การผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส และ*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339

นางสาวทิฐิมา วงศ์อารี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

ETHANOL PRODUCTION FROM PULP MILL WASTEWATER SLUDGE USING CELLULASE ENZYME AND *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339

Miss Titima Wongaree

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Environmental Engineering

Department of Environmental Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส และ*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339
โดย	นางสาวทิฐิมา วงศ์อารี
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…….. คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.บุญสม เลิศหิรัญวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

……ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธเรศ ศรีสถิตย์)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ)

…… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี)

…… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เขมรัฐ โอสถาพันธุ์)

…… กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรรณวดี สุวัฒิกะ)

ทิฐิมา วงศ์อารี : การผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339. (ETHANOL PRODUCTION FROM PULP MILL WASTEWATER SLUDGE USING CELLULASE ENZYME AND *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ดร.เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ, 160 หน้า.

งานวิจัยนี้ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษโดยเปลี่ยนเซลลูโลสจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษไปเป็นเอทานอล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 39.7 ไม่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลส ปริมาณลิกนินร้อยละ 8 และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 50.9 และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 73.2 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 0.1 ปริมาณลิกนินร้อยละ 6 และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 26.3 อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษของตะกอนทั้งสองที่ให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดคือ 1:10 มิลลิลิตรต่อกรัม พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลผลิตน้ำตาลสูงสุดเท่ากับ 9.45 กรัมต่อลิตร และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ผลิตน้ำตาลสูงสุดเท่ากับ 8.73 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอล แบบรวมและแบบแยกปฏิกิริยา พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดในรูปแบบการผลิตแบบรวมปฏิกิริยา เมื่อนำรูปแบบที่เหมาะสมมาผลิตเอทานอลในถัง 5 ลิตร พบว่า ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 5.03 กรัมต่อลิตร และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 7.34 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ว่าเซลลูโลสจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นทางเลือกของการผลิตพลังงานในอนาคตต่อไป

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2554 .....

5370245621 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS : ETHANOL/ PULP MILL/ WASTEWATER SLUDGE/ CELLULASE ENZYME/ *Saccharomyces cerevisiae*

TITIMA WONGAREE: ETHANOL PRODUCTION FROM PULP MILL WASTEWATER SLUDGE USING CELLULASE ENZYME AND *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339. ADVISOR: ASSOC.PROF. PETCHPORN CHAWAKITCHAREON, Ph.D., 160 pp.

The objective of this study is to evaluate the possibility of ethanol production from pulp mill wastewater sludge which contain cellulosic materials. The composition of recycled paper pulp industries has an average content of 39.7% cellulose, 8% lignin and 50.9% ash. The wastewater sludge from paper pulp sludge has an average content of 73.2% cellulose, 0.1% hemicellulose, 6% lignin and 26.3% ash. The ratio between cellulase and pulp mill wastewater sludge that produced maximum sugar reduction was at 1:10 (ml of enzyme/gram of dried sludge) for both substrates. The amount of the maximum sugar reduction was at 9.45 g/l and 8.73 g/l for recycled paper pulp sludge and paper pulp sludge respectively. This optimum ratio was applied to the ethanol production under simultaneous saccharification and fermentation compared with the separate saccharification and fermentation process. The results indicated that the simultaneous saccharification and fermentation yielded ethanol volume more than the separate saccharification and fermentation process for both substrates. The ethanol production was scaled up in 5 L fermentor under the optimum ratio. It was found that the ethanol production gave the maximum yield of 5.03 g/l and 7.34 g/l for recycled paper pulp sludge and paper pulp sludge respectively. The results indicated that the cellulose from pulp mill wastewater sludge can be used as an effective raw material for ethanol production which will be an alternative energy in the future.

Department : Environmental Engineering Student's Signature .....

Field of Study : Environmental Engineering Advisor's Signature .....

Academic Year : 2011 .....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ เป็นอย่างสูง ที่ประสิทธิ์ประสาทถ่ายทอดวิชาความรู้ทางวิชาการแก่ผู้วิจัยในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ โดยให้ความรู้ แนะนำให้คำปรึกษา ตลอดจนช่วยอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ธเรศ ศรีสถิตย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เขมรัฐ โอสถาพันธุ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรรณวดี สุวัฒิกะ ที่กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่ามาให้คำปรึกษา ความรู้และคำชี้แนะ จนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ให้ความรู้ คำชี้แนะ และคำปรึกษา มาโดยตลอด

ขอขอบคุณบริษัท เอเซียคราฟท์เปเปอร์ จำกัด ที่อนุเคราะห์ตะกอนน้ำเสียมาเป็นวัตถุดิบในงานวิจัย และบริษัท Brenntag (ประเทศไทย) จำกัด ที่อนุเคราะห์เอนไซม์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิจัยและบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้คำปรึกษา ความรู้ คำอธิบายและสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ทดลองในห้องปฏิบัติการสำหรับงานวิจัยนี้

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน สถาบันวิจัยพลังงาน และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผู้วิจัยขอขอบคุณอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัย ขอขอบคุณครอบครัววงศ์อารี พี่ๆและเพื่อนๆ ทุกคน ที่ให้คำปรึกษา คอยช่วยเหลือ สนับสนุนในทุกๆด้าน และเป็นกำลังใจที่ดีให้เสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ซ
สารบัญภาพ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย..... 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5
2.1 เอทานอล..... 5
2.2 วัตถุดิบในการผลิตเอทานอล..... 6
2.3 เซลลูโลส..... 7
2.4 เซลลูโลสิกเอทานอล..... 8
2.4.1 วิธีการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส..... 8
2.4.2 วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส..... 9
2.4.3 กระบวนการผลิต..... 9
2.5 เยื่อกระดาษและกระดาษ..... 14
2.5.1 วัตถุดิบ..... 14
2.5.2 องค์ประกอบหลักในเยื่อกระดาษ..... 15
2.5.3 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเยื่อกระดาษ..... 16
2.5.4 กระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ..... 19
2.5.5 กระบวนการผลิตกระดาษ..... 19

หน้า

2.6 ประเภทของกระดาษ..... 23
2.7 กระบวนการหมัก..... 25
2.7.1 เทคโนโลยีที่ใช้ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล..... 25
2.7.2 เทคโนโลยีในการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล..... 27
2.8 ปัจจัยที่สำคัญต่อยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์..... 28
2.8.1 ผลของธาตุอาหาร เกลือแร่ และวิตามินต่อการหมัก..... 28
2.8.2 ผลของอุณหภูมิต่อการหมัก..... 29
2.8.3 ผลของพีเอชต่อการหมัก..... 30
2.8.4 ความเข้มข้นของน้ำตาล..... 30
2.8.5 ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์..... 31
2.9 ระบบถังหมักและถังหมัก..... 31
2.9.1 ระบบถังหมักที่ใช้ในอุตสาหกรรม..... 31
2.9.2 ถังหมัก..... 31
2.10 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*..... 32
2.11ลักษณะของเชื้อ *Trichoderma spp.* สำหรับผลิตเอนไซม์..... 34
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 35

บทที่ 3 แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย..... 42
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี..... 43
3.1.1 วัตถุดิบ..... 43
3.1.2 เชื้อยีสต์..... 43
3.1.3 เอนไซม์เซลลูเลส..... 44
3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์..... 44
3.1.5 อุปกรณ์และสารเคมี..... 44
3.1.6 ตัวแปร และค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจวัด..... 45

หน้า

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย..... 46
3.2.1 การเก็บตัวอย่าง..... 46
3.2.2 การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของกากตะกอนเยื่อกระดาษ..... 48
3.2.3 การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส..... 48
3.2.4 ศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสีย..... 49
3.2.5 การผลิตยีสต์เพื่อใช้ในกระบวนการหมัก..... 50
3.2.6 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร)... 51
3.2.7 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ทำการทดลองในถังหมัก)..... 54

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 56
4.1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของกากตะกอนเยื่อกระดาษ..... 56
4.2 การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส..... 58
4.3 ผลศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสีย..... 59
4.4 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร)..... 69
4.4.1 แบบรวมปฏิกิริยา..... 69
4.4.2 แบบแยกปฏิกิริยา..... 76
4.5 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ทำการทดลองในถังหมัก)..... 87

บทที่ 5 สรุปผลและข้อแสนอแนะ..... 97
5.1 สรุปผลการทดลอง..... 97
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 100

รายการอ้างอิง..... 101

หน้า

ภาคผนวก..... 106

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์
จากอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 107

ภาคผนวก ข การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส..... 112

ภาคผนวก ค การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส..... 116

ภาคผนวก ง ปริมาณเอทานอลและการคำนวณผลได้ผลิตภัณฑ์ (Yield)..... 118

ภาคผนวก จ ผลการทดลอง..... 123

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 160

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	ส่วนประกอบทางเคมีของวัตถุดิบประเภทเซลลูโลสเพื่อการผลิตเอทานอล.	41
ตารางที 3.1	ตัวแปร และค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจวัด.....	46
ตารางที่ 4.1	ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ.....	57
ตารางที่ 4.2	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส จากเอนไซม์ทางการค้า.....	59
ตารางที่ 4.3	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนต่างๆ ของตะกอนน้ำเสียจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล การทดลองครั้งที่ 1...	61
ตารางที่ 4.4	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ.....	63
ตารางที่ 4.5	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10 การทดลองครั้งที่ 2.....	65
ตารางที่ 4.6	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งเท่ากับ 1:10 ไม่บีบน้ำออกจากตะกอน.....	67
ตารางที่ 4.7	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งเท่ากับ 1:10 เมื่อบีบน้ำออกจากตะกอน.....	67
ตารางที่ 4.8	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตจากตะกอนน้ำเสียโรงงานทั้งสองแห่ง แบบตะกอนแห้งและตะกอนชุ่มด้วยน้ำ.....	69
ตารางที่ 4.9	ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล.....	70
ตารางที่ 4.10	ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ.....	71
ตารางที่ 4.11	ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ.....	72
ตารางที่ 4.12	ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษโดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ.....	72

หน้า

ตารางที่ 4.13 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 73

ตารางที่ 4.14 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 73

ตารางที่ 4.15 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยา..... 75

ตารางที่ 4.16 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 76

ตารางที่ 4.17 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 77

ตารางที่ 4.18 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 78

ตารางที่ 4.19 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 79

ตารางที่ 4.20 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 79

ตารางที่ 4.21 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 80

ตารางที่ 4.22 ปริมาณเอทานอลของการหมักแบบแยกปฏิกิริยา..... 81

ตารางที่ 4.23 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 82

ตารางที่ 4.24 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 84

ตารางที่ 4.25 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 87

ตารางที่ 4.26 ผลได้ผลิตภัณฑ์ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล..... 88

หน้า

ตารางที่ 4.27 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 89

ตารางที่ 4.28 ผลได้ผลิตภัณฑ์ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ... 90

ตารางที่ 4.29 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 90

ตารางที่ 4.30 ค่าพีเอช และอุณหภูมิ ในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 92

ตารางที่ 4.31 ค่าพีเอช และอุณหภูมิ ในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 92

ตารางที่ 4.32 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 93

ตารางที่ 4.33 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 93

ตารางที่ 4.34 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 94

ตารางที่ 4.35 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 94

ตารางที่ 4.36 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 95

ตารางที่ 4.37 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้โดยวัตถุดิบที่แตกต่างกันเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ..... 96

ตารางที่ ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงของกลูโคสมาตรฐาน..... 114

ตารางที่ ง.1 สภาวะที่ใช้ในการทดสอบด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี..... 119

ตารางที่ ง.2 ตัวอย่างพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลมาตรฐาน..... 119

ตารางที่ จ.1 พื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลมาตรฐาน..... 128

ตารางที่ จ.2 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล 1:5..... 129

หน้า

ตารางที่ จ.3 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล 1:10..... 131

ตารางที่ จ.4 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล 1:15..... 133

ตารางที่ จ.5 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล 1:20..... 135

