (Responses) โดยตัวแปรนำเข้าแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ควบคุมได้ (Controllable Variables) และกลุ่มที่ควบคุมไม่ได้ เรียกว่า ตัวแปรที่ควบคุมไม่ได้ (Uncontrollable or Noise Variable) โดยจุดประสงค์ในการออกแบบการทดลองทำขึ้นเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงสถิติของผลลัพธ์ (Output) และตัวแปรนำเข้าที่สามารถควบคุมได้ โดยพยายามใช้ทรัพยากรในการทดลองให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด และเนื่องด้วยเหตุผลนี้การทดลองแต่ละครั้งต้องให้สาระและข้อมูลที่สำคัญที่สุด เช่น ถ้าเรามีสมมุติฐานว่าปัจจัยหนึ่งมีผลต่อปัจจัยอีกตัวหนึ่งในระดับที่แตกต่างกันไป เรียกว่า “ผลของอิทธิพลร่วม” (Interaction) ดังนั้น ในการทดลองเพื่อวิเคราะห์ผลของอิทธิพลร่วมควรทำการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial) มากกว่าการทดลองแบบ One Factor of Time (ประไพศรี สุทัศน์ ณ อยุธยา และ พงศ์ชนัน เหลืองไพบูลย์, 2551).

โดยในงานวิจัยนี้จะใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design) เนื่องจากความประสิทธิภาพในกรณีศึกษา 3 ระดับ โดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการสร้างสมการแบบจำลอง เมื่อมีปัจจัยที่เป็นเชิงปริมาณ และเป็นที่ยอมรับในการหาสภาวะที่เหมาะสมทางกระบวนการชีวภาพจากประสิทธิภาพในการประมาณค่าผลกระทบเชิงเส้น ผลกระทบกำลังสอง และอันตรกิริยาระหว่างปัจจัยได้ทุกค่า.

เมื่อใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนในการออกแบบการทดลองปัจจัย 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ร้อยละของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา และความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการทำปฏิกิริยา จากการทดลองในหัวข้อที่ 2.4 โดยสามารถกำหนดช่วงที่ทำการทดลองได้ดังตารางที่ 4 และได้ผลการทดลองตามที่ได้ออกแบบการทดลองไว้แล้ว ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยทำการวิเคราะห์ผลของการปรับสภาพเป็นร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพ (% Solid Residue) และร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion).

#### ตารางที่ 4. แผนการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยเบส

| Factor                    | -1  | 0   | -1  |
|---------------------------|-----|-----|-----|
| Reaction Temperature (°C) | 105 | 120 | 135 |
| Solid Loading (%w/w).     | 5   | 10  | 15  |
| NaOH Concentration (%)    | 4   | 6   | 8   |

ตารางที่ 5. ผลการทดลองการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันลำปะหลัง

| Run | Temperature<br>(°C) | Solid Loading<br>(%w/w) | NaOH<br>Concentration<br>(%w/w) | Solid<br>Residue<br>(%) | SD    | Conversion<br>(%) | SD    |
|-----|---------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------|-------------------|-------|
| 1   | 105                 | 15                      | 6                               | 56.37                   | ±4.15 | 24.28             | ±2.96 |
| 2   | 120                 | 15                      | 4                               | 45.20                   | ±1.15 | 27.01             | ±1.44 |
| 3   | 120                 | 5                       | 4                               | 33.39                   | ±0.92 | 29.83             | ±0.36 |
| 4   | 120                 | 15                      | 8                               | 36.43                   | ±4.16 | 41.72             | ±1.44 |
| 5   | 105                 | 5                       | 6                               | 42.91                   | ±2.70 | 33.97             | ±0.26 |
| 6   | 120                 | 10                      | 6                               | 44.70                   | ±1.80 | 43.43             | ±3.28 |
| 7   | 120                 | 5                       | 8                               | 31.20                   | ±2.30 | 42.90             | 0.23  |
| 8   | 120                 | 10                      | 6                               | 43.17                   | ±0.25 | 42.50             | ±1.56 |
| 9   | 105                 | 10                      | 8                               | 46.87                   | ±1.17 | 38.98             | ±0.56 |
| 10  | 120                 | 10                      | 6                               | 42.47                   | ±3.80 | 43.83             | ±0.92 |
| 11  | 135                 | 15                      | 6                               | 40.57                   | ±2.29 | 30.30             | ±2.29 |
| 12  | 135                 | 10                      | 4                               | 40.03                   | ±1.45 | 29.16             | ±0.51 |
| 13  | 135                 | 10                      | 8                               | 37.33                   | ±2.15 | 42.13             | ±1.72 |
| 14  | 105                 | 10                      | 4                               | 48.57                   | ±0.47 | 24.56             | ±0.40 |
| 15  | 135                 | 5                       | 6                               | 31.79                   | ±2.16 | 39.26             | 1.38  |

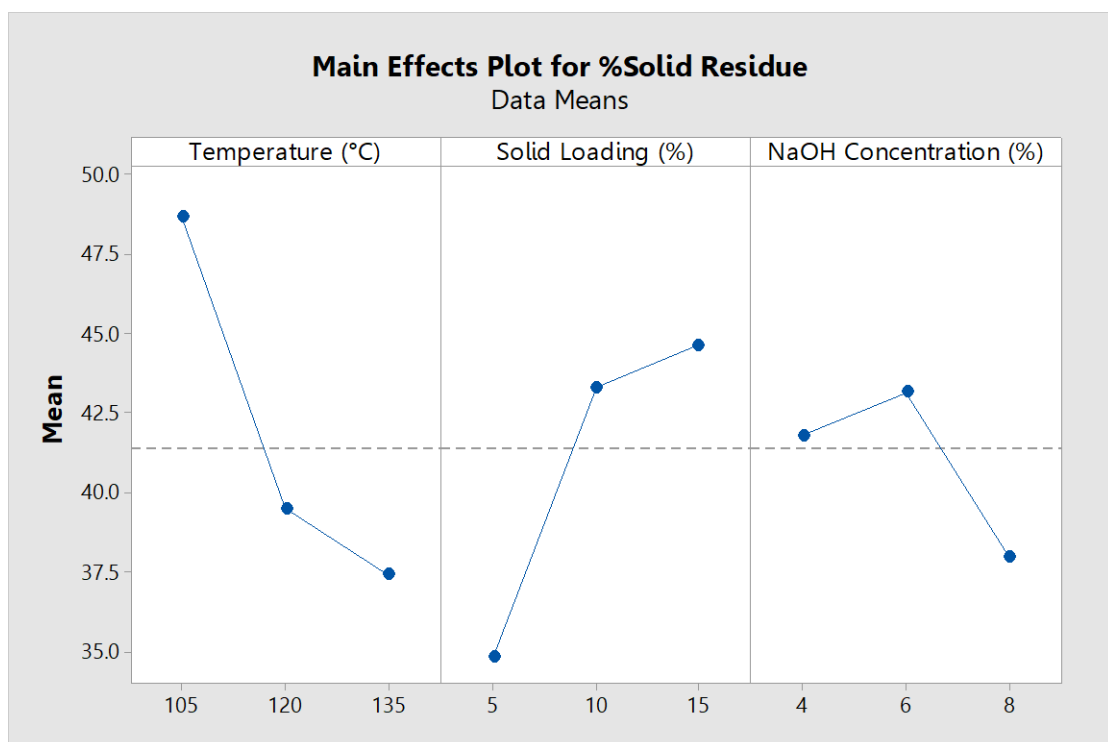
จากตาราง พบว่า การทดลองที่ 6, 8 และ 10 ที่ทำการปรับสภาพด้วยสภาวะเดียวกัน และมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ  $43.43 \pm 3.28$ ,  $42.50 \pm 1.56$  และ  $43.83 \pm 0.92$  โดยมีร้อยละของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ  $44.70 \pm 1.80$ ,  $43.17 \pm 0.25$  และ  $42.47 \pm 3.80$ .

เมื่อนำผลการทดลองมาเขียนกราฟปัจจัยหลัก พบว่า ทุกปัจจัยมีส่งผลต่อร้อยละของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพ (%Solid Residue) และร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ร้อยละของแข็งลดลง เนื่องจากเบสจะสามารถเข้าทำปฏิกิริยาโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสได้มากขึ้น และร้อยละการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึง 120 องศาเซลเซียส แล้วลดลงเนื่องมาจากการที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ความจำเพาะในการทำปฏิกิริยาลดลง อาจจะมีการย่อยสลายสายโซ่เซลลูโลสในกากตะกอนน้ำมันลำปะหลัง ทำให้คุณภาพของแข็งหลังการปรับสภาพลดลงทำ

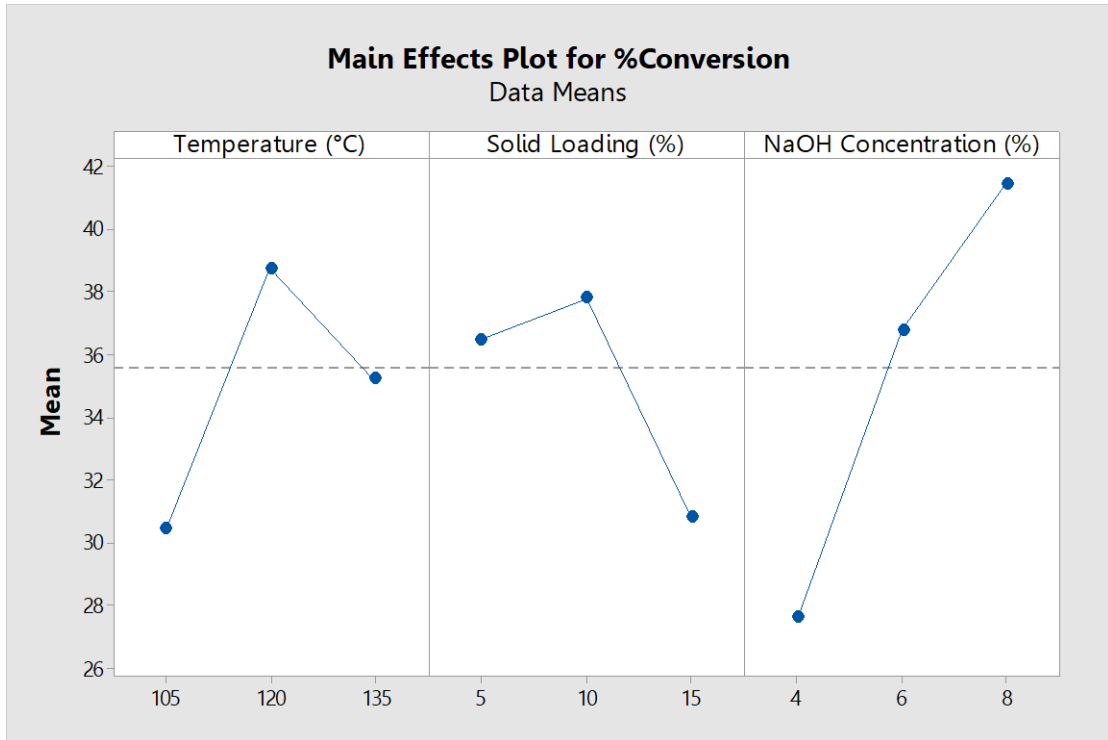
ให้มีร้อยละการเปลี่ยนวัตถุดิบเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ส่วนการเพิ่มขึ้นของร้อยละของแข็งในการปรับสภาพจะทำให้ร้อยละของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อพิจารณาร้อยละการเปลี่ยนแปลง พบว่า เมื่อร้อยละของแข็งในการปรับสภาพเพิ่มขึ้นสูงกว่าร้อยละ 10 จะทำให้ร้อยละการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างชัดเจน เนื่องจากเหตุผลดังที่กล่าวไปแล้ว ส่วนผลความเข้มข้นของเบส พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเพิ่มขึ้นจะทำให้สัดส่วนของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพลดลง เนื่องจากความจำเพาะในการเข้าทำปฏิกิริยาลดลง แต่ร้อยละการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากปริมาณของเซลล์ulos ของของแข็งเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 9 และ 10.