ตารางที่ จ.6 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:5..... 137

ตารางที่ จ.7 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10..... 139

ตารางที่ จ.8 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 141

ตารางที่ จ.9 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 141

ตารางที่ จ.10 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1. 142

ตารางที่ จ.11 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2. 143

ตารางที่ จ.12 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3. 144

ตารางที่ จ.13 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1. 145

ตารางที่ จ.14 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2. 146

ตารางที่ จ.15 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3. 147

ตารางที่ จ.16 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 149

ตารางที่ จ.17 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 149

ตารางที่ จ.18 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบไม่บีบน้ำออกจากตะกอน..... 150

ตารางที่ จ.19 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบบีบน้ำออกจากตะกอน..... 151

หน้า

ตารางที่ จ.20 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แบบไม่บีบน้ำออกจากตะกอน.. 151
ตารางที่ จ.21 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แบบบีบน้ำออกจากตะกอน..... 152
ตารางที่ จ.22 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 153
ตารางที่ จ.23 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 154
ตารางที่ จ.24 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 156
ตารางที่ จ.25 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 157
ตารางที่ จ.26 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 159
ตารางที่ จ.27 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 159

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1	สูตรเคมีและโครงสร้างของเอทานอล	6
ภาพที่ 2.2	โครงสร้างผนังเซลล์ของพืช	7
ภาพที่ 2.3	โครงสร้างของเซลลูโลสและตำแหน่งที่เอนไซม์ชนิดต่างๆเข้าทำปฏิกิริยา	13
ภาพที่ 2.4	โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส	17
ภาพที่ 2.5	โครงสร้างลิกนิน	18
ภาพที่ 2.6	ลักษณะการออกแบบของถังหมัก	32
ภาพที่ 2.7	*Saccharomyces cerevisiae* เจริญบนอาหาร YMA	33
ภาพที่ 2.8	*Saccharomyces cerevisiae* ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์	33
ภาพที่ 2.9	เชื้อรา *Trichoderma spp.* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ	35
ภาพที่ 3.1	ขั้นตอนการวิจัย	42
ภาพที่ 3.2	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษหลังอบแห้ง	43
ภาพที่ 3.3	*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339	43
ภาพที่ 3.4	เอนไซม์เซลลูเลส	44
ภาพที่ 3.5	กระบวนการบำบัดน้ำเสียและจุดเก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล	47
ภาพที่ 3.6	กระบวนการบำบัดน้ำเสียและจุดเก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	47
ภาพที่ 3.7	ขั้นตอนการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส	49
ภาพที่ 3.8	ขั้นตอนการศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษเพื่อการผลิตน้ำตาล	50
ภาพที่ 3.9	ขั้นตอนการผลิตยีสต์เพื่อใช้ในกระบวนการหมัก (Fermentation)	51
ภาพที่ 3.10	ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ แบบรวมปฏิกิริยา	52
ภาพที่ 3.11	ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ แบบแยกปฏิกิริยา	54
ภาพที่ 3.12	ถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่ใช้ในการทดลอง	55
ภาพที่ 4.1	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลการทดลองครั้งที่ 1	61

หน้า

ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 64

ภาพที่ 4.3 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10 การทดลองครั้งที่ 2..... 65

ภาพที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วน 1:10 จากการไม่บีบน้ำออกจากตะกอนและบีบน้ำออกจากตะกอน..... 68

ภาพที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบรวมปฏิกิริยา..... 70

ภาพที่ 4.6 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แบบรวมปฏิกิริยา..... 71

ภาพที่ 4.7 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบแยกปฏิกิริยา..... 77

ภาพที่ 4.8 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แบบแยกปฏิกิริยา..... 78

ภาพที่ 4.9 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล..... 83

ภาพที่ 4.10 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 86

ภาพที่ 4.11 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้แบบรวมปฏิกิริยาจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 88

ภาพที่ 4.12 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้แบบรวมปฏิกิริยาจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 89

ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส..... 115

ภาพที่ ง.1 ตัวอย่างพื้นที่ใต้กราฟ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี... 120

ภาพที่ ง.2 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานเอทานอล..... 120

ภาพที่ จ.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล..... 124

หน้า

ภาพที่ จ.2 ผลการวิเคราะห์ลิกนิน เบื้องต้นของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 125

ภาพที่ จ.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 126

ภาพที่ จ.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ทั้งสองแห่ง..... 127

ภาพที่ จ. 5 กราฟมาตรฐานเอทานอล..... 128

ภาพที่ จ. 6 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1..... 142

ภาพที่ จ. 7 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2..... 143

ภาพที่ จ. 8 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3..... 144

ภาพที่ จ. 9 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1..... 145

ภาพที่ จ.10 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2..... 146

ภาพที่ จ.11 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3..... 147

ภาพที่ จ.12 กราฟมาตรฐานเอทานอลของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล..... 148

ภาพที่ จ.13 กราฟมาตรฐานเอทานอลของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ..... 148

ภาพที่ จ.14 กราฟมาตรฐานกลูโคส โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 150

ภาพที่ จ.15 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา..... 152

ภาพที่ จ.16 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา..... 155

ภาพที่ จ.17 กราฟมาตรฐานเอทานอลตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 158

ภาพที่ จ.18 กราฟมาตรฐานเอทานอลตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ..... 158

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากนโยบายพลังงานของประเทศด้านพลังงานทดแทนของกระทรวงพลังงานปีพ.ศ. 2552 ถึงปีพ.ศ. 2565 ได้ดำเนินการให้นโยบายด้านพลังงานทดแทนเป็นวาระแห่งชาติ โดยสนับสนุนการผลิตและการใช้พลังงานทดแทนโดยเฉพาะการพัฒนาเชื้อเพลิงชีวภาพและชีวมวล (E10 E20 และ E85) ไบโอดีเซล ขยะ และมูลสัตว์ เป็นต้น เพื่อเสริมสร้างความมั่นคงด้านพลังงาน ลดภาวะมลพิษ และเพื่อประโยชน์ของเกษตรกรโดยสนับสนุนให้มีการผลิตและใช้พลังงานหมุนเวียนในระดับชุมชน หมู่บ้าน โดยส่งเสริมการผลิตและการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพแทนน้ำมัน เช่น เอทานอล ไบโอดีเซล ส่งเสริมการใช้ก๊าซธรรมชาติในภาคขนส่ง (NGV) ภาคอุตสาหกรรม ภาคธุรกิจและภาคครัวเรือน ส่งเสริมพลังงานหมุนเวียนทุกรูปแบบ ทั้งลม แสงอาทิตย์ พลังน้ำ ชีวมวล ก๊าซชีวภาพ พลังงานจากขยะ วิจัยและพัฒนาพลังงานทางเลือกพลังงานทดแทนและพลังงานในรูปแบบใหม่ เป็นต้น

โดยเมื่อปี พ.ศ. 2528 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเล็งเห็นว่าประเทศไทยอาจประสบกับปัญหาการขาดแคลนน้ำมันและปัญหาพืชผลทางการเกษตรมีราคาตกต่ำ ทรงมีพระราชดำรัสให้โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ศึกษาถึงการนำอ้อยมาแปรรูปเป็นแอลกอฮอล์ โดยการนำแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้นี้มาผสมกับน้ำมันเบนซินได้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง "น้ำมันแก๊สโซฮอล์" (Gasohol) หรือนิยมเรียกสั้นๆ ว่า "แก๊สโซฮอล์ " การผสมเอทานอลในน้ำมันเบนซินเป็นในลักษณะของสารเติมแต่งปรับปรุงค่าออกเทน ของน้ำมันเบนซิน ซึ่งสามารถใช้ทดแทนสารเติมแต่งชนิดอื่นที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ เมธิล เทอร์เทียรี บิวทิล อีเธอร์ (Methyl Tertiary Butyl Ether :MTBE) ซึ่งเป็นสารที่ย่อยสลายยาก เกิดปัญหามลพิษทางอากาศ ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ดังนั้นการใช้แก๊สโซฮอล์ มีส่วนช่วยลดปัญหาสภาวะเรือนกระจกที่ทำให้โลกร้อน อีกทั้งเอทานอลเป็นสารที่สามารถผลิตได้ภายในประเทศ จึงสามารถลดปัญหาการนำเข้าจากต่างประเทศ ปัจจุบันการผลิตเอทานอลส่วนใหญ่ของโลกใช้วัตถุดิบหลัก 2 ประเภท คือ น้ำตาล เช่น อ้อย กากน้ำตาล และแป้ง เช่น มันสำปะหลัง ข้าว และข้าวโพด ซึ่งเป็นพืชอาหาร จึงเริ่มมีความกังวลว่าวัตถุดิบดังกล่าวอาจไม่เพียงพอต่อการผลิตเอทานอลในภายภาคหน้า และยังเป็นการแย่งพืชอาหารมาใช้ทำให้ราคาพืช

อาหารสูงขึ้น ดังนั้นปัจจุบันการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลในหลายประเทศจึงมุ่งเน้นไปที่วัตถุดิบประเภทอื่น เช่น เซลลูโลส ซึ่งเป็นเศษเหลือใช้ที่ได้จากพืช

ในกระบวนการผลิตเอทานอลประกอบด้วยกระบวนการเตรียมวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล กระบวนการหมัก และการแยกผลิตภัณฑ์เอทานอลและการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบนั้น ถ้าเป็นวัตถุดิบประเภทแป้งหรือเซลลูโลส เช่น มันสำปะหลัง และธัญพืช จะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยแป้งหรือเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลก่อน ด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์ ส่วนวัตถุดิบประเภทน้ำตาล เช่น กากน้ำตาล หรือน้ำอ้อย เมื่อปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมแล้วสามารถนำไปหมักได้ ซึ่งในกระบวนการหมักจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยใช้จุลินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อยีสต์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักคือ เอธิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอล

อุตสาหกรรมการผลิตกระดาษถือเป็นแหล่งวัตถุดิบประเภทเซลลูโลสแหล่งหนึ่ง ซึ่งมีกระบวนการผลิตที่ก่อให้เกิดปัญหาหลายอย่างและปัญหาที่สำคัญคือ การเกิดกากตะกอนเยื่อกระดาษ (Waste Paper Sludge) ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัดกากตะกอนดังกล่าว รวมทั้งอาจก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมา แต่ในขณะเดียวกันกากตะกอนเยื่อกระดาษที่เหลือทิ้งมากับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตกลับถูกทิ้งไปโดยไร้ประโยชน์ หากมีการนำกากตะกอนเยื่อกระดาษไปใช้ประโยชน์อื่นได้ก็จะช่วยลดปริมาณขยะและต้นทุนการกำจัด

งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาการผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษในการผลิตเอทานอล และรูปแบบที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักด้วยยีสต์จนเกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือเอทานอล เพื่อใช้พัฒนาการผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษเหลือทิ้ง เพื่อการนำกลับมาใช้ประโยชน์กลายเป็นพลังงานทดแทนได้ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษโดยเปลี่ยนเซลลูโลสจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษไปเป็นเอทานอล โดยการใช้เอนไซม์เซลลูเลสเป็นตัวย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส และใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอล ซึ่งมีวัตถุประสงค์ของการวิจัยดังนี้

1.2.1 เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษกับเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อการผลิตน้ำตาลได้สูงสุด

1.2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอลแบบแบตช์ 2 รูปแบบคือ แบบรวมปฏิกิริยาและแบบแยกปฏิกิริยา เพื่อหารูปแบบที่สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด

1.2.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล โดยทำการทดลองในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการทดลอง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ทำการทดลองโดยใช้ขวดรูปชมพู่ในระดับห้องปฏิบัติการ ห้องปฏิบัติการวิจัยและบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3.2 ใช้ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล จังหวัดสมุทรสาคร และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี ใช้เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก Novozym 50013 และใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

1.3.3 พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัดได้แก่ ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography) วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีไดไนโตรซาลิไซลิค (DNS method) (Miller, 1959) และวัดความหนาแน่นเซลล์โดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

1.3.4 ทำการทดลองเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาลได้สูงสุด และทดลองหารูปแบบที่ผลิตเอทานอลได้สูงสุด

1.3.5 นำอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ และรูปแบบที่เหมาะสมจากการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ มาใช้ในการทดลองผลิตเอทานอลภายในถังหมักขนาด 5 ลิตร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษมาเพิ่มคุณค่าให้กลายเป็นพลังงานทดแทนในรูปของเอทานอลได้