ส่วนผลของอันตรกิริยา (Interaction) ระหว่างปัจจัยที่ส่งผลต่อร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพ (%Solid Residue) พบว่า อันตรกิริยาระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพเป็นลบต่อร้อยละของแข็งที่เหลือ ส่วนอันตรกิริยาระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นของสารละลายเบสเป็นลบต่อร้อยละของแข็งที่เหลือ ส่วนอันตรกิริยาระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นของเบสมิผลเป็นบวก ดังแสดงในรูปที่ 11.

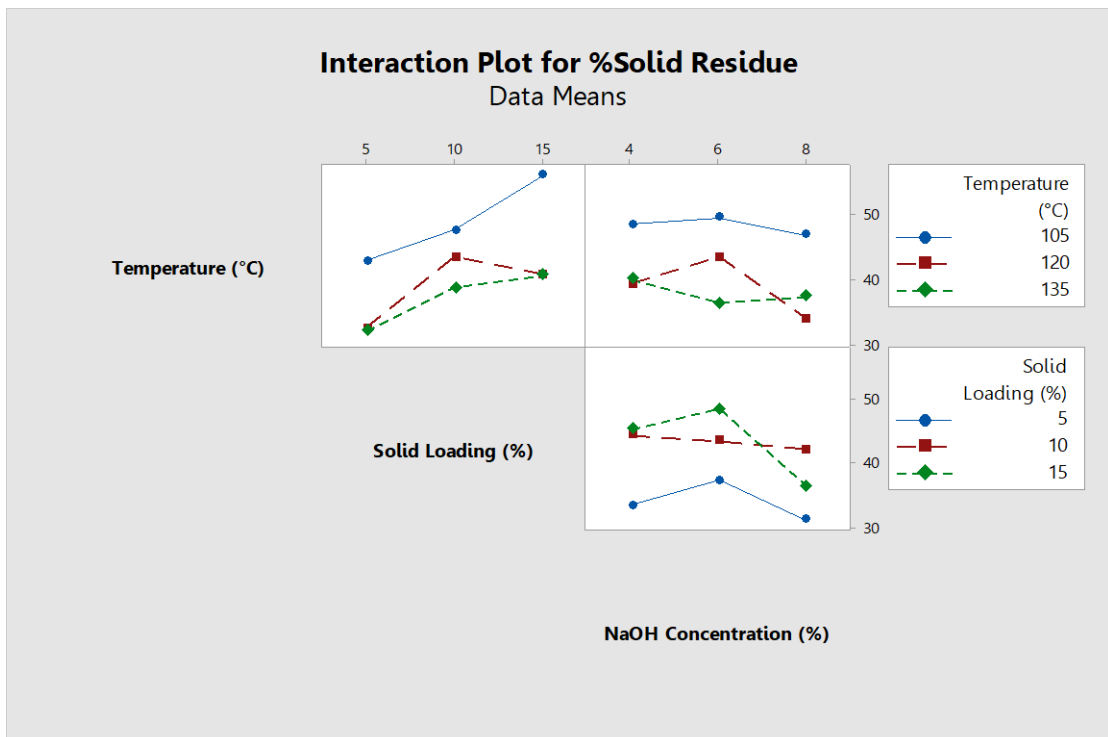
ส่วนผลของอันตรกิริยา (Interaction) ระหว่างปัจจัยที่ส่งผลต่อร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) พบว่า อันตรกิริยาระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพเป็นบวก ส่วนอันตรกิริยาระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นของสารละลายเบสเป็นลบ ส่วนอันตรกิริยาระหว่างอุณหภูมิและความเข้มข้นของเบสมิผลเป็นบวก ดังแสดงในรูปที่ 12.



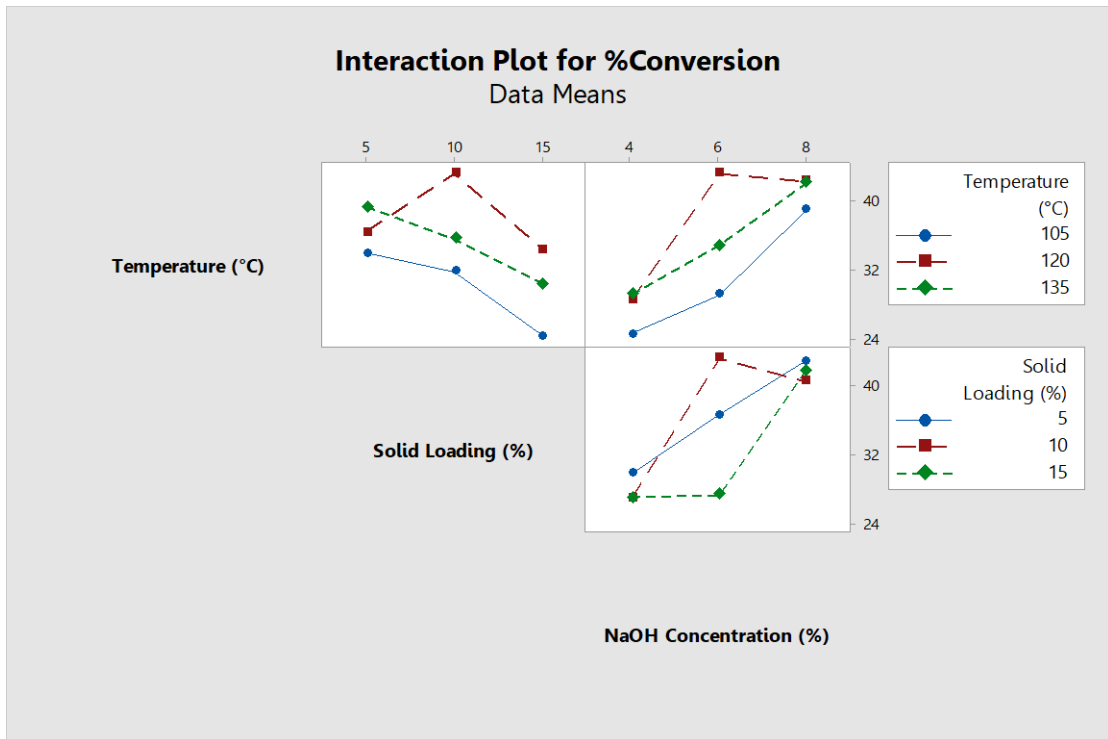
รูปที่ 9. อิทธิพลของปัจจัยหลักทั้ง 3 ปัจจัยที่มีผลต่อร้อยละของแข็ง (%Solid Residue).



รูปที่ 10. อิทธิพลของปัจจัยหลักทั้ง 3 ปัจจัย ที่มีผลต่อร้อยละการเปลี่ยนแปลง %Conversion).



รูปที่ 11. อันตรกิริยาระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพ (%Solid Residue).



รูปที่ 12. อันตรกิริยาระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion).

จากผลการทดลองจะนำเอามาสร้างสมการกำลังสอง (Quadratic) เพื่อทำนายร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพด้วยเบส (%Solid Residue) ของกากตะกอนน้ำมันสำหรับหลัง โดยสมการถดถอยมีค่าวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังแสดงในตารางที่ 6 เมื่อพิจารณา Lack of Fit พบว่า LOF มีค่า P-Value เท่ากับ 0.179 ซึ่งน้อยกว่า 0.1 แสดงว่าสมการที่ใช้ในมีความเหมาะสมที่ใช้ในการทำนายร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพด้วยเบส (%Solid Residue) นั้นมีความเหมาะสม โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9670 และค่า  $R^2_{adj}$  เท่ากับ 0.9077 โดยค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจมีค่าสูงพอที่จะยอมรับสมการในการทำนายร้อยละหลังการปรับสภาพด้วยเบส (%Solid Residue) และสามารถเขียนสมการถดถอยที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพด้วยเบส (%Solid Residue) ดังสมการที่ 3 เมื่อนำสมการที่ได้มาสร้างกราฟเปรียบเทียบในรูปที่ 13 พบว่า ผลการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณมีค่าใกล้เคียงกัน และสามารถวาดกราฟพื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ ดังแสดงในรูปที่ 14 กราฟพื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นของสารละลายเบส ดังแสดงในรูปที่ 15 และกราฟพื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นของเบส ดังแสดงในรูปที่ 16.

$$\begin{aligned} \%Solid\ Residue = & 201.2 - (3.43X) + (6.71Y) + (11.58Z) + (0.01357X^2) - (0.1437Y^2) \\ & - (0.825Z^2) - (0.0156XY) - (0.0083XZ) - (0.165YZ) \end{aligned} \quad \text{-----}(3)$$

เมื่อ

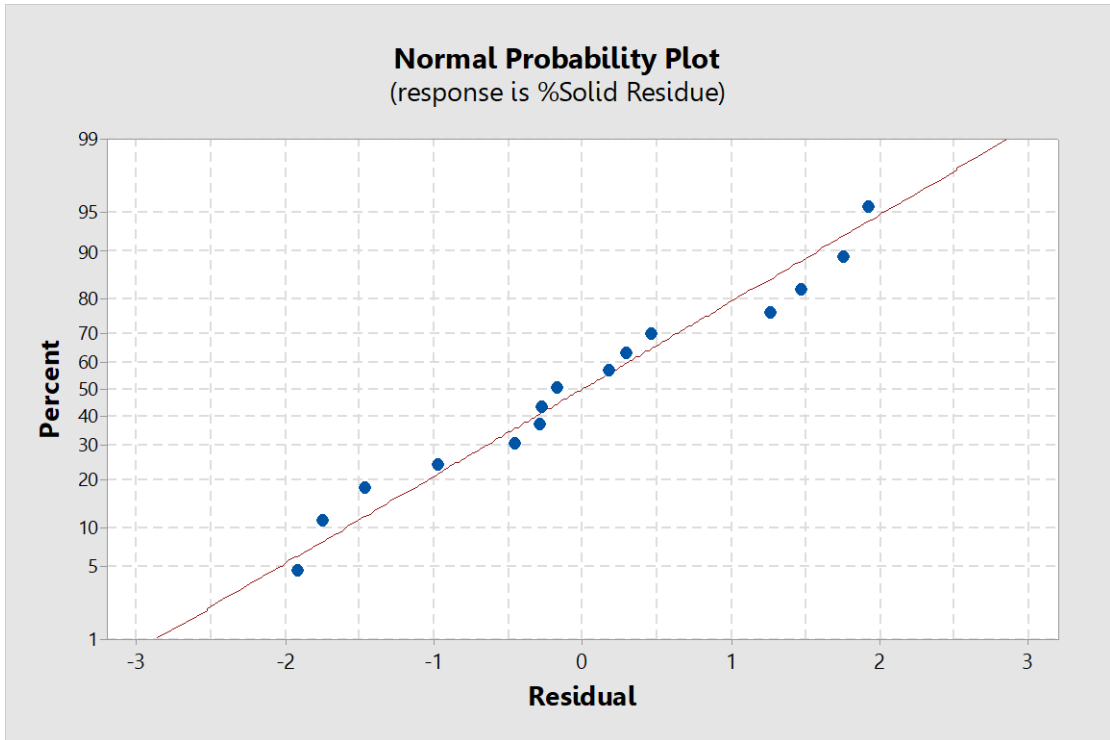
$$\begin{aligned} \%Solid\ Residue = & \text{ร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง} \\ X = & \text{อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (องศาเซลเซียส)} \\ Y = & \text{ร้อยละของกากมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา (\%w/w)} \\ Z = & \text{ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการทำปฏิกิริยา (\%w/w)} \end{aligned}$$

โดยมีช่วงในการทำนายร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังดังนี้

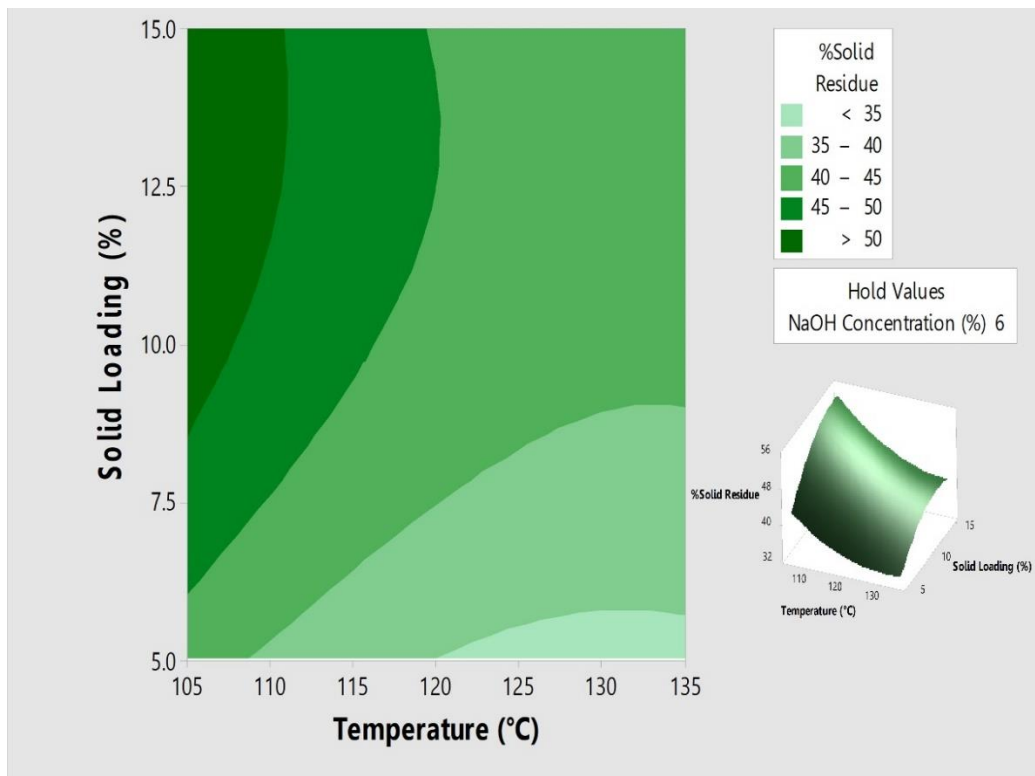
$$\begin{aligned} X & = 105 - 135\ ^\circ\text{C} \\ Y & = 5 - 15\ \%w/w \\ Z & = 4 - 8\ \%w/w \end{aligned}$$

ตารางที่ 6. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพ

| Source            | DF | Adj SS  | Adj MS  | F-Value | P-Value |
|-------------------|----|---------|---------|---------|---------|
| Model             | 9  | 620.396 | 68.933  | 16.30   | 0.003   |
| Linear            | 3  | 475.371 | 158.457 | 37.47   | 0.001   |
| X                 | 1  | 252.975 | 252.975 | 59.81   | 0.001   |
| Y                 | 1  | 192.930 | 192.930 | 45.62   | 0.001   |
| Z                 | 1  | 29.466  | 29.466  | 6.97    | 0.046   |
| Square            | 3  | 128.476 | 42.825  | 10.13   | 0.015   |
| X*X               | 1  | 34.429  | 34.429  | 8.14    | 0.036   |
| Y*Y               | 1  | 47.624  | 47.624  | 11.26   | 0.020   |
| Z*Z               | 1  | 40.162  | 40.162  | 9.50    | 0.027   |
| 2-Way Interaction | 3  | 16.550  | 5.517   | 1.30    | 0.370   |
| X*Y               | 1  | 5.476   | 5.476   | 1.29    | 0.307   |
| X*Z               | 1  | 0.250   | 0.250   | 0.06    | 0.818   |
| Y*Z               | 1  | 10.824  | 10.824  | 2.56    | 0.171   |
| Error             | 5  | 21.147  | 4.229   |         |         |
| Lack of Fit       | 3  | 18.537  | 6.179   | 4.47    | 0.179   |
| Pure error        | 2  | 2.610   | 1.305   |         |         |
| Total             | 14 | 641.543 |         |         |         |

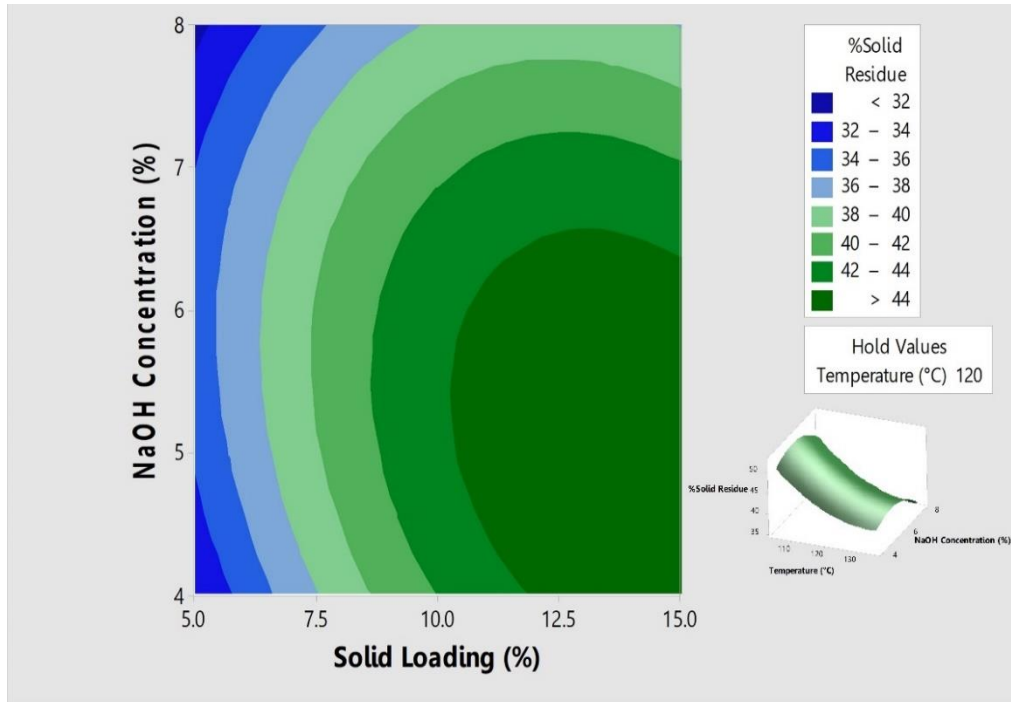


รูปที่ 13. การกระจายความน่าจะเป็นของสมการ (Normal Probability) ของสมการที่ (3).

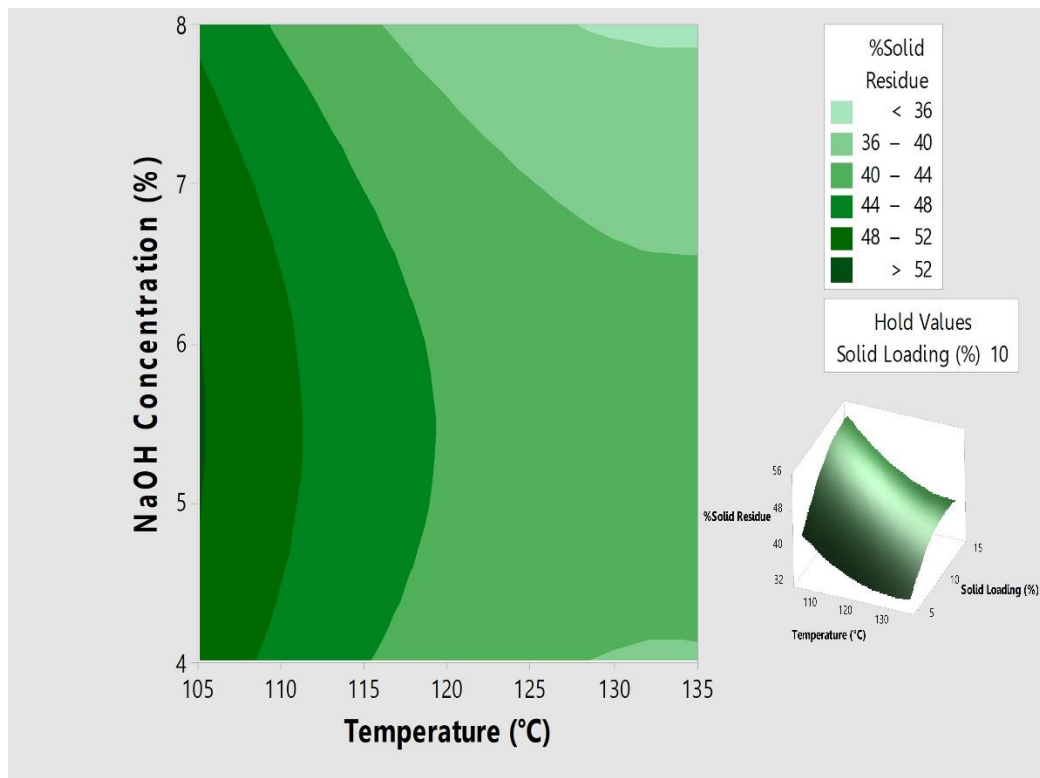


รูปที่ 14. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ.