1.4.2 ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมเพื่อเป็นต้นแบบในการผลิตเอทานอล ในถังหมักที่มีขนาด 5 ลิตรได้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง สูตรทางเคมีคือ C_2H_5OH ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ดังแสดงในภาพที่ 2.1 เอทานอลมีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ระเหยได้ ไวไฟสูง สามารถละลายน้ำได้ เอทานอลบริสุทธิ์มีจุดเดือดที่ 78.5 องศา-เซลเซียส มีการใช้ได้หลากหลาย เช่น ใช้เป็นตัวทำละลายสีแลคเกอร์และยาใช้เช็ดทำความสะอาดแผล ใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เหล้า ไวน์ และเบียร์ ใช้เป็นตัวกลางในการถ่ายเทความร้อน ใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง ใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง ใช้ตกตะกอนกรดนิวคลีอิกในงานอณูชีววิทยา (Molecular Biology) เป็นต้น สามารถผลิตได้จากการหมักพืชผลทางการเกษตร เช่น อ้อย มันสำปะหลัง ข้าวโพด โดยกระบวนการทางชีวภาพที่เกิดจากการนำเอาพืชมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล และเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้เอนไซม์หรือกรดบางชนิดช่วยย่อยและขั้นตอนสุดท้ายคือการทำให้ แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ร้อยละ 95 หรือมากกว่าด้วยกระบวนการกลั่นและแยกน้ำ เพื่อนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ รวมถึงการนำไปผสมกับน้ำมันเชื้อเพลิง ซึ่งพืชที่เหมาะสมสำหรับการนำมาเป็นวัตถุดิบผลิตเอทานอลในประเทศไทย ได้แก่ มันสำปะหลัง อ้อย และ กากน้ำตาล

ปัจจุบันไทยมีการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพเฉลี่ยทั้งปีอยู่ที่ 700 ล้านลิตร หรือ 1.8 ล้านลิตรต่อวัน และมีแนวโน้มใช้เพิ่มขึ้นต่อเนื่อง จากการส่งเสริมของรัฐบาลในการยกระดับการผสมเอทานอลในเบนซิน ขณะที่ไบโอดีเซลจะประกาศบังคับใช้เป็นไบโอดีเซลบี5 ในปี2554 ส่งผลให้คณะกรรมการเครือข่ายพลังงานทดแทนเพื่อศตวรรษที่ 21 หน่วยงานเครือข่ายการพัฒนาพลังงานทดแทนขององค์กรคุ้มครองสิ่งแวดล้อมแห่งสหประชาชาติ (UNEP) ได้จัดอันดับประเทศไทยขยับขึ้นมาอยู่อันดับที่ 8 ของประเทศที่มีการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพสูงที่สุดของโลก ร่วมกับประเทศสเปน จากทั้งหมด 63 ประเทศทั่วโลก อีกทั้งยังเป็นอันดับที่ 2 ของประเทศในทวีปเอเชีย (สำนักข่าวแห่งชาติ กรมประชาสัมพันธ์, 2553 :ออนไลน์)

ภาพที่ 2.1 สูตรเคมีและโครงสร้างของเอทานอล
(https://www.myfirstbrain.com, 2554: ออนไลน์)

2.2 วัตถุดิบในการผลิตเอทานอล

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเอทานอลแบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ ๆ ดังนี้ คือ

1. วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ธัญพืช ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสำปะหลังมันฝรั่ง มันเทศ เป็นต้น

2. วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล บีตรูต ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น

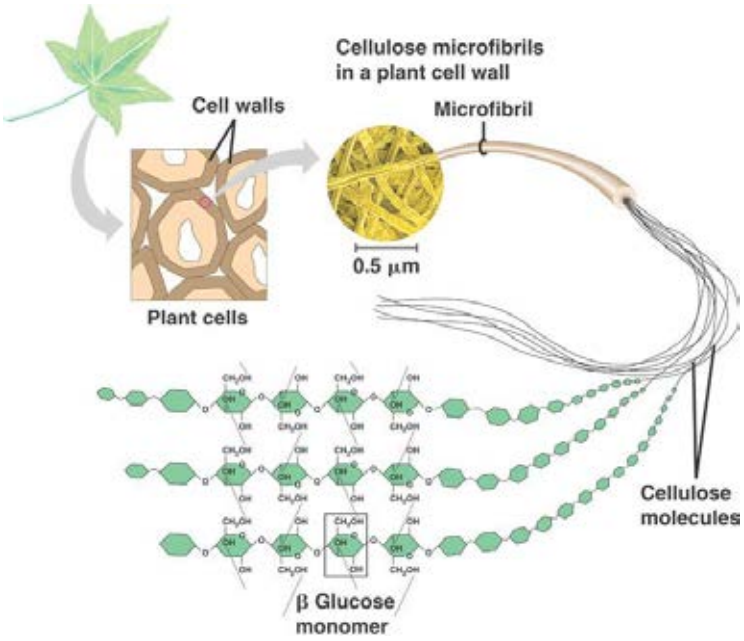
3. วัตถุดิบประเภทเส้นใย ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ เศษกระดาษ ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ เป็นต้น

วัตถุดิบประเภทแป้งและน้ำตาลได้จากผลิตผลทางการเกษตรซึ่งส่วนใหญ่ใช้เป็นอาหาร เช่น อ้อย มันสำปะหลัง หัวบีท ข้าว ข้าวโพด เป็นต้น วัตถุดิบส่วนใหญ่ที่มีการนำมาใช้ผลิตเอทานอล ได้แก่ อ้อยและข้าวโพด ในประเทศบราซิลซึ่งเป็นผู้ผลิตน้ำตาลรายใหญ่ที่สุดของโลก มีการผลิตเอทานอลจากน้ำอ้อยและกากน้ำตาล (Molasses) ส่วนในประเทศสหรัฐอเมริกามีการผลิตเอทานอลจากข้าวโพดเป็นส่วนใหญ่ ประเทศไทยได้นำกากน้ำตาลใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นส่วนผสมในแก๊สโซฮอล์ อีกทั้งประเทศไทยถือเป็นผู้ส่งออกกากน้ำตาลรายใหญ่ของโลก เนื่องจากมีการเพาะปลูกอ้อยและทำการผลิตน้ำตาลส่งออกสูงเป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากบราซิล และออสเตรเลีย ซึ่งกากน้ำตาลเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล โดยทั่วไปอ้อย 1 ตัน จะได้กากน้ำตาลประมาณ 50 ถึง 58 กิโลกรัม สามารถผลิตเอทานอลได้ประมาณ 70 ลิตร ถึงแม้ว่ากากน้ำตาลจะเป็นวัตถุดิบที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการผลิตเอทานอล แต่มีความเสี่ยงต่อการขาดแคลนวัตถุดิบ เพราะขึ้นอยู่กับปริมาณอ้อยและปริมาณการผลิตน้ำตาลในแต่ละปี จึงมีความวิตกกังวลว่าวัตถุดิบดังกล่าวอาจไม่เพียงพอต่อการผลิตเอทานอลต่อไปในอนาคต และเป็นการนำพืชอาหารมาใช้ผลิตเอทานอล โดยในบางประเทศมีการนำข้าวโพดมาใช้ผลิตเอทานอล ส่งผลให้ราคาสินค้าอาหารภายในประเทศปรับตัวสูงขึ้น ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต

เอทานอลในหลายประเทศจึงมุ่งเน้นไปที่วัตถุดิบประเภทอื่นคือ เซลลูโลส ซึ่งเป็นเศษเหลือใช้ที่ได้จากพืชเป็นส่วนใหญ่

2.3 เซลลูโลส

เซลลูโลส เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ (Cell wall) ในพืช เกิดจากกลูโคสประมาณ 50,000 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว แต่ละสายของสายของเซลลูโลสเรียงขนานกันไป มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสาย ทำให้มีลักษณะเป็นเส้นใย สะสมไว้ในพืช ไม่พบในเซลล์สัตว์ เซลลูโลสเมื่อถูกย่อยจะแตกตัวออก ให้น้ำตาลกลูโคสจำนวนมาก เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของเซลล์ (Structural carbohydrate) ประกอบด้วยหน่วยย่อยคือโมเลกุลของกลูโคส (Glucose subunits)1,000 ถึง10,000โมเลกุล มีน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) 200,000 ถึง 2,000,000 หน่วยย่อยพื้นฐาน (Basic subunit) คือ เซลโลไบโอส (Cellobiose) ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส2 โมเลกุล ต่อกันด้วยพันธะเบต้า1-4(b - (1-4))ไกลโคซิดิกโดยที่ไม่มีการแตกแขนง ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงกับผนังเซลล์ของพืช ปริมาณของเซลลูโลสอาจพบน้อยมากในส่วนที่สะสมอาหาร เช่น ในอินทผาลัมมีเพียงร้อยละ 0.8 ขณะที่ในส่วนของเส้นใยฝ้าย (Cotton fibers) มีมากถึงร้อยละ 98 (คลังความรู้ดิจิทัล, 2553 :ออนไลน์) ดังแสดงโครงสร้างในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างผนังเซลล์ของพืช
(http://learners.in.th, 2553: ออนไลน์)

2.4 เซลลูโลสิกเอทานอล(Cellulosic Ethanol) (ธนาคารเพื่อการส่งออกและนำเข้าแห่งประเทศไทย, 2549)

เอทานอลที่ผลิตจากเซลลูโลส ผลิตจากวัตถุดิบหลักประเภทฟางข้าว กากอ้อย ซังข้าวโพด และเปลือกไม้ วัตถุดิบดังกล่าวประกอบด้วยลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic material) ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทคาร์โบไฮเดรตที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของเซลล์พืช ซึ่งเกิดขึ้นจากหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวหรือโพลีเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส เอทานอลที่ผลิตจากเซลลูโลสจึงมีคุณสมบัติและลักษณะทางเคมีเช่นเดียวกับเอทานอลที่ผลิตจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลและแป้ง

2.4.1 วิธีการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส (Cellulosic Ethanol) มี 2 วิธีหลัก ได้แก่

2.4.1.1 เซลลูโลไลซิส (Cellulolysis) คือการย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสแล้วหมักน้ำตาลกลูโคสด้วยยีสต์กลายเป็นแอลกอฮอล์ผ่านการกลั่นและแยกน้ำจนเป็นเอทานอล

2.4.1.2 แก๊สซิฟิเคชั่น (Gasification) คือการแตกสารประกอบประเภทคาร์บอนของเซลลูโลสให้กลายเป็นก๊าซคาร์บอนมอนนอกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน จากนั้นเข้าสู่กระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์กลายเป็นแอลกอฮอล์ผ่านการกลั่นและแยกน้ำจนกลายเป็นเอทานอลบริสุทธิ์

ข้อดีของการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส

1.วัตถุดิบสามารถหาได้ง่ายเนื่องจากเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลักของพืชหลายประเภทและสามารถนำส่วนของพืชที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ เช่น ฟางข้าว ซังข้าวโพด และกากอ้อย มาใช้ในการผลิตได้

2.การผลิตและใช้เอทานอลจากเซลลูโลสช่วยลดก๊าซเรือนกระจกได้ถึงร้อยละ 85 ขณะที่การผลิตและใช้เอทานอลที่ผลิตจากแป้งช่วยลดก๊าซเรือนกระจกเพียงร้อยละ18 ถึง 29

3.ช่วยลดปัญหาการนำพืชอาหารที่ใช้บริโภคไปผลิตเอทานอลเพราะเซลลูโลสเป็นส่วนของพืชที่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้วัตถุดิบที่นำมาผลิตจึงไม่ใช่อาหารที่มนุษย์บริโภค

4.ทำให้มีปริมาณวัตถุดิบใช้ผลิตเอทานอลได้เพิ่มขึ้น จากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น น้ำอ้อยนำมาผลิตเอทานอลขณะที่กากอ้อยนำมาผลิตเอทานอล

ทั้งนี้อุปสรรคสำคัญของการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส คือ ต้นทุนการผลิตยังค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับเอทานอลที่ผลิตจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลและแป้ง

2.4.2 วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส

กากชีวมวลที่มีเซลลูโลสเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลเป็นที่น่าสนใจเนื่องจากสารจำพวกลิกโนเซลลูโลสมีปริมาณมาก หาได้ง่าย และมีราคาถูก นอกจากนั้นยังเป็นกากหรือวัสดุเหลือใช้ในการเกษตร การใช้กากชีวมวลทำให้สามารถเก็บแป้งหรือน้ำตาลไว้เป็นอาหารและนำส่วนที่เหลือทิ้งมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน โครงสร้างของกากชีวมวลที่เป็นลิกโนเซลลูโลส ที่นำมาใช้ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยสารหลักๆ 3 ชนิดคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและ ลิกนิน ในวัสดุชีวมวลแต่ละประเภทจะมีสัดส่วนของสารเหล่านี้ที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและสภาวะที่พืชเจริญเติบโต เช่น ภูมิอากาศ ความสมบูรณ์ของดิน เป็นต้น

2.4.3 กระบวนการผลิต

โดยทั่วไปกระบวนการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสมีลักษณะคล้ายกับการใช้วัตถุดิบประเภทแป้ง แต่มีขั้นตอนการปรับสภาพวัตถุดิบเพิ่มเติมขึ้นมาเพื่อให้สามารถย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลได้ง่ายยิ่งขึ้น

2.4.3.1 การปรับสภาพวัตถุดิบ (กรมพลังงานทหาร, 2553: ออนไลน์)

เนื่องจากเซลลูโลสที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลอยู่ในรูปที่เป็นสารผลึกของสารประกอบเชิงซ้อน (Complex) กับลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ซึ่งส่วนที่นำมาใช้จริงคือ ส่วนของเซลลูโลสเท่านั้น ขั้นตอนแรกจึงต้องแยกเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบก่อน เพราะส่วนประกอบทั้งสองทำให้พื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ลดลง ซึ่งการมีลิกนินปริมาณมากจะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไม่ดีเท่าที่ควร และยังเป็นอุปสรรคต่อการหมัก (Fermentation) ด้วย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนการผลิตเอทานอลคือเพื่อแยกลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออก และเป็นการปรับโครงสร้าง ของเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาการย่อยด้วยเอนไซม์ วิธีการปรับสภาพแบ่งได้เป็น 4 วิธีคือ

<u>การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical Pretreatment)</u> เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบ และทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออกเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เช่น การบด หรือการใช้ความร้อน

<u>การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (Chemical Pretreatment)</u> จะใช้สารละลายกรดเพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยเฮมิเซลลูโลสเพราะเฮมิเซลลูโลสสามารถย่อยสลายในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลส หรือใช้สารละลาย ด่างเพื่อเพิ่มปริมาณการละลายของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

ก) การใช้กรดอ่อน กรดแก่ และเบส กระบวนการใช้กรดอ่อนจะใช้กรดเกลือหรือกรดไนตริกเจือจาง กระบวนการที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ การใช้กรดกำมะถันเจือจาง (ร้อยละ 0.5 ถึง 1.5, 160 องศาเซลเซียส) เนื่องจากในสภาวะนี้จะได้ผลผลิต (Yield) ของเฮมิเซลลูโลสสูงถึงร้อยละ 75 ถึง 90 ข้อเสียของกระบวนการนี้คือ การใช้อุณหภูมิที่สูงจะทำให้เกิดสารที่ไม่ต้องการและมีความเป็นพิษต่อกระบวนการหมักในขั้นตอนต่อไป ถึงแม้ว่าการใช้กรดอ่อนจะมีต้นทุนต่ำแต่การกำจัดสารพิษที่เกิดขึ้นมีราคาสูง จึงมีการคิดกระบวนการใหม่โดยเพิ่มความเข้มข้นของกรดที่ใช้และทำในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า ทำให้สามารถลดการเกิดสารพิษลงได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากกรดแก่ที่ใช้นั้นยากต่อการจัดการและจำเป็นต้องนำกลับมาใช้ใหม่ มิฉะนั้นจะไม่คุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ การนำวิธีการแยกด้วยไฟฟ้าและโครมาโตกราฟแบบแลกเปลี่ยนไอออนเพื่อการนำกรดมาใช้ใหม่ได้ จึงมีการวิจัยเพื่อพัฒนามาใช้จริงในอุตสาหกรรม

ข) การย่อยด้วยด่าง การปรับสภาพสามารถทำได้ด้วยด่างเช่นกัน โดยด่างจะทำให้เกิดปฏิกิริยาสบู่ (Saponification) ของพันธะเอสเตอร์ระหว่างโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสกับสารอื่น เช่น ลิกนิน การปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง ทำให้วัสดุเกิดการพองตัวส่งผลให้พื้นที่ผิวภายในเพิ่มขึ้น และความเป็นผลึกลดลง เกิดการแยกตัวของโครงสร้างลิกนินและเฮมิเซลลูโลส การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางสามารถลดปริมาณของลิกนินในไม้เนื้อแข็งลงได้และส่งผลดีต่อสารจำพวกฟางที่มีปริมาณลิกนินต่ำ แต่ไม่เหมาะกับวัสดุที่มีลิกนินสูง นอกจากนี้แอมโมเนียยังสามารถใช้กำจัดลิกนินได้ โดยประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนินด้วยอยู่ที่ร้อยละ 60 ถึง 80 สำหรับซังข้าวโพด (Corn cobs) และร้อยละ 65 ถึง 85 สำหรับหญ้าจำพวกสวิตช์แกรซ (Switchgrass) แม้ว่าการใช้ด่างจะทำให้การย่อยเซลลูโลสในขั้นต่อไปมีประสิทธิภาพสูงขึ้น แต่วิธีนี้นอกจากจะต้องใช้เกลือที่มีราคาแพงแล้วยังสร้างของเสียที่เป็นเบสซึ่งยากต่อการกำจัด อาจเกิดเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมขึ้นได้

ค) การย่อยด้วยโอโซน โอโซนจะทำปฏิกิริยากับลิกนินและเฮมิเซลลูโลสโดยไม่ทำให้เซลลูโลสเปลี่ยนแปลง การย่อยด้วยวิธีนี้ใช้กับวัสดุหลายชนิด เช่น ฟางข้าวสาลี ชานอ้อย เปลือกถั่วลิสง และขี้เลื่อย ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนินโดยที่ไม่สร้างสารยับยั้งและสามารถทำได้ที่อุณหภูมิและความดันปกติ แต่เนื่องจากจำเป็นต้องใช้โอโซนปริมาณมาก ทำให้เป็นวิธีที่มีต้นทุนสูง

การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์ (Physico-chemical Pretreatment) เป็นวิธีที่ใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี เช่นการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และความร้อนในสภาวะความดันสูงของการปรับสภาพฟางข้าวในกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าประสิทธิภาพการย่อยขึ้นจะอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และความร้อนที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้ความร้อนภายใต้สภาวะความดันสูงเพียงอย่างเดียว พบว่าการย่อยสลายลดลงเมื่อความร้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการแตกตัวของน้ำตาลที่เกิดขึ้น เปลี่ยนเป็นสารประเภทเฟอฟูรัล (Furfural) สารฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde) หรือกรดฟอร์มิก (Formic Acid) ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์

การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ เป็นการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสให้อยู่ในรูปโซ่ตรงและช่วยลดความเป็นผลึก

2.4.3.2 การย่อยเซลลูโลส

กระบวนการนี้เป็นการย่อยเซลลูโลสให้เป็นกลูโคสโดยใช้กรด ด่างหรือเซลลูเลส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ถ้าวัตถุดิบผ่านการปรับสภาพแล้วจะได้น้ำตาลมากกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับการไม่ปรับสภาพจะให้น้ำตาลเพียงร้อยละ 20

ก) การย่อยด้วยกรด

ในกรณีนี้จะเป็นกระบวนการที่ทำต่อจากการย่อยด้วยกรดในกระบวนการปรับสภาพ ซึ่งในขั้นตอนนี้สามารถใช้ได้ทั้งกรดอ่อนและกรด แก่ กระบวนการที่ใช้กรดอ่อนเป็นกระบวนการที่เก่าที่สุด ในขั้นตอนการปรับสภาพจะใช้กรดกำมะถันเจือจาง (ร้อยละ 0.7) ทำที่อุณหภูมิต่ำ (190 องศาเซลเซียส) เพื่อป้องกันการเกิดสารไม่พึงประสงค์ หลังจากแยกน้ำตาลเพนโตสออกไปแล้ว ในขั้นสองจะเพิ่มอุณหภูมิขึ้นเป็น 215 องศาเซลเซียส แต่ลดความเข้มข้นของกรดลงเพื่อผลิตน้ำตาลเฮกโซส ทั้งสองขั้นตอนใช้เวลาในแต่ละขั้นเพียง 3 นาที น้ำตาลที่ได้จากทั้งสองขั้นตอนจะนำไปเข้ากระบวนการหมัก ถ้าใช้กรดแก่จะได้ประสิทธิภาพที่สูงกว่าคือได้น้ำตาลมากกว่าร้อยละ 90 และสามารถใช้กับวัตถุดิบที่หลากหลายกว่า ปัญหาสำหรับการใช้กรดแก่นอกจากราคาของอุปกรณ์ที่ใช้จะแพงกว่าแล้ว การนำกรดกลับมาใช้ใหม่ เพื่อลดปริมาณกรดที่ต้องใช้เป็นเรื่องที่สำคัญมาก

ข) การย่อยด้วยเอนไซม์

เอนไซม์คือกลุ่มโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษแตกต่างจากโปรตีนทั่วไป เพราะมีความสามารถเร่งปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเร่งสังเคราะห์ โดยสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะไม่รุนแรง และไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์จะเพิ่ม

อัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้ (ปราณี อ่านเปรื่อง , 2545)การใช้เอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยเซลลูโลสมีข้อได้เปรียบการใช้กรดเนื่อง จากสภาวะการทำงานที่ไม่รุนแรง ทำให้มีต้นทุนการบำรุงรักษาที่ต่ำ มีประสิทธิภาพสูง สามารถใช้กับกระบวนการปรับสภาพเกือบทุกชนิด และการใช้เอนไซม์จะมีศักยภาพสูงสุดในระยะยาว เนื่องจากมีต้นทุนที่ต่ำกว่าการย่อยด้วยกรด ซึ่งประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับสัดส่วนวัตถุดิบต่อเอนไซม์ ถ้าสัดส่วนสูงไปจะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ในขณะที่สัดส่วนที่ต่ำไปจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาและประสิทธิภาพลดลงตามไปด้วย โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาสามารถทำให้เพิ่มขึ้นได้โดยการเติมสารลดแรงตึงผิว เพื่อช่วยในการดูดซับของเอนไซม์หลังเกิดปฏิกิริยา การใช้เอนไซม์หลายๆ ชนิดผสมกัน ไม่ว่าจะเป็นเซลลูเลสจากหลายๆ แหล่งหรือผสมเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น เพคติเนสลงไปก็สามารถช่วยเปลี่ยนเศษไม้ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำไปเป็นน้ำตาลได้เกือบทั้งหมด เอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการนี้มี 3 กลุ่มคือ ลิกเนส เฮมิเซลลูเลส และเซลลูเลส

เอนไซม์กลุ่มลิกเนสเป็นเอนไซม์ของรา ผลิตออกมาย่อยลิกนินในสภาวะที่มีออกซิเจน ในกลุ่มนี้มีเอนไซม์ 2 ประเภท คือ แลคเคสและเปอร์ออกซิเดส เอนไซม์กลุ่มลิกเนสนี้มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะผ่านเนื้อไม้ที่ไม่มีการปรับสภาพเข้าไปย่อยลิกนินภายในได้