รูปที่ 15. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นสารละลายเบส.



รูปที่ 16. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นสารละลายเบส.

จากผลการทดลองจะนำมาสร้างสมการกำลังสอง (Quadratic) เพื่อทำนายร้อยละการเปลี่ยนแปลงจากการไฮโดรไลซิส (%Conversion) ของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง หลังการปรับสภาพ โดยสมการถดถอยที่ได้มีค่าวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังแสดงในตารางที่ 7 เมื่อพิจารณา Lack of Fit พบว่า LOF มีค่า P-Value เท่ากับ 0.0047 ซึ่งมากกว่า 0.1 แสดงว่าสมการที่ใช้ไม่มีความเหมาะสมที่ใช้ในการทำนายร้อยละการเปลี่ยนแปลงจากการไฮโดรไลซิส (%Conversion) ของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง หลังการปรับสภาพ นั้นไม่มีความเหมาะสม แต่มีค่า R<sup>2</sup> เท่ากับ 0.9616 และค่า R<sup>2</sup><sub>adj</sub> เท่ากับ ร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) และสามารถเขียนสมการถดถอยที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) ดังสมการที่ 4 เมื่อนำสมการที่ได้มา สร้างกราฟเปรียบเทียบ ดังแสดงในรูปที่ 17 พบว่า ผลการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณมีค่าใกล้เคียงกัน และสามารถวาดกราฟพื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ ดังแสดงในรูปที่ 18 กราฟพื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นของสารละลายเบส ดังแสดงในรูปที่ 19 และกราฟพื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นของเบส ดังแสดงในรูปที่ 20.

$$\begin{aligned} \% \text{ Conversion} = & -455.7 - (7.12X) + (2.75Y) + (13.69Z) - (0.02880X^2) - (0.1928Y^2) \\ & - (0.767Z^2) + (0.0025XY) - (0.0121XZ) + (0.041YZ) \quad \text{-----(3)} \end{aligned}$$

เมื่อ

|             |   |  |
|-------------|---|--|
| %Conversion | = | ร้อยละการเปลี่ยนแปลงของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังหลังการปรับสภาพ |
| X           | = | อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (°ซ.)                               |
| Y           | = | ร้อยละของกากมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา (%w/w)               |
| Z           | = | ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการทำปฏิกิริยา (%w/w)       |

โดยมีช่วงในการทำนายร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังดังนี้

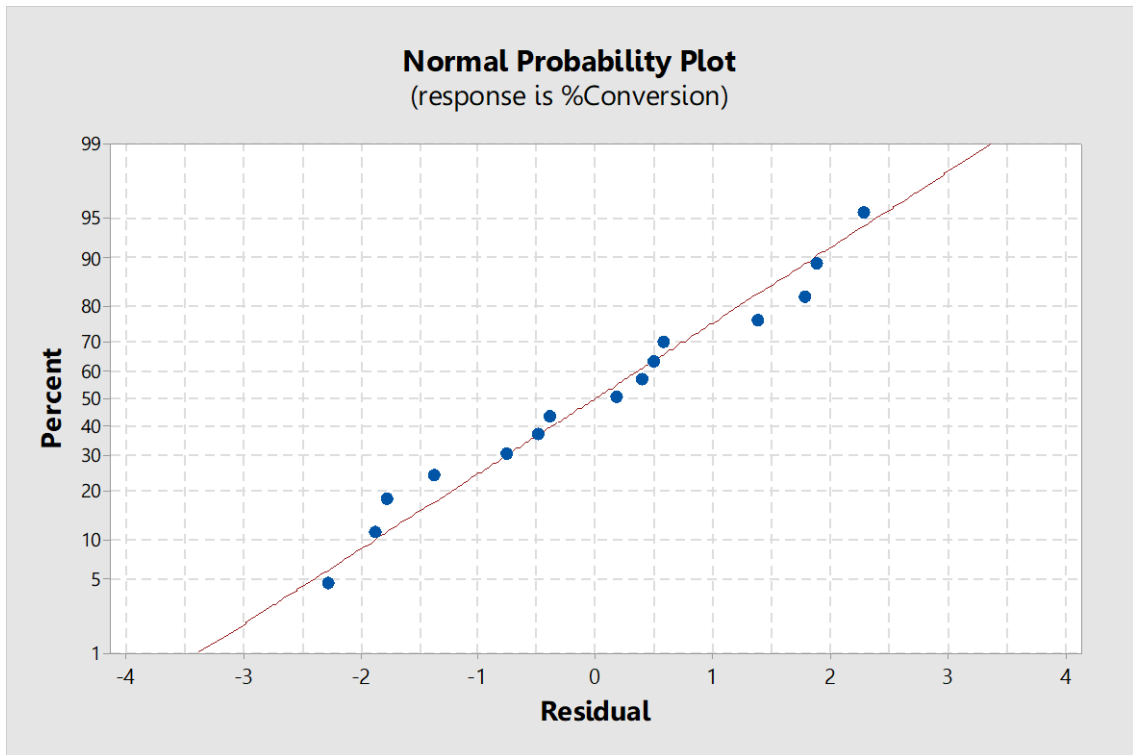
|   |   |              |
|---|---|--------------|
| X | = | 105 – 135 °C |
| Y | = | 5 – 15 %w/w  |
| Z | = | 4 – 8 %w/w   |

ส่วนการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพจะใช้วิธีการในการใช้ฟังก์ชันหาสภาวะที่เหมาะสมของโปรแกรม MiniTaB14 โดยกำหนดความต้องการในการหาสภาวะที่เหมาะสม คือ ร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพต้องสูงที่สุด (Max. %Solid Loading) เนื่องจากจากร้อยละของแข็งหลังจากปรับสภาพส่งผลโดยตรงกับปริมาณกากตะกอนมันสำปะหลังที่ใช้ในกระบวนการปรับสภาพ และร้อยละการ

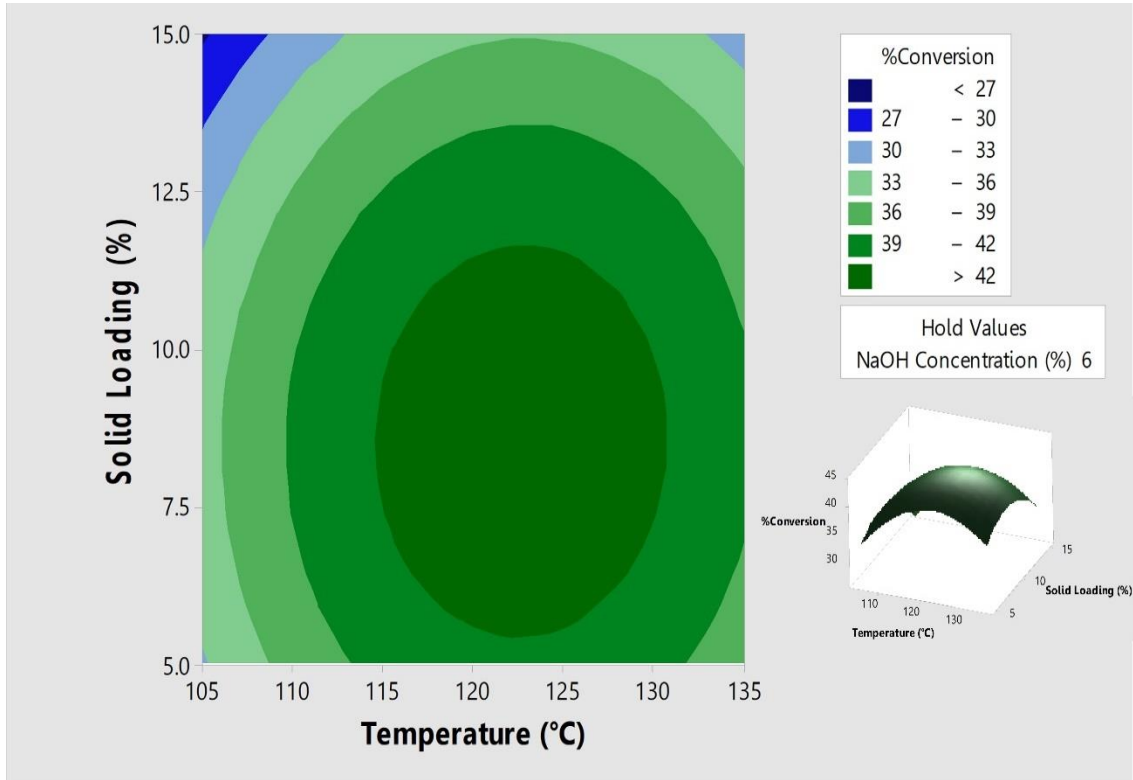
เปลี่ยนแปลงของกากตะกอนมันสำปะหลัง หลังการปรับสภาพสูงสุด (Max. %Conversion) เนื่องจาก ร้อยละการเปลี่ยนแปลงจะส่งผลโดยตรงต่อปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส เพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ จากกากตะกอนมันสำปะหลัง หลังการปรับสภาพ ผลการใช้ฟังก์ชันดังกล่าว พบว่า ได้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาที่ 111 องศาเซลเซียส ร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ (%Solid Loading) เท่ากับ 10.75 และร้อยละความเข้มข้นของสารละลายเบส (%NaOH) เท่ากับ 6.78 ซึ่งจะส่งผลให้มี ร้อยละของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพเท่ากับ 47.34 และร้อยละการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 41.3255 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความพึงพอใจเท่ากับ 0.7478 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ ดังแสดงในรูปที่ 21.