เฮมิเซลลูโลสเป็นสารโพลีเมอร์ของน้ำตาลที่ละลายได้ในอัลคาไล ประกอบด้วยบางส่วนของผนังเซลล์ที่เป็นเซลลูโลส และเบต้า ดี-กลูแคน สารตระกูลเพคติน (Polygalacturonans) และเฮทเทอโรพอลิแซคคาไรด์ (Heteropolysaccharide) ที่มีแกแลคโตส แมนโนส และไซโลส เฮมิเซลลูโลสจะมีจำนวนหน่วยของโมโนเมอร์ในช่วงประมาณ 100 ถึง 200 หน่วย ซึ่งเล็กกว่าเซลลูโลสมาก (10,000 ถึง 14,000 หน่วย) เอนไซม์กลุ่มของเฮมิเซลลูเลสจะประกอบด้วยหน่วยที่ยึดจับกับคาร์โบไฮเดรตกับหน่วยที่ช่วยคะ ตะไลส์ปฏิกิริยา โดยที่หน่วยหลังจะเป็นไกลโคไซด์ไฮโดรเลส (Glycoside hydrolase) ที่จะทำลายพันธะไกลโคไซด์ (Glycoside) ระหว่างโมเลกุลของน้ำตาล และคาร์โบไฮเดรตเอสเตอร์เรส (Carbohydrate esterase) ที่จะย่อยพันธะเอสเตอร์ที่เป็นกลุ่มข้างเคียง (Side group) ของโพลีเมอร์ เอนไซม์ของกลุ่มนี้คือ ไซลาเนสที่ย่อยพันธะเบต้า -1,4 ระหว่างน้ำตาลหลักหรือไซลานเปลี่ยนเฮมิเซลลูโลสให้กลายเป็นไซโลโอลิโกเมอร์(Xylooligomer) แล้วย่อยต่อจนได้ไซลานโมเลกุลเดี่ยว

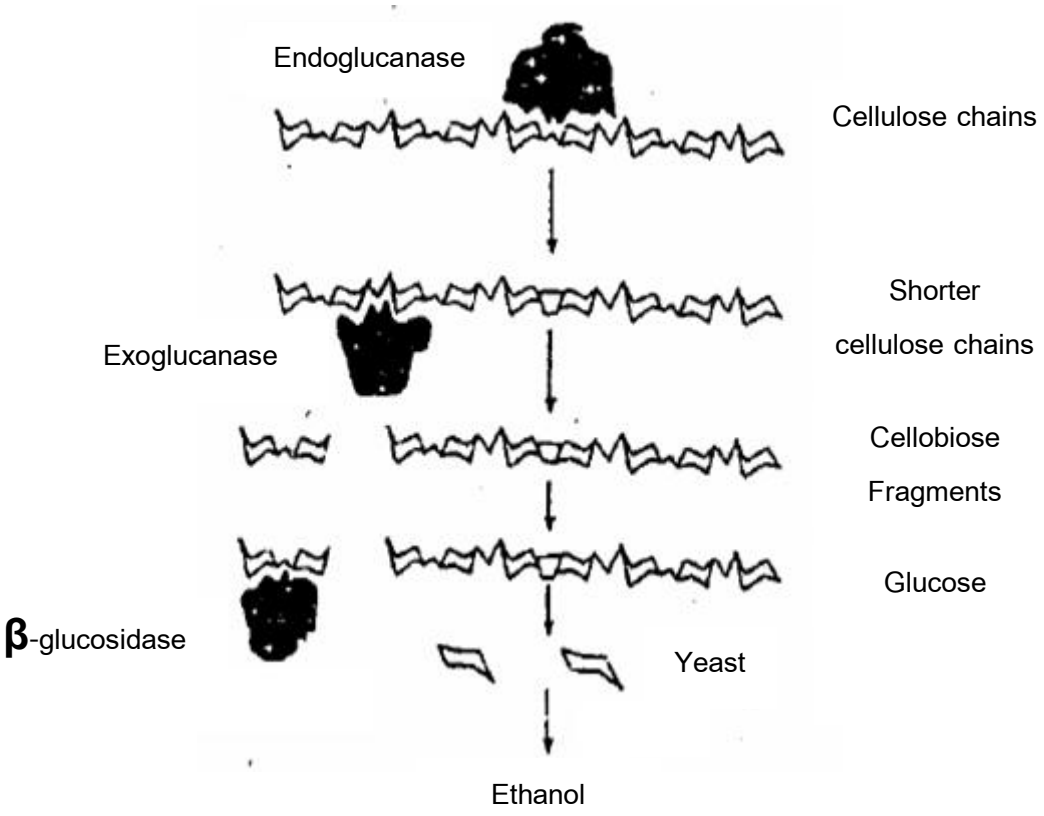
เซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเบต้า-1, 4 โดยปริมาณเฉลี่ยของจำนวนกลูโคสต่อสายเซลลูโลสอยู่ประมาณ 10,000 หน่วย ในเซลลูโลสมีทั้งส่วนที่เป็นผลึกและส่วนที่มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน (Amorphous) ประกอบเป็นโครงสร้างที่แข็งแรงและทนทานต่อการย่อย

สลายด้วยเอนไซม์ โดยเฉพาะส่วนที่เป็นผลึก เอนไซม์เซลลูเลสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ 3 ชนิด ที่ทำงานร่วมกันแบบ “Synergisticaction” แสดงดังภาพที่ 2.3 ได้แก่

ก) เอ็นโดกลูคาเนส (Endoglucanase, C_X) ทำหน้าที่ย่อยสลายโอลิโก - แซคคาไรด์ และย่อยสลายเซลลูโลสให้เปลี่ยนเป็นเซลโลไบโอส โดยจะย่อยสลายจากทางด้านปลายรีดิวซ์ (Reducing End) ของสายโซ่เซลลูโลส

ข) เอ็กโซกลูคาเนส (Exoglucanase, C_1) ทำหน้าที่ย่อยสลายโอลิโกแซคคาไรด์และเซลลูโลสให้เปลี่ยนเป็นเซลโลไบโอส ตำแหน่งที่ทำงานเป็นแบบสุ่ม (Random)

ค) เบต้า-กลูโคสิเดส (β-glucosidase, C_b) ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสให้เปลี่ยนเป็นกลูโคส



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของเซลลูโลสและตำแหน่งที่เอนไซม์ชนิดต่างๆเข้าทำปฏิกิริยา (http://www1.mod.go., 2553: ออนไลน์)

2.4.3.3 การกำจัดสารยับยั้งและสารเจือปน

หลังจากกระบวนการปรับสภาพจะมีสารไม่ต้องการเจือปนอยู่ เช่น เฟอร์ฟูรอล (furfural) และไฮดรอกซิล เมทิล เฟอร์ฟูรอล (HMF) จากการทำปฏิกิริยาของน้ำตาล หรือกรดที่เกิดจากปฏิกิริยา หรือคงค้างจากกระบวนการปรับสภาพ สารพิษจะไปยับยั้งการหมักในขั้นต่อไป จำเป็นต้องทำการกำจัดออก โดยขั้นตอนการกำจัดจะเริ่มจากการแยกส่วนที่เป็นของเหลวออกจากกาก แล้วนำของเหลวไปผ่านการแลกเปลี่ยนไอออนและเติมปูนขาวเพื่อทำให้เป็นกลางด้วยกรด ในส่วนของการแลกเปลี่ยนไอออนแบบต่อเนื่องนั้นจะใช้แอมโมเนียไปแทนที่กรดและนำกรดกลับมาใช้ใหม่ สำหรับกระบวนการที่ใช้กรดเข้มข้นในการปรับสภาพ กรดที่ได้จะถูกเพิ่มความเข้มข้นแล้วหมุนเวียนกลับเข้าไปในกระบวนการ แต่สำหรับกระบวนการที่ใช้กรดเจือจาง การนำกลับไปใช้ใหม่อาจไม่คุ้มกับต้นทุน เมื่อเทียบกับการสะเทินด้วยปูนขาวซึ่งจะได้ยิปซัมออกมาในสัดส่วน 0.02 กิโลกรัมต่อทุกๆ กิโลกรัมของวัตถุดิบขาเข้า ยิปซัมนี้อาจนำไปใช้ในการปรับสภาพดินสำหรับทำการเกษตร

2.5 เยื่อกระดาษและกระดาษ

2.5.1 วัตถุดิบ

1. ไม้ เป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญที่สุดในอุตสาหกรรมกระดาษ แบ่งเป็น 2 ประเภทตามลักษณะของเส้นใย (Fiber)

1.1 ไม้เนื้ออ่อน (Soft Wood) จะเป็นไม้ที่มีเส้นใยยาว (ประมาณ3 ถึง 4 มิลลิเมตร) ส่วนใหญ่เป็นไม้ประเภทสน(Cone - Bearing Tree)

1.2 ไม้เนื้อแข็ง (Hard Wood) จะเป็นไม้ที่มีเส้นใยสั้น (ประมาณ 1 ถึง1.5 มิลลิเมตร) ส่วนใหญ่เป็นไม้ผลัดใบในฤดูใบไม้ร่วง (Deciduous Tree) เช่น กระถินเทพา (Acacia) ยูคาลิปตัส (Eucalyptus)

2. ไม้ล้มลุก ที่สำคัญเช่น ปอ ป่าน ลินิน ฝ้ายและไผ่ เป็นต้น

3. ชานอ้อย เป็นวัตถุดิบสำคัญของอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษในประเทศไทย

4. ฟางข้าว

5. กระดาษใช้แล้ว

ในประเทศไทยไม่มีแหล่งวัตถุดิบประเภทไม้เนื้ออ่อน เนื่องจากภูมิประเทศไม่อำนวย แต่สำหรับไม้เนื้อแข็ง มีการปลูกสวนป่ายูคาลิปตัสเป็นจำนวนมากในบริเวณภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเยื่อกระดาษ เนื่องจากเส้นใยของยูคาลิปตัสนั้นได้รับการยอมรับว่าเหมาะสมที่สุดในการนำมาผลิตเป็นกระดาษพิมพ์เขียน

2.5.2 องค์ประกอบหลักในเยื่อกระดาษ (บริษัท สุพรีมพริ้นท์ จำกัด, 2553: ออนไลน์) สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นเส้นใย และส่วนที่ไม่ใช้เส้นใย

2.5.2.1 องค์ประกอบที่เป็นเส้นใย

กระดาษสามารถยึดตัวเป็นแผ่นได้เกิดจากเส้นใยเป็นจำนวนมากสานกันอย่างไม่เป็นระเบียบ เส้นใยดังกล่าวโดยทั่วไปจะใช้เส้นใยจากธรรมชาติจากพืช อาจมีการใช้เส้นใยจากสัตว์หรือจากแร่ นอกจานี้ยังมีการใช้เส้นใยสังเคราะห์ เช่นพวกพอลิอาไมด์ (Polyamide) จะช่วยทดแทนการใช้เส้นใยจากธรรมชาติ และเพื่อเป็นการใช้ทรัพยากรได้คุ้มค่าประกอบกับการลดต้นทุนของกระดาษ ได้มีการนำกระดาษใช้แล้วมาใช้ในการผลิตกระดาษอีกครั้งหนึ่ง เยื่อที่ได้จากกระดาษที่ใช้แล้วจะมีความขาวและความแข็งแรงต่ำลง เนื่องจากต้องผ่านขบวนการขจัดสิ่งที่ปนเปื้อนมาด้วย

เส้นใยจากพืชที่เป็นตัวหลักของกระดาษ ทำมาจากไม้เนื้ออ่อน เช่น ต้นสน ต้นยูคาลิปตัส ซึ่งมีเส้นใยยาวช่วยให้กระดาษมีความแข็งแรงและเหนียว และมีการนำไม้เนื้อแข็ง จำพวก ต้นโอ๊ก ต้นเมเปิล มาใช้ทำเส้นใยซึ่งจะได้เส้นใยที่สั้นกว่าแต่ช่วยทำให้ผิวกระดาษเรียบและทึบแสงมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการนำพืชล้มลุก เช่น ต้นกก ปอกระเจา อ้อย ฝ้าย มาใช้ทำเยื่อกระดาษด้วย

เส้นใยจะประกอบด้วยเซลลูโลส (Cellulose) ซึ่งเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสมาเรียงต่อกันกับเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ซึ่งเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างโมเลกุลของกลูโคสและน้ำตาลอื่น ๆ เช่น แมนโนส (Mannose) ฟูโคส (Fucose) ไซโลส (Xylose) มาต่อกัน เส้นใยยังมีส่วนที่เป็นลิกนิน (Lignin) ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมเส้นใยให้อยู่ด้วยกัน ในขบวนการผลิตกระดาษ ลิกนินจะถูกขจัดออกจากเยื่อกระดาษ หากมีลิกนินหลงเหลืออยู่ในกระดาษ จะส่งผลทำให้กระดาษเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อได้รับแสง