ตารางที่ 7. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการเปลี่ยนแปลง

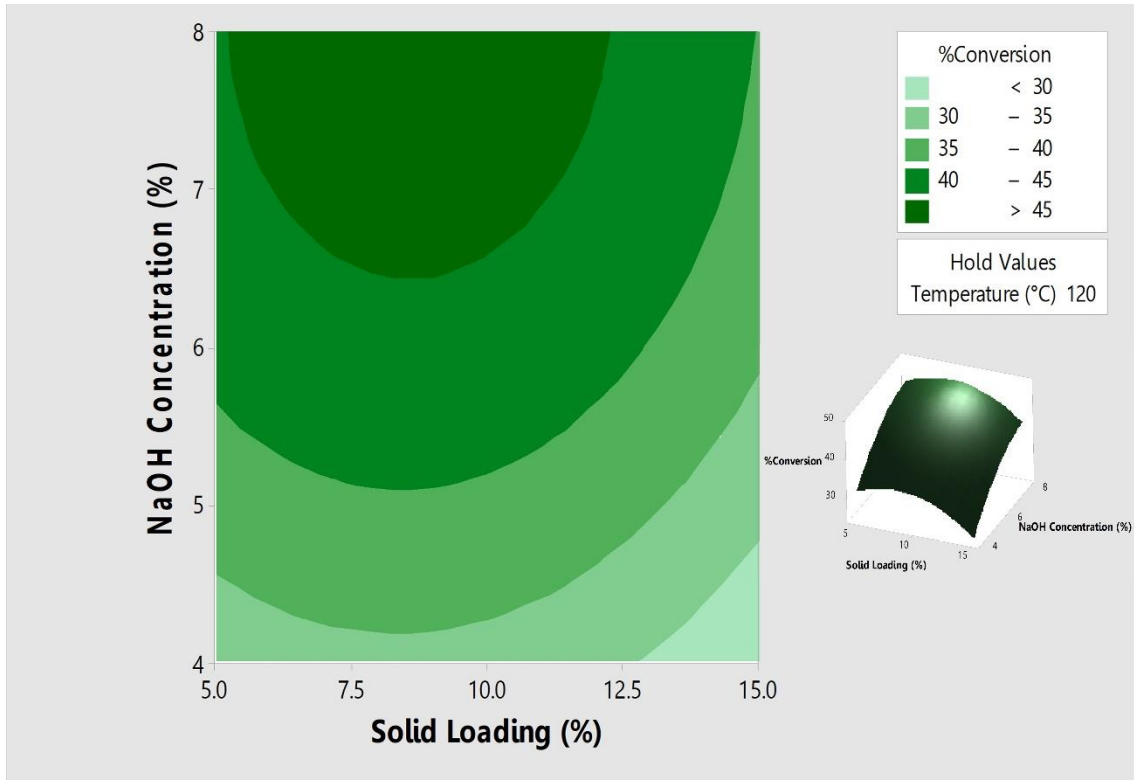
| Source            | DF | Adj SS  | Adj MS  | F-Value | P-Value |
|-------------------|----|---------|---------|---------|---------|
| Model             | 9  | 734.824 | 81.647  | 13.91   | 0.005   |
| Linear            | 3  | 490.000 | 163.333 | 27.82   | 0.002   |
| X                 | 1  | 45.392  | 45.392  | 7.73    | 0.039   |
| Y                 | 1  | 64.083  | 64.083  | 10.91   | 0.021   |
| Z                 | 1  | 380.526 | 380.526 | 64.81   | 0.000   |
| Square            | 3  | 243.489 | 81.163  | 13.82   | 0.007   |
| X*X               | 1  | 155.058 | 155.058 | 26.41   | 0.004   |
| Y*Y               | 1  | 85.791  | 85.791  | 14.61   | 0.012   |
| Z*Z               | 1  | 34.719  | 34.719  | 5.91    | 0.059   |
| 2-Way Interaction | 3  | 1.335   | 0.445   | 0.08    | 0.970   |
| X*Y               | 1  | 0.136   | 0.136   | 0.02    | 0.885   |
| X*Z               | 1  | 0.524   | 0.524   | 0.09    | 0.777   |
| Y*Z               | 1  | 0.674   | 0.674   | 0.11    | 0.748   |
| Error             | 5  | 29.357  | 5.871   |         |         |
| Lack of Fit       | 3  | 28.422  | 9.474   | 20.25   | 0.047   |
| Pure error        | 2  | 0.936   | 0.468   |         |         |
| Total             | 14 | 764.182 |         |         |         |



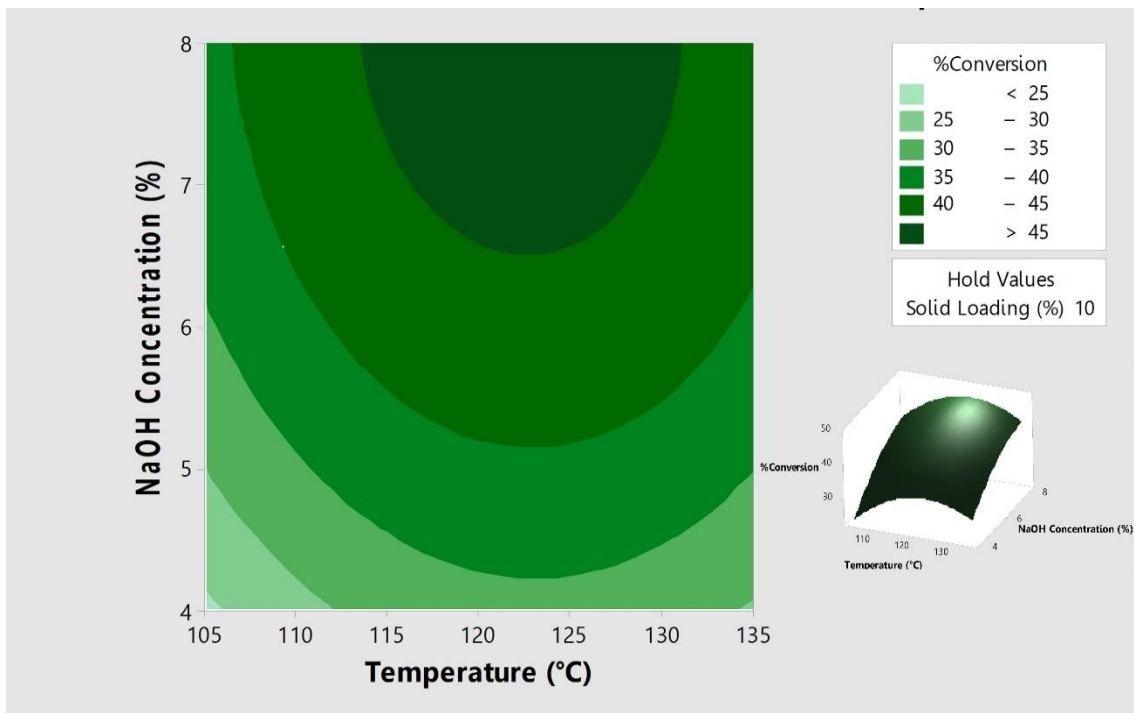
รูปที่ 17. การกระจายความน่าจะเป็นของสมการ (Normal Probability) ของสมการที่ (4).



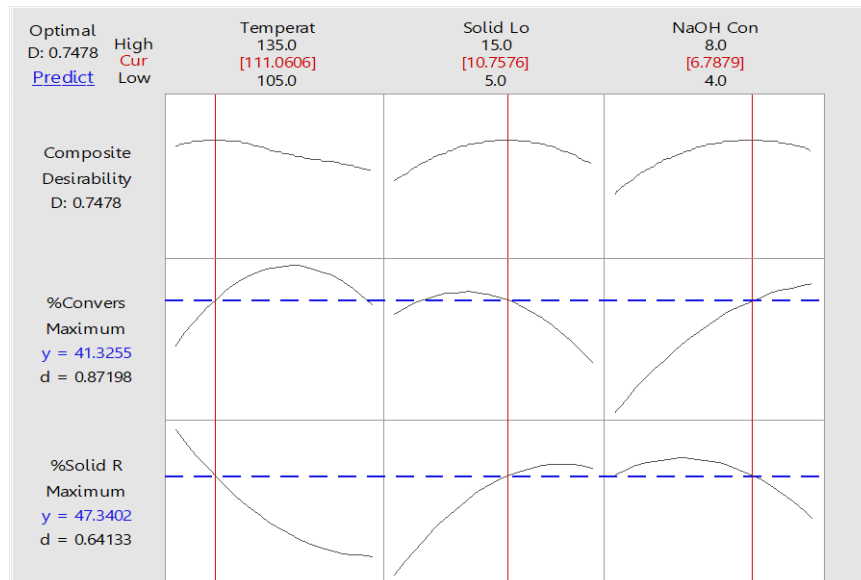
รูปที่ 18. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ.



รูปที่ 19. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างร้อยละของแข็งในการปรับสภาพและความเข้มข้นสารละลายเบส.



รูปที่ 20. พื้นที่ผิวสะท้อนระหว่างอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นสารละลายเบส.



รูปที่ 21. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากตะกอนมันสำปะหลังด้วยเบส.

### 3.6 ศึกษาการขยายขนาดในการปรับสภาพกากตะกอนมันสำปะหลัง

การศึกษาการขยายขนาดในการปรับสภาพกากตะกอนมันสำปะหลังด้วยเบสจะใช้สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาเท่ากับอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 111 องศาเซลเซียส ร้อยละของแข็ง (%Solid Loading) เท่ากับ 10.75 และร้อยละความเข้มข้นเบส (%NaOH) เท่ากับ 6.78 โดยทำการทดลองที่สภาวะดังกล่าว ทั้งหมด 10 การทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยร้อยละของแข็ง (%Solid Residue) เท่ากับ  $47.77 \pm 0.93$  และ ค่าเฉลี่ยร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) เท่ากับ  $41.03 \pm 0.82$  ซึ่งจะใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการทดลองในโครงการเทคโนโลยีการหมักเซลล์ูโลสิกร่วมกับการหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังต่อไป.

ตารางที่ 8. ผลการขยายขนาดการปรับสภาพกากตะกอนมันสำปะหลังด้วยเบส

| Run             | % Solid Residue | % Conversion      | Run          | % Solid Residue | % Conversion      |
|-----------------|-----------------|-------------------|--------------|-----------------|-------------------|
| 1               | 48.71           | 41.20             | 6            | 48.49           | 39.55             |
| 2               | 47.98           | 41.08             | 7            | 45.89           | 40.55             |
| 3               | 47.20           | 39.99             | 8            | 47.34           | 41.34             |
| 4               | 47.02           | 41.13             | 9            | 47.80           | 41.84             |
| 5               | 49.05           | 41.26             | 10           | 48.18           | 42.35             |
| % Solid Residue |                 | $47.766 \pm 0.93$ | % Conversion |                 | $41.029 \pm 0.82$ |

## 4. สรุปผลการวิจัย

### 4.1 ผลิตภัณฑ์/เทคโนโลยีที่ได้

เทคโนโลยีการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง โดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์เซลลูเลสจากน้อยกว่าร้อยละ 3 เป็นมากกว่าร้อยละ 40 โดยมีกากตะกอนมันสำปะหลังจากหลังการปรับสภาพมากกว่าร้อยละ 45 เหมาะกับการพัฒนาเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับกระบวนการชีวภาพ.

### 4.2 องค์ความรู้ที่ได้

อาจจะเนื่องมาจากโรงงานผลิตเอทานอลในประเทศไทยมีการใช้เอนไซม์ลดความหนืดภายในระบบการผลิต ซึ่งจะทำให้เกิดการย่อยสลายโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสออกมาบางส่วน องค์ประกอบเถ้ามีสูงถึงร้อยละ  $12.13 \pm 0.33$  ค่อนข้างสูง เนื่องจากมันสำปะหลังเส้นในประเทศไทยมีสัดส่วนทรายสูงทำให้เหลือมาพร้อมกับกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังจากการกระบวนการผลิตเอทานอล.

การไฮโดรไลซิสกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยระบบเอนไซม์ร่วม พบว่า การทดลองที่ 3, 5, 7, 8 และ 9 มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ใกล้เคียงกันเท่ากับ  $9.11 \pm 0.10$ ,  $9.56 \pm 0.39$ ,  $10.60 \pm 0.21$ ,  $10.85 \pm 0.92$  และ  $9.72$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทั้งหมดมีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งทำหน้าที่ในการย่อยสลายสายโซ่แซ็กคาไรด์หรือโมเลกุลของแป้งที่ผ่านความร้อนกลายเป็นลักษณะออสติฐานแล้ว ส่วนการเติมเอนไซม์เซลลูเลสจะช่วยเสริมให้มีการไฮโดรไลซิสสายโซ่เซลลูโลสเพียงเล็กน้อย เช่นการทดลองที่ 1, 4 และ 6 ซึ่งสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $1.91 \pm 0.53$ ,  $4.34 \pm 0.95$  และ  $1.51 \pm 0.03$  ตามลำดับ เพราะส่วนใหญ่เป็นผลึกและถูกปกคลุมด้วยโครงสร้างของลิกนินที่แข็งแรงทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนการใช้เอนไซม์อัลฟา อะไมเลสเพียงอย่างเดียวในการทดลองที่ 2 ได้ผลการทดลองใกล้เคียงกับการไม่เติมเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวมีหน้าที่ตัดโครงสร้างแป้งเป็นโอลิโกเมอร์และส่วนใหญ่ถูกทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วในการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง.

ปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง พบว่า ผลของอุณหภูมิในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์จะมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตั้งแต่อุณหภูมิ 120, 140, 160 และสูงสุดที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 180 องศาเซลเซียส โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $16.83 \pm 1.44$ ,  $18.71 \pm 1.51$ ,  $39.79 \pm 1.63$  และ  $43.57 \pm 1.63$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยใช้ร้อยละของแข็งต่อสารละลายเท่ากับร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และหลังจากนั้นที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 200 และ 220 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเท่ากับ  $36.33 \pm 2.45$  และ  $27.23 \pm 0.67$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เนื่องจากที่อุณหภูมิสูง

จะทำให้เกิดการเผาไหม้ที่สภาวะไร้อากาศทำให้เส้นใยลิกโนเซลลูโลสกลายเป็นคาร์บอนแข็ง ส่วนผลร้อยละของแข็งต่อของเหลวในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังด้วยไอน้ำ ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นจากร้อยละของแข็งต่อของเหลวที่ร้อยละ 5, 10 และ 15 สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $46.93 \pm 0.85$ ,  $49.14 \pm 0.57$  และ  $45.63 \pm 0.71$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยหลังจากนั้นเมื่อเพิ่มร้อยละของแข็งต่อของเหลวจะทำให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงที่ร้อยละ 20, 25 และ 30 จะได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ  $41.01 \pm 0.99$ ,  $38.33 \pm 1.45$  และ  $36.40 \pm 2.41$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส และร้อยละของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 10 โดยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $49.14 \pm 0.57$  กรัมต่อลิตร โดยใช้ของแข็งหลังการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก โดยสามารถคำนวณร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) ได้เพียงร้อยละ 29.48.

ผลการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการปรับสภาพด้วยเบสของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง พบว่าผลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาการปรับสภาพด้วยเบส ช่วงอุณหภูมิ 80, 100, 120, 140, 160 และ 180 องศาเซลเซียส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ใกล้เคียงกันที่  $11.04 \pm 1.48$ ,  $12.77 \pm 1.34$ ,  $12.77 \pm 1.23$ ,  $13.18 \pm 1.24$ ,  $12.29 \pm 1.27$  และ  $10.89 \pm 2.1$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เพียง  $7.95 \pm 0.80$  กรัมต่อลิตร และอุณหภูมิ 200 และ 230 องศาเซลเซียส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $6.99 \pm 0.65$  และ  $5.49 \pm 0.50$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แนวโน้มการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง เนื่องจากในสภาวะที่มีความเข้มข้นเบส และอุณหภูมิสูงอาจจะทำให้เกิดการย่อยสลายของสายโซ่เซลลูโลส หรืออาจจะเกิดการเผาไหม้กลายเป็นคาร์บอนเช่นเดียวกันกับการปรับสภาพด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิมากกว่า 200 องศาเซลเซียส ส่วนร้อยละของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา พบว่า ร้อยละของแข็งที่ใช้ในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังเท่ากับร้อยละ 5, 15, และ 25 สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้เท่ากับ  $21.45 \pm 2.81$ ,  $13.18 \pm 1.24$  และ  $6.08 \pm 0.87$  กรัมต่อลิตร เนื่องจากเมื่อของแข็งในระบบเพิ่มขึ้นจะทำให้ของเหลวอิสระภายในระบบลดลง ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนิน นอกจากนี้ในระบบที่ทำการศึกษาไม่มีการกวนผสมทำให้ร้อยละของแข็งในระบบส่งผลอย่างชัดเจน และเมื่อเกิดการย่อยสลายของสายโซ่ลิกนินยังทำให้เกิดสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดการหน่วงปฏิกิริยาของสารผลิตภัณฑ์อีกด้วย ส่วนผลของความเข้มข้นของเบสในการทำปฏิกิริยา พบว่า ที่ความเข้มข้นของเบส ร้อยละ 0, 2, 4, 6 และ 8 สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $0.32 \pm 0.04$ ,  $4.48 \pm 0.38$ ,  $13.18 \pm 1.24$ ,  $15.04 \pm 1.21$ ,  $17.61 \pm 1.84$  และ  $14.94 \pm 2.68$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่างานวิจัยอื่นเนื่องจากร้อยละองค์ประกอบลิกนินที่สูง (มากกว่าร้อยละ 12).

ผล เป็นการทดลองปัจจัย 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ร้อยละของกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังในการทำปฏิกิริยา และความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการทำปฏิกิริยา พบว่า สามารถสร้างสมการที่ใช้ในการทำนายร้อยละของแข็งหลังการปรับสภาพด้วยเบส (% Solid



Residue) และร้อยละการเปลี่ยนแปลงจากการไฮโดรไลซิส (%Conversion) ในสมการที่ 3 และ 4 ตามลำดับ โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9670 และ 0.9616 ค่า  $R^2_{adj}$  เท่ากับ 0.9077 และ 0.8924 ตามลำดับ โดยค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจมีค่าสูงพอที่จะยอมรับสมการในการทำนายได้.

ส่วนการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพจะใช้วิธีการในการใช้ฟังก์ชันหาสภาวะที่เหมาะสม พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาที่ 111 องศาเซลเซียส ร้อยละของแข็งในการปรับสภาพ (%Solid Loading) เท่ากับ 10.75 และร้อยละความเข้มข้นของสารละลายเบส (%NaOH) เท่ากับ 6.78 ซึ่งจะส่งผลให้มีร้อยละของแข็งที่เหลือจากการปรับสภาพเท่ากับ 47.34 และร้อยละการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 41.3255 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความพึงพอใจเท่ากับ 0.7478 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ และเมื่อศึกษาการขยายขนาดในการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง พบว่า ค่าเฉลี่ยร้อยละของแข็ง (%Solid Residue) เท่ากับ  $47.77 \pm 0.93$  และค่าเฉลี่ยร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Conversion) เท่ากับ  $41.03 \pm 0.82$  ซึ่งจะใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการทดลองในโครงการเทคโนโลยีการหมักเซลล์โลสิกร่วมกับการหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังต่อไป.

## 5. แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

### 5.1 ผลผลิตของโครงการ

เทคโนโลยีการปรับสภาพกากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง โดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์เซลลูเลส จากน้อยกว่าร้อยละ 3 เป็นมากกว่าร้อยละ 40 โดยมีกากตะกอนมันสำปะหลังจากหลังการปรับสภาพมากกว่าร้อยละ 45 เหมาะกับการพัฒนาเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับกระบวนการชีวภาพ.

### 5.2 ผู้นำผลงานไปใช้ประโยชน์

ผู้นำผลงานไปใช้ประโยชน์เป็นกลุ่มผู้ประกอบการอุตสาหกรรมเอทานอลจากมันสำปะหลังและผู้ประกอบการอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง ซึ่งแต่เดิมเป็นกลุ่มเดียวกัน.

### 5.3 การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มมูลค่ากากตะกอนน้ำมันสำปะหลัง เพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับกระบวนการชีวภาพ และเป็นกระบวนการเบื้องต้นในการเพิ่มมูลค่าผลพลอยได้ทางการเกษตรสำหรับการต่อยอดไปสู่ผลิตภัณฑ์สารเคมีชีวภาพ.

### 5.4 ผลลัพธ์และผลกระทบของโครงการ

#### 5.4.1 ด้านเศรษฐกิจ

เพิ่มมูลค่า เพิ่มผลพลอยได้กากตะกอนน้ำมันสำปะหลังจากอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง ซึ่งโดยปกติแล้วจะถูกใช้เป็นสารเพิ่มเนื้อในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ซึ่งมีมูลค่าต่ำ เพราะไม่มีสารอาหารเท่ากับ Dries Distillation's Grain ที่ผลิตเอทานอลจากข้าวโพดและถั่วเหลือง.

#### 5.4.2 ด้านสังคม

สร้างองค์ความรู้ให้กับการเพิ่มมูลค่าให้กับการวิจัยและพัฒนากระบวนการชีวภาพจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส โดยเฉพาะผลพลอยได้ที่ได้จากอุตสาหกรรมเอทานอล.

#### 5.4.3 ด้านสิ่งแวดล้อม

ลดการปลดปล่อยกากตะกอนน้ำมันสำปะหลังที่เหลือจากการใช้งานของอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์ เนื่องจากไม่ใช้วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิต.

## 5.5 ศักยภาพทางการตลาดของผลผลิตที่ได้

ตามเป้าหมายชุดโครงการลดต้นทุนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังด้วยเทคโนโลยี เซลลูโลสีก เอทานอลต้องทำการศึกษาระบบติดตั้งส่วนเพิ่มทั้งกระบวนการผลิตเพื่อดูศักยภาพ ทางด้านการตลาด.

## 6. ข้อเสนอแนะ

### 6.1 ปัญหา/อุปสรรคในการดำเนินงานวิจัย

กากตะกอนมันสำปะหลังที่เป็นวัตถุดิบหลักในโครงการ มีองค์ประกอบของลิกนินสูง ทำให้ไม่สามารถทำการปรับสภาพด้วยกระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ทั้งการระเบิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ และการระเบิดโครงสร้างด้วยแอมโมเนีย เนื่องจากไม่สามารถทำลายความเป็นผลึกของลิกนินที่อยู่ในโครงสร้างได้ ซึ่งปัญหาดังกล่าวจะส่งผลเช่นเดียวกันกับการใช้ซานอ้อยในการผลิตสำหรับกระบวนการเซลลูโลสสิกเอทานอล ด้วยเหตุผลดังกล่าวทำให้ต้องใช้เบสความเข้มข้นสูงในกระบวนการทำให้เกิดของเหลวสีดำ (Black Liquor) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตและถ้าไม่มีการจัดการที่ถูกรวิธีจะทำให้เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมในอนาคต.

### 6.2 แนวทางแก้ไข

การจัดการของเหลวสีดำ (Black Liquor) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตเซลลูโลสสิกเอทานอลนั้นมีวิธีการในการจัดการอยู่แล้วในเชิงพาณิชย์ คือ การกำจัดของเหลวสีดำในอุตสาหกรรมกระดาษ แต่อย่างไรก็ตามสามารถนำเอาของเหลวสีดำ (Black Liquor) กลับเข้าสู่กระบวนการผลิตได้ โดยองค์ประกอบของเหลวสีดำจะประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก และซิลิกาที่อยู่บนเถ้าภายในโครงสร้างสามารถแยกตะกอนออกมาได้ก่อน แล้วของเหลวสีดำด้านบนจะสามารถส่งกลับเข้าสู่กระบวนการผลิตเซลลูโลสสิกเอทานอลได้ และจะทำให้ใช้สารเคมี (Make up) ลดลง เมื่อทำการผลิตอย่างต่อเนื่อง แต่ยังคงจำเป็นต้องทำการวิจัยและพัฒนาเพื่อหาสถานะสมดุลในการนำกลับของเหลวสีดำดังกล่าว และพิจารณาผลกระทบที่จะเกิดขึ้นต่อกระบวนการผลิตต่อไป.

## 7. เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2563. แผนปฏิบัติการพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก พ.ศ. 2561 - 2580. กรุงเทพฯ: กระทรวงพลังงาน.
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2560. โครงการพัฒนาการเพิ่มผลผลิตเอทานอลจากหัวมันสำปะหลังสด/มันเส้น. ปทุมธานี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- ประไพศรี สุทัศน์ ณ อยุธยา และเหลืองไพบูลย์, พงศ์ชนัน. 2551. การออกแบบและวิเคราะห์การทดลอง. กรุงเทพฯ: บริษัท สำนักพิมพ์ท็อป จำกัด. หน้า 259 - 290.
- วิชญ์ ปั่นพันธุ์, สุทธิกมล สุทธิกุล, และกิตติ อรสุญ. 2561. การลดปริมาณของเสียในขั้นตอนการปรับสภาพวัตถุดิบของกระบวนการผลิตเซลลูโลสเอทานอล. โครงการวิจัยที่ ภ.61-03, โครงการย่อยที่ 1, รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์). ปทุมธานี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- Aruwajoye, Gabriel S.; Faloye, Funmilayo D. and Kana, Evariste Gueguim. 2017. Soaking assisted thermal pretreatment of cassava peels wastes for fermentable sugar production: Process modelling and optimization. *Energy Conversion and Management*. **150**, pp. 558-566.
- Aruwajoye, Gabriel S; Faloye, Funmilayo D. and Kana, Evariste Gueguim. 2019. Process Optimisation of Enzymatic Saccharification of Soaking Assisted and Thermal Pretreated Cassava Peels Waste for Bioethanol Production. *Waste and Biomass Valorization*. **11**, pp. 2409 - 2420.
- A.O.A.C. (1990) Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed., Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
- AACC. (1990). Approved Methods of Analysis. 11<sup>th</sup> ed., Cereals & Grains Association. St. Paul.
- Binod, P., Sindhu, R., Singhania, R., Vikram, S., Devi, L., Nagalakshmi, S., Kurien, N., Sukumaran, K. and Pandey, A. 2010. Bioethanol Production from Rice Straw: An Overview. *Bioresource Technology*. **101**(13), pp. 4767 - 4774.
- Cardona, C.A.; Sanchez, O.J. and Gutierrez, L.F. 2010. Process Synthesis for Fuel Ethanol Production. Taylor & Francis Group. Colombia : Manizales. pp. 61 - 62.

- Chang, Vincent S. and Holtzapple, Mark T. 2000. Fundamental Factors Affecting Biomass Enzymatic Reactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. **84**, pp. 5 - 37.
- Cheng, Jun; Lin, Richen; Ding, Lingkan; Song, Wenlu; Li, Yuyou; Zhou, Junhu and Cen, Kefa., 2015. Fermentative hydrogen and methane cogeneration from cassava residues: Effect of pretreatment on structural characterization and fermentation performance. *Bioresource Technology*. **179**, pp. 407-413.
- Cookman, Drew J. and Glatz, Charles E., 2009. Extraction of protein from distiller's grain. *Bioresource Technology*. **100**(6), pp. 2012-2017.
- Cui, Lihong; Wang, Meng; Li, Jihua and Wang, Qinghuang. 2014. Effect of Ionic Liquid Pretreatment on the Structure and Enzymatic Saccharification of Cassava Stillage Residues. *Advanced Materials Research*. **884**, pp. 59-63.
- Gaewchingduang, S. and Pengthemkeerati, P. 2010. Enhancing efficiency for reducing sugar from cassava bagasse by pretreatment. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*. **4**(10), pp. 477-480.
- Han, Minhee; Kim, Yule; Kim, Youngran; Chung, Bongwoo and Choi, Gi-Wook. (nd.) Bioethanol production from optimized pretreatment of cassava stem. *Korean Journal Chemical Engineering*. **28**(1), pp. 119 - 125.
- Janker-Obermeiera, I., Siebera, V., Faulstichb, M. and Schiedera, D. 2012. Solubilization of Hemicellulose and Lignin from Wheat Straw through Microwave-Assisted Alkali Treatment. *Industrial Crops and Products*., **39**(13), pp. 198 - 203.
- Kouteu Nanssou, Paul Alain; Jiokap Nono, Yvette and Kapseu. (nd.). Cesar. Pretreatment of cassava stems and peelings by thermos hydrolysis to enhance hydrolysis yield of cellulose in bioethanol production process. *Renewable Energy*. **97**, pp. 252-265.
- Liao, Zhengda; Huang, Zuqiang; Hu, Huayu; Zhang, Yanjuan and Tan, Yunfang. (nd.). Microscopic structure and properties changes of cassava stillage residue pretreated by mechanical activation. *Bioresource Technology*. **120**, pp. 7953 - 7958.

- Lu, Huisheng; Lv, Chunliu; Zhang, Minhua; Liu, Shuangyan; Liu, Jiatao and Lian, Feng. (nd.). Optimization of hydrothermal pretreatment for co-utilization C-5 and C-6 sugars of cassava alcohol residue. *Energy Conversion and Management*. **132**, pp. 251 - 260.
- Luo, Gang; Xie, Li; Zou, Zhonghai; Wang, Wen; Zhou, Qi and Shim, Hojae. 2010. Anaerobic treatment of cassava stillage for hydrogen and methane production in continuously stirred tank reactor (CSTR) under high organic loading rate (OLR). *International Journal of Hydrogen Energy*. **35**, pp. 11733-11737.
- Luo, Gang; Xie, Li; Zou, Zhonghai; Wang, Wen and Zhou, Qi. 2010. Exploring Optimal conditions for thermophilic fermentative hydrogen production from cassava stillage. *International Journal of Hydrogen Energy*. **35**, pp. 6161-6169.
- Luo, Gang; Xie, Li; Zou, Zhonghai; Zhou, Qi and Wang, Jing-Yuan., 2010. Exploring optimal conditions for ther mophilic fermentative hydrogen production from cassava stillage. *International Journal of Hydrogen Energy*. **87**, pp. 3710–3717.
- McIntosh, S. and Vancov, T. 2010. Enhanced Enzyme Saccharification of Sorghum Bicolor Straw Using Dilute Alkali Pretreatment. *Bioresource Technology*., **101**(17), pp. 6718–6727.
- Scherz, Heimo and Bonn, Günther., 1998. Analytical chemistry of carbohydrates. Germany: Stuttgart : Thieme.
- Sivamani, Selvaraju and Baskar, Rajoo. 2018. Bioconversion of cassava stem to ethanol: oxalic acid pretreatment and co-culture fermentation. *Biofuels*. **9**, pp. 559-566.
- Srinorakutara, Teerapatr; Kaewwimol, Lerdluk and Saengow, La-aied. (nd.). Approach of Cassava Waste Pretreatments for Fuel Ethanol Production in Thailand. *Journal of Scientific Research Chulalongkorn University*. **31**(1), pp. 77 - 84.
- Olanbiwoninu, A.A and Odunfa S.A. 2012. Enhancing the Production of Reducing Sugars from Cassava Peels by Pretreatment Methods. *International Journal of Science and Technology*. **2**(9), pp. 650-657.
- Ortega, María V., Luján-Rhenals, D. and Salcedo, Jairo G. 2018. Effects of Enzymatic Hydrolysis on the Physicochemical and Structural Properties of Cassava Bagasse (Manihot esculenta Cranz). *Advance Journal of Food Science and Technology*. **15**, pp. 58-165.

- Pooja, N. S. and Padmaja, G. 2015. Enhancing the Enzymatic Saccharification of Agricultural and Processing Residues of Cassava through Pretreatment Techniques. *Waste Biomass Valor.* **6**, pp. 303-315.
- Pooja, N. S.; Sajeev, M. S.; Jeeva, M. L. and Padmaja, G. 2015. Bioethanol production from microwave-assisted acid or alkali-pretreated agricultural residues of cassava using separate hydrolysis and fermentation (SHF). *3 Biotech.* **8**(69), pp. 578-587.
- Wang, Wen; Luo, Gang; Xie, Li and Zhou, Qi. 2012. Enhanced thermophilic fermentative hydrogen production from cassava stillage by chemical pretreatments. *Water Science & Technology.*, **68**(1), pp. 60-67.
- Wang, Wen; Xie, Li; Luo, Gang; Zhou, Qi and Lu, Qin. 2012. Optimization of biohydrogen and methane recovery within a cassava ethanol wastewater/waste integrated management system. *Bioresource Technology.* **120**, pp. 165-172.
- Wu, L., Arakane, M., Ike, M., Wada, M., Takai, T., Gau, M. and Tokuyasu, K. 2011. Low Temperature Alkali Pretreatment for Improving Enzymatic Digestibility of Sweet Sorghum Bagasse for Ethanol Production. *Bioresource Technology.* **102**(23), pp. 4793–4799.
- Wu, L., Li, Y., Arakane, M., Ike, M., Wada, M., Terajima, Y., Ishikawa, Y. and Tokuyasu, Y., 2011. Efficient Conversion of Sugarcane Stalks into Ethanol Employing Low Temperature Alkali Pretreatment Method. *Bioresource Technology.* **102**(24), pp. 11183–11188.
- Yang, B. and Wyman, C.E., 2008. Pretreatment: The Key to Unlocking Low-Cost Cellulosic Ethanol. *Biofuels Bioproduction and Biorefining.* **2**(23), pp. 26 – 40.
- Yu, Zhuping; Du, Yangliu; Shang, Xiaona; Zheng, Ying and Zhou, Jinghong. Enhancing fermentable sugar yield from cassava residue using a two-step dilute ultra-low acid pretreatment process. *Industrial Crops & Products.* **12**, pp. 555-562.
- Zhang, Qinghua; He, Jiang; Tian, Min; Mao, Zhonggui; Tang, Lei; Zhang, Jianhuan and Zhang, Hongjian., 2011. Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium. *Bioresource Technology.* **102**, pp. 8899-8906.