2.5.2.2 องค์ประกอบที่ไม่ใช่เส้นใย

องค์ประกอบที่ไม่ใช่เส้นใยจะเป็นสารเติมแต่งหรือแอดดิทีฟ (Additives) ที่เติมระหว่างการผลิตกระดาษ เพื่อช่วยให้กระดาษที่ได้ออกมามีคุณสมบัติเหมาะกับการใช้งานที่ต้องการได้ดียิ่งขึ้น สารเติมแต่งมีมากมายแล้วแต่กรรมวิธีการผลิตของแต่ละโรงงาน โดยที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมีดังนี้

1. ฟิวเลอร์ (Filler) ใช้เพื่อให้กระดาษมีความขาวขึ้นเรียบขึ้น ทึบแสงมากขึ้น รับหมึกดีขึ้น และยังลดการซึมผ่านของหมึกพิมพ์ สารที่ใช้เติมเข้าไปได้แก่ ปูนขาว ดินเหนียว ไททาเนียมไดออกไซด์ เป็นต้น สารเหล่านี้ยังช่วยทำให้น้ำหนักกระดาษมากขึ้น ซึ่งเป็นการลดต้นทุนในการใช้เยื่อกระดาษได้

2. สารยึดติด (Adhesive) เป็นสารที่ช่วยให้เส้นใยและส่วนผสมอื่น ๆ ยึดติดกันได้ดี อีกทั้งช่วยให้ผิวหน้ายึดติดกับเนื้อกระดาษ สารยึดติดมีทั้งสารที่ทำมาจากธรรมชาติ เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมัน โปรตีนที่มีอยู่ในนม และสารที่สังเคราะห์ขึ้น เช่น อาคริลิก (Acrylic) สารจำพวกโพลิไวนิล (Polyvinyl) เป็นต้น

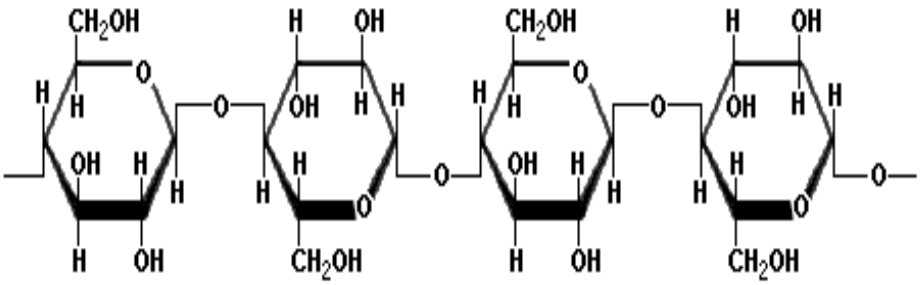
3. สารกันซึม (Sizing Agent) เป็นสารที่ใช้เติมลงในน้ำเยื่อ เพื่อช่วยลดการซึมของของเหลวเข้าไปในเนื้อกระดาษ กระดาษที่ใช้ในการพิมพ์ด้วยระบบออฟเซ็ทจำเป็นต้องเติมสารประเภทนี้ สารกันซึมที่ใช้มีทั้งสารที่ทำจากธรรมชาติและสารที่สังเคราะห์ขึ้น

4. สารเพิ่มความแข็งแรงของ ผิว (Surface Sizing) เป็นสารที่ถูกเคลือบบนผิวกระดาษในขั้นตอนการผลิตที่กระดาษที่เป็นแผ่นเรียบร้อยแล้ว เพื่อช่วยให้เส้นใยที่ผิวมีการยึดเกาะกับเส้นใยชั้นถัดลงไปได้ดีขึ้น ทำให้ผิวมีความแข็งแรงทนต่อการขูดขีด แรงดึง แรงกดทะลุ การถอนของผิว สารเพิ่มความแข็งแรงของผิวที่ใช้กันมากและราคาไม่สูงคือ แป้งอย่างละเอียด (Starch)

2.5.3 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเยื่อกระดาษ

เซลลูโลส (Cellulose) ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเส้นใยและให้ความแข็งแรง โครงสร้างเป็นลูกโซ่ของดี-กลูโคส ซึ่งเรียงตัวเกาะกันแบบ พันธะเบต้า -1,4-กลูโคซิเดส (β-1,4 glycosidic bond) ที่มีความยาวต่างกัน โดยจับข้างเคียงด้วยแขนแบบไฮโดรเจนทำให้เกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่า ไฟบริล (Fibrils) โดยแต่ละไฟบริลจะเรียงต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนซึ่งทำให้เกิดการยึดติดกันขึ้นมา แสดงดังภาพที่ 2.4 โมเลกุลของเซลลูโลสเรียงตัวกันในผนังเซลล์ของพืช ในธรรมชาติจะไม่พบเซลลูโลสในรูปอิสระแต่จะพบในรูปที่รวมตัวกับลิกนิน เฮมิเซลลูโลส เพนโตเซนกัม แทนนิน ไขมันและสารเกิดสี (Greulch, 1973) ทำให้เซลลูโลสมีความแข็งแรงไม่ละลายน้ำหรือสารอินทรีย์ใดๆ และไม่ละลายในสารละลายด่างอ่อนหรือกรดอ่อน แต่ละลายได้ดีในสารละลายด่างแก่หรือกรดแก่ ดังนั้นจึงสามารถจำแนกชนิดเซลลูโลส ได้เป็น 3 ชนิด ตามความสามารถในการละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Paturau, 1989)

1) แอลฟา-เซลลูโลส (α-cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ละลายได้ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น
2) เบต้า-เซลลูโลส (β-cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ละลายได้ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 ที่อุณหภูมิห้อง และสามารถตกตะกอนได้ง่ายในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด
3) แกมม่า-เซลลูโลส (γ-cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ละลายได้ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ17.5 ที่อุณหภูมิห้อง และในสารละลายกรดแต่สามารถตกตะกอนได้โดยใช้แอลกอฮอล์

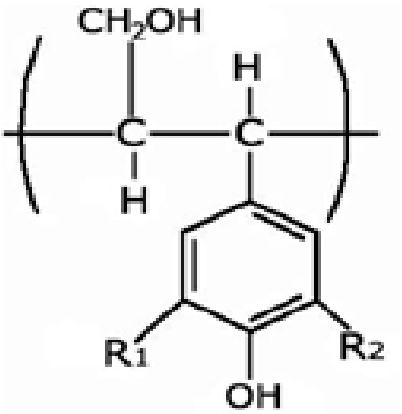


ภาพที่ 2.4 โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส
(http://www.scientificpsychic.com, 2553: ออนไลน์)

เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ทำหน้าที่เป็นสารยึดเซลลูโลสไว้ด้วยกันและให้ความแข็งแรงกับเส้นใย เป็นพอลิแซกคาไรด์ซึ่งคล้ายเซลลูโลสแต่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิด เช่น กลูโคส กาแลคโตส ไซโลส อะราบิโนส รวมทั้งกรดกลูคูโรนิกและกาแลกทูโรนิก โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยไซแลนซ์ (Xylans) แมนแนน (Mannans) และกาแลกแตน (Galactans) เฮมิเซลลูโลสต่างจากเซลลูโลสตรงที่โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสจะมีสายโพลิเมอร์ที่มีลักษณะกิ่งก้านสาขามากกว่าแต่ความยาวสายโพลิเมอร์สั้นกว่าเซลลูโลส มีลักษณะเป็นเฮทเทอโรจีนัส (heterogenous) (Paturau, 1989 และ Kirt และคณะ ,1983) สามารถจำแนกได้ดังนี้ คือ

1) เพนโตแซน (Pentosan) โครงสร้างทางเคมีส่วนใหญ่ประกอบด้วยไซแลน ซึ่งเป็นสารส่วนใหญ่ที่พบในเฮมิเซลลูโลส นอกจากนี้ยังประกอบด้วยอะราแบน (Araban) ซึ่งเมื่อโครงสร้างถูกย่อยจะได้น้ำตาลไซโลสและอะราบิโนส (Arabinose) ตามลำดับ
2) เฮกโซแซน (Hexosan) โครงสร้างทางเคมีส่วนใหญ่ประกอบด้วยแมนแนน กลูแคนและกาแลคแทน ซึ่งเมื่อโครงสร้างถูกย่อยจะได้น้ำตาลแมนโนส (Mannose) กลูโคส (Glucose) และกาแลคโตส (Galactose) ตามลำดับ
3) โพลียูโรไนด์ (Poryuronides) โครงสร้างทางเคมีส่วนใหญ่ ประกอบด้วยกรดโพลียูโรนิค นอกจากนี้ยังพบกรดยูโรนิคปนอยู่ แต่ตัวสำคัญคือ เฮกซูโรนิค ซึ่งได้แก่ เบต้า-ดี - แมนมูโรนิค (β-D-mammuronic) และเบต้า-ดี กลูคูโรนิค (β-D-glucuronic)

ลิกนิน (Lignin) ทำหน้าที่เป็นสารยึดและให้ความแข็งแรงกับเนื้อเยื่อของไม้ ในกระบวนการสกัดเยื่อกระดาษจะต้องกำจัดลิกนินออกไปเนื่องจากเป็นสาเหตุทำให้กระดาษมีสีคล้ำและเยื่อมีความแข็งแรงต่ำ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีน้ำหนักโมเลกุลสูงประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน แสดงดังภาพที่ 2.5 รวมกันเป็นหน่วยย่อยหลายชนิด ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในตัวทำละลายบางชนิด เช่น เอทานอล เมทานอล ที่อุณหภูมิสูงและในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ไม่มีสมบัติของการยืดหยุ่น ดังนั้นพืชที่มีลิกนินอยู่มากจึงมีความแข็งแรงและสามารถต้านทานต่อสารเคมีและการกระทบกระแทกต่างๆ เนื่องจากลิกนินเป็นตัวป้องกันเซลลูโลสจากการถูกย่อย



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างลิกนิน
(http://bugs.bio.usyd.edu.au, 2553: ออนไลน์)

2.5.4 กระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ (นัยนา นิยมวัน, 2553: ออนไลน์)

การสกัดเยื่อจากไม้หรือวัตถุดิบประเภทอื่นๆ สามารถทำได้ 3 วิธี คือ

1. กระบวนการทางกล (Mechanical pulping) โดยการบดเนื้อไม้ด้วยลูกกลิ้ง (Grinder or Grinding Stone) ขนาดใหญ่ จนเนื้อไม้ละเอียดแล้วนำมาแยกเยื่อออกจากเศษไม้หยาบ ต้นทุนดำเนินการของกระบวนการนี้จะต่ำ ผลที่ได้ (Yield) สูงเนื่องจากลิกนินถูกกำจัดออกไปต่ำมาก เยื่อที่ได้จึงมีความแข็งแรงต่ำ เหมาะกับการนำไปผลิตกระดาษคุณภาพต่ำ เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์

2. กระบวนการทางเคมี (Chemical pulping) การสกัดเยื่อจะใช้สารเคมี เพื่อแยกเซลลูโลส ออกมาให้มากที่สุด หรือเพื่อสกัดเอาลิกนินออกให้มากที่สุด บางกรณี จะสกัดเฮมิเซลลูโลสออกไปด้วย เยื่อที่ได้จะมีความแข็งแรงสูง ผลที่ได้ต่ำเนื่องจากลิกนินส่วนใหญ่ถูกจำกัดออกไปเหมาะกับการนำไปผลิตกระดาษคุณภาพชั้นดีแต่ต้นทุนดำเนินการสูง สารเคมีที่ใช้สกัดเยื่อจะต่างกันไปขึ้นกับกระบวนการ เช่น กระบวนการโซดา (Soda process) จะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) กระบวนการซัลเฟต (Sulphate process) จะใช้โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulphate) กระบวนการนี้บางครั้งเรียก กระบวนการคราฟท์ (Kraft process) เยื่อที่ได้จากกระบวนการนี้จะมีความแข็งแรงที่สุดและกระดาษที่ผลิตจากเยื่อคราฟท์จะเรียก กระดาษคราฟท์ ส่วนกระบวนการซัลไฟต์ (Sulphite process) จะใช้สารพวกไบซัลไฟต์ (Bisulphite) และหรือกรดซัลฟิวรัส (Sulphurous acid)