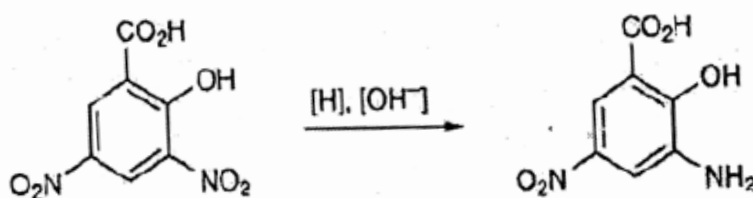


ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก.

### ก-1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

หลักการของปฏิกิริยา เมื่อต้มน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายเบสที่มีกรดไนโตรซาลิไซลิกจะเกิดเปลี่ยนรูปไปเป็นสารที่มีสีเข้มขึ้นซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และสาร 3, 5-dinitrosalicylic acid ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเข้มของ 3-amino-5-nitrosalicylic acid ดังรูปที่ ก-1 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 – 550 นาโนเมตร ปฏิกิริยานี้จะไม่หยุดจนกว่าสารตั้งต้นจะหมด (Scherz and Bonn 1998).



รูปที่ ก-1. ปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ (Scherz and Bonn, 1998).

การเตรียมสารละลาย DNS Reagent (3,5-dinitrosalicylic acid)

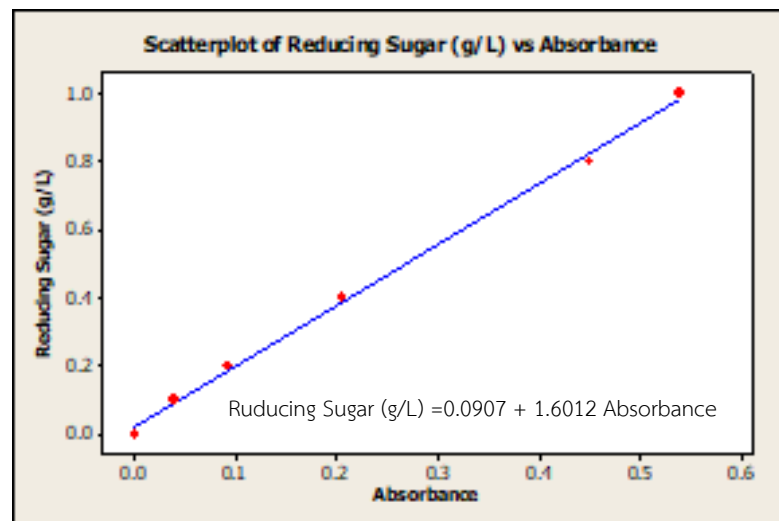
|                                   |     |      |
|-----------------------------------|-----|------|
| ซังสาร 3, 5-dinitrosalicylic acid | 10  | กรัม |
| Sodium potassium tartrate         | 300 | กรัม |
| NaOH                              | 16  | กรัม |

ละลายสารที่ซังมาในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยให้ความร้อนค่อยๆ เติมนจนละลายหมด จนกระทั่งไม่มีตะกอน ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร แล้วเก็บใส่ขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสและการวิเคราะห์ด้วยวิธีการ DNS

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยนำกลูโคส 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
2. เจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 0, 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนตัวอย่างทำการเจือจางให้อยู่ในช่วงของสารละลายมาตรฐาน
3. ดูดสารละลายน้ำตาลที่เตรียมไว้ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
4. เติมนสารละลาย DNS ลงไปในแต่ละหลอดๆ ละ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
5. ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที
6. ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว ในอ่างน้ำ

7. เติมน้ำกลั่นอีกให้ครบ 5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน
8. นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำไปผลการดูดกลืนแสงสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐานในรูปที่ ก-2
9. คำนวณความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จากกราฟมาตรฐานที่สร้างได้ พร้อมคุณความเข้มข้นที่ทำการเจือจางในขั้นตอนที่ 2



รูปที่ ก-2. ความสัมพันธ์ค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน.

ภาคผนวก ข.

ก-2 ผลการทดลองการไฮโดรไลซิสด้วยระบบเอนไซม์ร่วม

| Run | Enzyme Condition         |               |               |                     | #1 Reducig Sugar (g/L) | #2 Reducig Sugar (g/L) | Average Reducing Sugar (g/L) | SD   |
|-----|--------------------------|---------------|---------------|---------------------|------------------------|------------------------|------------------------------|------|
| 0   | Cassava Stillage Residue |               |               | ไม่มีการเติมเอนไซม์ | 0.272321878            | 1.026722548            | 0.65                         | 0.53 |
| 1   | Cellulase                | -             | -             | การทดลองที่ 1       | 1.529656329            | 2.284056999            | 1.91                         | 0.53 |
| 2   | Alpha-Amylase            | -             | -             | การทดลองที่ 2       | 0.775255658            | 1.320100587            | 1.05                         | 0.4  |
| 3   | Gluco-Amylase            | -             | -             | การทดลองที่ 3       | 9.195205365            | 9.014987427            | 9.11                         | 0.1  |
| 4   | Cellulase                | Alpha-Amylase | -             | การทดลองที่ 4       | 3.667124895            | 5.008281643            | 4.34                         | 0.95 |
| 5   | Cellulase                | Gluco-Amylase | -             | การทดลองที่ 5       | 9.283218776            | 9.828063705            | 9.56                         | 0.39 |
| 6   | Alpha-Amylase            | Cellulase     | -             | การทดลองที่ 6       | 1.48774518             | 1.529656329            | 1.51                         | 0.03 |
| 7   | Gluco-Amylase            | Cellulase     | -             | การทดลองที่ 7       | 10.45673093            | 10.75010897            | 10.60                        | 0.21 |
| 8   | Cellulase                | Alpha-Amylase | Gluco-Amylase | การทดลองที่ 8       | 11.50450964            | 10.20526404            | 10.85                        | 0.92 |
| 9   | Alpha-Amylase            | Gluco-Amylase | Cellulase     | การทดลองที่ 9       | 9.786152557            | 9.660419111            | 9.72                         | 0.09 |

ข-2 ผลการทดลองการระเบิดโครงสร้างด้วยไอน้ำ

| Factor           |                   | Reducing Sugar |       | Average Reducing Sugar (g/L) | S.D. |
|------------------|-------------------|----------------|-------|------------------------------|------|
| Temperature      | Solid Loading     | #1             | #2    |                              |      |
| Non-Pretreatment |                   | 1.24           | 0.90  | 1.07                         | 0.24 |
| 120 °C           | 15% Solid Loading | 15.82          | 17.85 | 16.83                        | 1.44 |
| 140 °C           | 15% Solid Loading | 17.65          | 19.78 | 18.71                        | 1.51 |
| 160 °C           | 15% Solid Loading | 38.86          | 40.71 | 39.79                        | 1.31 |
| 180 °C           | 15% Solid Loading | 44.73          | 42.42 | 43.57                        | 1.63 |
| 200 °C           | 15% Solid Loading | 34.60          | 38.06 | 36.33                        | 2.45 |
| 220 °C           | 15% Solid Loading | 26.77          | 27.68 | 27.23                        | 0.64 |
| 180 °C           | 5% Solid Loading  | 47.53          | 46.33 | 46.93                        | 0.85 |
| 180 °C           | 10% Solid Loading | 49.54          | 48.74 | 49.14                        | 0.57 |
| 180 °C           | 15% Solid Loading | 45.13          | 46.13 | 45.63                        | 0.71 |
| 180 °C           | 20% Solid Loading | 40.31          | 41.72 | 41.01                        | 0.99 |
| 180 °C           | 25% Solid Loading | 39.35          | 37.30 | 38.33                        | 1.45 |
| 180 °C           | 30% Solid Loading | 34.70          | 38.11 | 36.40                        | 2.41 |

ข-3 ผลการทดลองการปรับสภาพด้วยเบส

| Temperature      | Solid Loading     | NaOH Concentration | #1 Reducing Sugar (g/L) | #2 Reducing Sugar (g/L) | #3 Reducing Sugar (g/L) | Average Reducing Sugar (g/L) | S.D. | % Conversion |
|------------------|-------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|------|--------------|
| Non-Pretreatment |                   |                    | 0.32                    | 0.36                    | 0.29                    | 0.32                         | 0.04 | 0.58         |
| 50 °C            | 15% Solid Loading | 2% NaOH            | 8.47                    | 7.04                    | 8.36                    | 7.95                         | 0.80 | 14.32        |
| 80 °C            | 15% Solid Loading | 2% NaOH            | 12.59                   | 9.64                    | 10.88                   | 11.04                        | 1.48 | 19.87        |
| 120 °C           | 15% Solid Loading | 2% NaOH            | 14.12                   | 11.77                   | 13.65                   | 13.18                        | 1.24 | 23.72        |
| 140 °C           | 15% Solid Loading | 2% NaOH            | 14.16                   | 12.37                   | 11.79                   | 12.77                        | 1.23 | 22.99        |
| 180 °C           | 15% Solid Loading | 2% NaOH            | 12.98                   | 11.03                   | 8.67                    | 10.89                        | 2.16 | 19.61        |
| 200 °C           | 15% Solid Loading | 2% NaOH            | 7.61                    | 6.31                    | 7.06                    | 6.99                         | 0.65 | 12.59        |
| 230 °C           | 15% Solid Loading | 2% NaOH            | 5.94                    | 5.58                    | 4.95                    | 5.49                         | 0.50 | 9.88         |
| 120 °C           | 5% Solid Loading  | 2% NaOH            | 24.40                   | 20.43                   | 19.51                   | 21.45                        | 2.81 | 38.61        |
| 120 °C           | 25% Solid Loading | 2% NaOH            | 5.46                    | 6.69                    | 8.199                   | 6.08                         | 0.87 | 10.94        |
| 120 °C           | 15% Solid Loading | 0% NaOH            | 4.45                    | 4.87                    | 4.12                    | 4.48                         | 0.38 | 8.06         |
| 120 °C           | 15% Solid Loading | 4% NaOH            | 13.81                   | 16.23                   | 15.08                   | 15.04                        | 1.21 | 27.08        |
| 120 °C           | 15% Solid Loading | 6% NaOH            | 16.23                   | 19.70                   | 16.90                   | 17.61                        | 1.84 | 31.70        |
| 120 °C           | 15% Solid Loading | 8% NaOH            | 14.60                   | 12.45                   | 17.78                   | 14.94                        | 2.68 | 26.90        |