3. กระบวนการกึ่งเคมี (Semi-chemical pulping) เป็นกระบวนการ 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกเป็นการใช้สารเคมีเพื่อทำให้สารที่ยึดเส้นใยอ่อนตัวลงทำให้สามารถสกัดเยื่อออกมาง่ายขึ้นและใช้พลังงานน้อยลง ขั้นตอนที่ 2 เป็นการบดเนื้อไม้หรือวัตถุดิบอื่นๆ ที่ผ่านการแช่สารเคมีมาแล้วเพื่อสกัดเยื่อออกมา เยื่อที่ได้จากวิธีนี้จะมีความแข็งแรงมากกว่าเยื่อที่สกัดโดยกระบวนการทางกลแต่แข็งแรงน้อยกว่าเยื่อที่สกัดด้วยกระบวนการทางเคมี ผลที่ได้ต่ำกว่ากระบวนการทางกลเนื่องจากลิกนินบางส่วนถูกกำจัดออกไป

2.5.5 กระบวนการผลิตกระดาษ (บริษัท แอ๊ดวานซ์ อะโกร จำกัด(มหาชน), 2553: ออนไลน์) หลังจากผสมน้ำเยื่อเรียบร้อยแล้ว น้ำเยื่อจะถูกส่งเข้าสู่เครื่องจักรผลิตกระดาษ เพื่อทำให้เป็นแผ่นกระดาษที่ยาวต่อเนื่องเรียกว่า กระดาษม้วน โดยทั่วไปเครื่องจักรผลิตกระดาษประกอบด้วยส่วนต่างๆ ได้แก่

1. ถังจ่ายเยื่อ (Headbox) เป็นอุปกรณ์ชิ้นแรกของเครื่องจักรผลิตกระดาษทำหน้าที่จ่ายน้ำเยื่อเข้าสู่ตะแกรงลวดเดินแผ่น ทำลายกลุ่มเส้นใย (Flocculated fiber) ในน้ำเยื่อและ

ปล่อยน้ำเยื่อลงบนตะแกรงลวดเดินแผ่นอย่างสม่ำเสมอตลอดความกว้างของเครื่องจักร ถังจ่ายเยื่อที่ใช้กันทั่วไปมีอยู่ 2 ชนิด คือ ชนิดเบาะอากาศ (Air cushion headbox) และชนิดไฮดรอลิก (Hydralic headbox)

2. ส่วนตะแกรงลวดเดินแผ่น (Wire section หรือ Forming section) ทำหน้าที่สำคัญ 2 ประการคือ การก่อตัวเป็นแผ่นกระดาษด้วยกระบวนการกรองและการแยกน้ำออก (Dewatering) แผ่นเปียกที่ออกจากส่วนนี้จะมีน้ำอยู่ถึงร้อยละ 80 ส่วนตะแกรงลวดเดินแผ่นนี้เป็นอุปกรณ์ที่สำคัญมากต่อความสม่ำเสมอของเส้นใยในเนื้อกระดาษ ลำน้ำเยื่อจากถังจ่ายเยื่อจะตกกระทบตะแกรงลวดเดินแผ่นที่ฟอร์มมิ่งบอร์ด ความเร็วของลำน้ำเยื่อจะสูงหรือต่ำกว่าความเร็วของตะแกรงลวดเดินแผ่นเล็กน้อย เพื่อให้ได้ความแข็งแรงและความสม่ำเสมอของเส้นใยในเนื้อกระดาษ ความแตกต่างของความเร็วลำน้ำเยื่อและตะแกรงลวดเดินแผ่นร่วมกับตำแหน่งที่น้ำเยื่อตกบนฟอร์มมิ่งบอร์ด เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของกระดาษอย่างมาก (บางครั้งเรียกอัตราส่วนของความเร็วน้ำเยื่อหารด้วยความเร็วของตะแกรงลวดเดินแผ่นว่า Efflux ratio) เมื่อน้ำเยื่อผ่านมาบนตะแกรง น้ำบางส่วนของน้ำเยื่อรวมทั้งเส้นใยและสารเติมแต่งที่มีขนาดเล็กกว่าขนาดของช่องตะแกรงจะไหลผ่านตะแกรงออกไปโดยอาศัยแรงดึงดูดของโลก และแรงดูดจากอุปกรณ์เสริมอื่น ที่ติดตั้งอยู่ใต้ตะแกรง น้ำที่หายไปจะมีผลทำให้เส้นใยเซลลูโลสอยู่ชิดกันและเกี่ยวประสานกันได้มากขึ้น จนเกิดลักษณะเป็นแผ่นกระดาษ แผ่นกระดาษที่ได้มีผิวหน้าสองด้านที่มีสมบัติหลายประการแตกต่างกัน โดยการเรียกด้านของกระดาษใช้การสัมผัสและไม่สัมผัสตะแกรงเป็นเกณฑ์ โดยด้านของแผ่นกระดาษที่สัมผัสตะแกรงเรียกว่า ด้านตะแกรง (Wire side) ส่วนด้านของแผ่นกระดาษที่อยู่ตรงข้ามด้านตะแกรงเรียกว่า ด้านสักหลาด (Felt side) ซึ่งเป็นด้านที่สัมผัสกับผืนสักหลาดที่ทำหน้าที่ในการส่งผ่านสายของแผ่นกระดาษ (Paper wed) บนเครื่องผลิตกระดาษ ปริมาณน้ำที่อยู่ในแผ่นกระดาษหลังการแยกน้ำออกแล้วมีอยู่ประมาณร้อยละ 80 ถึง85 โดยน้ำหนัก

3. ส่วนกดรีดน้ำ (Pressing section) สายของแผ่นกระดาษที่เกิดขึ้นหลังจากการแยกน้ำแล้วจะเคลื่อนที่เข้าไประหว่างลูกกลิ้งกดรีดน้ำ (Press rolls) เพื่อขจัดน้ำออกจากแผ่นกระดาษให้ได้มากที่สุด ก่อนที่จะส่งต่อไปยังหน่วยทำแห้ง ปริมาณน้ำที่ยังมีอยู่ในแผ่นกระดาษเปียกหลังผ่านการกดรีดน้ำแล้วเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 60 ถึง 70 โดยน้ำหนัก ในส่วนกดรีดน้ำนี้ จะมีการจัดเรียงของชุดกดรีดน้ำหลายรูปแบบ ขึ้นอยู่กับชนิดของกระดาษที่ผลิต สำหรับกระดาษพิมพ์เขียนซึ่งต้องการให้ผิวสองด้านของกระดาษเรียบเท่าๆ กัน ผิวทั้งสองด้านของกระดาษต้องถูกกดด้วยผิวลูกกลิ้งกดรีดน้ำที่เรียบโดยไม่มีผ้าสักหลาด แต่การกดรีดน้ำโดยไม่มีผ้าสักหลาดรองรับ จะทำให้

น้ำระบายออกจากกระดาษได้ยาก การระบายน้ำไม่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงมักมีผ้าสักหลาดหนึ่งหรือสองผืนเสมอ ในจำนวนของลูกกลิ้งกดรีดน้ำทั้งหมดจะมีอยู่หนึ่งลูกที่เป็นแบบสุญญากาศ หรือลูกกลิ้งกดรีดน้ำที่มีผิวเป็นรูหรือช่อง เพื่อให้น้ำระบายออกจากกระดาษได้มากขึ้นนอกจากการกดรีดน้ำออกแล้ว ลูกกลิ้งกดรีดน้ำยังมีหน้าที่ช่วยกดอัดให้เส้นใยเซลลูโลสมาอยู่ใกล้กันและเกิดพันธะเคมีต่อกันได้มากยิ่งขึ้น ทำให้แผ่นกระดาษมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น รวมทั้งช่วยเพิ่มความเรียบให้กับผิวกระดาษด้วย

4. ส่วนอบแห้งกระดาษ (Drying section) การทำแห้งกระดาษทำโดยอาศัยความร้อนจากไอน้ำอิ่มตัวความดันต่ำที่ถูกจ่ายเข้าไปข้างในลูกอบแห้ง ทำให้ผิวลูกอบแห้งร้อนขึ้น แล้วกลั่นตัวเป็นคอนเดนเสท (Condensate) คอนเดนเสทจะฟอร์มตัวเป็นฟิล์มอยู่ที่ผิวด้านในของลูกอบแห้ง ฟิล์มนี้ต้องไม่หนาจนเกินไปเพราะจะทำให้การถ่ายเทความร้อนระหว่างไอน้ำและผิวลูกอบไม่ดี การระบายคอนเดนเสทออกจากลูกอบแห้งเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการอบแห้งกระดาษ ซึ่งความร้อนนี้จะทำให้ปริมาณน้ำในแผ่นกระดาษมีอยู่ประมาณร้อยละ 2 ถึง 8 โดยน้ำหนัก ในหน่วยทำแห้งนี้อาจมีการเคลือบสารละลายของสารเพิ่มความแข็งแรงผิวให้แก่กระดาษ การเคลือบสารเพิ่มความแข็งแรงผิวบนกระดาษเกิดขึ้นเมื่อสายของแผ่นกระดาษเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปในหน่วยเคลือบสารเพิ่มความแข็งแรงผิว ซึ่งอยู่ก่อนส่วนทำแห้งส่วนสุดท้ายของหน่วยทำแห้ง เมื่อสารเพิ่มความแข็งแรงผิวได้รับการเคลือบบนกระดาษแล้ว สายของกระดาษก็จะเคลื่อนที่เข้าสู่ส่วนทำแห้งส่วนสุดท้ายเพื่อทำให้สารเพิ่มความแข็งแรงผิวบนกระดาษเกิดการแห้งตัวก่อนที่สายของแผ่นกระดาษจะเคลื่อนเข้าสู่ขั้นต่อไป

5. ส่วนฉาบผิวกระดาษ (Size-press section) เป็นการฉาบผิวกระดาษ (Surface sizing) กระดาษที่ผ่านส่วนอบแห้งชุดแรกจะถูกฉาบด้วยน้ำแป้งที่ต้มสุก โดยน้ำแป้งจะฉาบอยู่ที่ผิวกระดาษทั้งสองข้างทำให้ผิวกระดาษแข็งแรงขึ้นและทำให้กระดาษมีความต้านทานน้ำเพิ่มขึ้นด้วยเพราะน้ำแป้งจะไปอุดรูที่ผิวกระดาษ ถัดจากเครื่องฉาบผิวจะเป็นส่วนให้ความร้อนแบบลมร้อน (Air foil) และส่วนอบแห้งชุดหลังเพื่อให้กระดาษแห้ง อาจมีการเติมสารเติมบางอย่างลงในน้ำแป้งด้วย เช่น สารฟอกนวล เป็นต้น

6. ส่วนรีดผิวกระดาษ (Calendaring section) เป็นอุปกรณ์ที่อยู่ถัดจากส่วนอบแห้งชุดหลัง ประกอบด้วยลูกรีดทรงกระบอกซึ่งทำจากโลหะวางซ้อนกัน ผิวของลูกรีดจะแข็งและเรียบมาก กระดาษจะถูกดึงผ่านไประหว่างลูกรีด ทำให้กระดาษบางลง เรียบขึ้น และมีความหนาสม่ำเสมอขึ้น การรีดผิวกระดาษนี้เป็นขั้นตอนสุดท้ายก่อนที่สายของแผ่นกระดาษจะเข้าม้วน (Peeling) แล้วนำออกจากเครื่องผลิตกระดาษเพื่อนำไปตัดเป็นม้วนขนาดเล็กหรือเป็นแผ่นเพื่อ

จำหน่ายต่อไป กระดาษที่ผลิตเสร็จแล้วอาจมีการปรับปรุงคุณภาพของผิวกระดาษให้มีความเรียบเพิ่มขึ้นเพื่อเพิ่มความสามารถในการพิมพ์และมีความแข็งแรงขึ้น เช่น การเคลือบกระดาษโดยการนำกระดาษที่ผลิตมาเคลือบผิวโดยเฉพาะ ผ่านเข้าเครื่องผิวกระดาษ (Coater) และการขัดมันโดยการนำกระดาษที่ผ่านการเคลือบผิวแล้วไปผ่านเครื่องขัดมัน (Supercalender) หลังจากนั้นจึงนำกระดาษมารอแบ่งและเปลี่ยนแกนเป็นแกนกระดาษต่อไป

นอกจากขั้นตอนต่างๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น ยังมีขั้นตอนอีก 2 ขั้นตอนที่กระดาษอาจต้องผ่านการปรับปรุงคุณภาพของผิวกระดาษก่อนออกจำหน่าย ได้แก่

1) การเคลือบผิวกระดาษ (Coating) การเคลือบผิวกระดาษเป็นขั้นตอนสำหรับเคลือบผิวกระดาษด้วยตัวเติม โดยมีสารยึดตัวเติมให้ติดบนผิวกระดาษได้ การเคลือบผิวเพื่อช่วยให้กระดาษมีผิวหน้าที่เรียบขึ้นทำให้สภาพพิมพ์ได้ของกระดาษดีขึ้น กระดาษที่ผ่านการเคลือบผิวมีชื่อเรียกว่ากระดาษเคลือบผิว (Coated paper) ซึ่งการเคลือบผิวอาจเป็นแบบเคลือบด้านเดียวหรือเคลือบสองด้านของกระดาษ และอาจเคลือบด้านหรือเคลือบมันก็ได้ ทั้งนี้การเคลือบด้านหรือเคลือบมันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารเคลือบผิวที่ใช้ ความมันวาวของกระดาษที่นำมาเคลือบผิวและวิธีการที่ใช้ในการเคลือบผิวเป็นสำคัญ ทั้งนี้อุปกรณ์ในการเคลือบผิวกระดาษอาจเป็นส่วนหนึ่งของเครื่องผลิตกระดาษหรือแยกออกมาต่างหากก็ได้

2) การขัดผิวกระดาษ (Supercalendering) กระดาษที่ผ่านการรีดผิวหรือผ่านการเคลือบผิวมาแล้วเป็นกระดาษที่มีความเรียบและความมันวาวในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตามเพื่อเพิ่มความมันวาวของกระดาษให้มีมากยิ่งขึ้น กระดาษจะรับการขัดผิวโดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า ซูเปอร์คาร์ - แลนเดอร์ (Supercalender) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่ต่อแยกออกจากเครื่องผลิตกระดาษ อุปกรณ์ดังกล่าวประกอบด้วยลูกกลิ้งขัดผิวจำนวนมาก มีลักษณะเป็นกระบอกเรียงซ้อนกันในแนวตั้ง โดยมีลูกกลิ้งที่ทำจากเหล็กกล้าขัดมันเรียงสลับกับลูกกลิ้งที่หุ้มด้วยกระดาษหรือฝ้าย เมื่อสายของแผ่นกระดาษผ่านเข้าไประหว่างลูกกลิ้งแรงกดอัดระหว่างลูกกลิ้งที่กระดาษได้รับมีผลให้เส้นใยเซลลูโลสอัดตัวกันได้มากขึ้น และทำให้กระดาษมีผิวที่เรียบมากขึ้น อันเป็นผลทำให้ความมันวาวของกระดาษเพิ่มขึ้นตามจำนวนครั้งที่กระดาษได้รับการขัดผิว

ในกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ มีเยื่อที่หลุดออกมาจากกระบวนการต่างๆ โดย Solid Waste Management Center ได้แบ่งเป็นกลุ่ม ดังนี้

1. Primary sludge ได้แก่ ส่วนที่แขวนลอยอยู่ในน้ำเสียจากโรงงาน ซึ่งมีของแห้งประมาณร้อยละ 20 ถึง 45 ส่วนประกอบที่เป็นพวกอินทรีย์สารส่วนใหญ่ คือ เยื่อไม้และพวกอนินทรีย์ที่เป็น

ส่วนประกอบใน Primary sludge อาจพบพวกโคลน calcium carbonate, titanium dioxide เป็นต้น

2. Secondary sludge เป็นผลที่ได้จากการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพ สิ่งที่พบ ได้แก่ แบคทีเรีย นอกจากนี้ยังอาจพบไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ซึ่งอาจจะพบส่วนที่เพิ่มเข้าไปในส่วนของสูตรอาหารในระบบชีวภาพ

3. Combined sludge เป็นส่วนผสมของ Primary sludge และ Secondary sludge ส่วนที่พบก่อนที่จะนำน้ำไปกำจัดของเสีย

4. อื่นๆ ได้แก่ ของเสียจากเปลือกไม้หรือไม้ที่มีคุณภาพต่ำ

ในระหว่างกระบวนการผลิตมีเยื่อที่หลุดออกมาจากกระบวนการต่างๆ เยื่อกระดาษเป็นเยื่อที่เกิดจากการนำลำต้นของพืชที่ประกอบด้วยเซลลูโลสมาแปรรูป ดังนั้นเยื่อกระดาษ ก็คือเซลลูโลส สามารถนำเยื่อกระดาษมาย่อย (Hydrolyzed) เป็นกลูโคสก่อนแล้วจึงนำไปหมักเป็นเอทานอล เยื่อกระดาษเป็นเซลลูโลสที่ค่อนข้างบริสุทธิ์จึงเป็นแหล่งกลูโคสที่ดี ดังนั้นการใช้เยื่อกระดาษจึงน่าจะให้ผลผลิตที่ดีกว่า จึงเหมาะที่จะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล (มุกดา คูหิรัญ, 2546)

2.6 ประเภทของกระดาษ (บริษัท สุพรีมพริ้นท์ จำกัด, 2553: ออนไลน์)

การจำแนกกระดาษสามารถจัดแบ่งได้หลายวิธี ในที่นี้จะจัดแบ่งชนิดของกระดาษที่ใช้ในวงการพิมพ์ ซึ่งสามารถรวบรวมได้ดังนี้

1. กระดาษปรู๊ฟ (Newsprint) เป็นกระดาษที่มีส่วนผสมของเยื่อบดที่มีเส้นใยสั้นและมักนำเยื่อจากกระดาษใช้แล้วมาผสมด้วย กระดาษปรู๊ฟมีน้ำหนักเพียง 40 ถึง 52 กรัมต่อตารางเมตร มีสีอมเหลือง ราคาไม่แพงแต่ความแข็งแรงน้อย เหมาะสำหรับงานพิมพ์หนังสือพิมพ์และเอกสารที่ไม่ต้องการคุณภาพมาก

2. กระดาษแบ้งค์ (Bank Paper) เป็นกระดาษบางไม่เคลือบผิว น้ำหนักไม่เกิน 50 กรัมต่อตารางเมตร มีสีให้เลือกหลายสี ใช้สำหรับงานพิมพ์แบบฟอร์มต่าง ๆ ที่มีสำเนาหลายชั้น

3. กระดาษปอนด์ (Bond Paper) เป็นกระดาษที่ทำจากเยื่อเคมีที่ผ่านการฟอกและอาจมีส่วนผสมของเยื่อที่มาจากเศษผ้า มีสีขาว ผิวไม่เรียบ น้ำหนักอยู่ระหว่าง 60 ถึง 100 กรัมต่อตารางเมตร ใช้สำหรับงานพิมพ์ที่ต้องความสวยงามปานกลาง พิมพ์สีเดียวหรือหลายสีก็ได้

4. กระดาษอาร์ต (Art Paper) เป็นกระดาษที่ทำจากเยื่อเคมี (เยื่อที่ผลิตโดยใช้สารเคมี) และเคลือบผิวให้เรียบด้านเดียวหรือทั้งสองด้าน การเคลือบอาจจะเคลือบมันเงาหรือ

แบบด้านก็ได้ มีสีขาว น้ำหนักอยู่ระหว่าง 80 ถึง 160 กรัมต่อตารางเมตร ใช้สำหรับงานพิมพ์ที่ต้องการความสวยงาม งานพิมพ์สอดสี เช่น แคตตาล็อก โบร์ชัวร์

5. กระดาษฟอกขาว (Woodfree Paper) เป็นกระดาษที่ทำจากเยื่อเคมี (เยื่อที่ผลิตโดยใช้สารเคมี) และฟอกให้ขาว เป็นกระดาษที่มีคุณภาพและมีความหนาแน่นสูง การดูดซึมน้อย ใช้สำหรับงานพิมพ์หนังสือ กระดาษพิมพ์เขียน

6. กระดาษเหนียว (Kraft Paper) เป็นกระดาษที่ทำจากเยื่อซัลเฟต (เยื่อใยยาวที่ผลิตโดยใช้สารซัลเฟต) จึงมีความเหนียวเป็นพิเศษ มีสีเป็นสีน้ำตาล น้ำหนักอยู่ระหว่าง 80 ถึง 180 กรัมต่อตารางเมตร ใช้สำหรับทำสิ่งพิมพ์บรรจุภัณฑ์ กระดาษห่อของ ถุงกระดาษ

7. กระดาษการ์ด (Card Board) เป็นกระดาษที่มีความหนาและแข็งแรง ประกอบด้วยชั้นของกระดาษหลายชั้น ชั้นนอกสองด้านมักเป็นสีขาว แต่ก็มีการ์ดสีต่าง ๆ ให้เลือกใช้ บางชนิดมีผิวเคลือบมันเรียบ ซึ่งเรียก กระดาษอาร์ตการ์ด น้ำหนักกระดาษการ์ดอยู่ระหว่าง 110 ถึง 400 กรัมต่อตารางเมตร ใช้สำหรับทำปกหนังสือ บรรจุภัณฑ์ที่มีราคา เช่นกล่องเครื่องสำอาง

8. กระดาษกล่อง (Box Paper) เป็นกระดาษที่ทำจากเยื่อบด และมักนำเยื่อจากกระดาษใช้แล้วมาผสม มีสีคล้ำไปทางเทาหรือน้ำตาล ผิวด้านหนึ่งมักจะประกบด้วยชั้นของกระดาษขาวซึ่งอาจมีผิวเคลือบมันหรือไม่ก็ได้เพื่อความสวยงามและพิมพ์ภาพลงไปได้ หากเป็นกระดาษไม่เคลือบ จะเรียก กระดาษกล่องขาว หากเป็นกระดาษเคลือบผิวมัน จะเรียก กระดาษกล่องแป้ง น้ำหนักกระดาษกล่องอยู่ระหว่าง 180 ถึง 600 กรัมต่อตารางเมตร ใช้สำหรับทำสิ่งพิมพ์บรรจุภัณฑ์ เช่น กล่อง ป้ายแข็ง เป็นต้น

9. กระดาษแข็ง (Hard Board) เป็นกระดาษหลายชั้นแข็งหนาทำจากเยื่อไม้บดและเยื่อกระดาษเก่า มีผิวขรุขระสีคล้ำ มีคำเรียกกระดาษชนิดนี้อีกว่า กระดาษจั่วปัง น้ำหนักมีตั้งแต่ 430 กรัมต่อตารางเมตรขึ้นไป ใช้ทำไส้ในของปกหนังสือ ฐานปฏิทินตั้งโต๊ะ บรรจุภัณฑ์ต่าง ๆ

10. กระดาษแฟนซี (Fancy Paper) เป็นคำเรียกโดยรวมสำหรับกระดาษที่มีรูปร่างลักษณะของเนื้อและผิวกระดาษที่ต่างจากกระดาษใช้งานทั่วไป บางชนิดมีการผสมเยื่อที่ต่างออกไป บางชนิดมีผิวเป็นลายตามแบบบนลูกกลิ้งหรือตะแกรงที่กดทับในขั้นตอนการผลิต มีสีสันให้เลือกหลากหลาย มีทั้งกระดาษบางและหนา ประโยชน์สำหรับกระดาษชนิดนี้สามารถนำไปใช้แทนกระดาษที่ใช้อยู่ทั่วไป ตั้งแต่นามบัตร หัวจดหมาย ไปจนถึงกล่องบรรจุภัณฑ์

11. กระดาษอื่น ๆ นอกจากกระดาษชนิดต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมีกระดาษชนิดอื่น ๆ อีก เช่น กระดาษถนอมสายตา กระดาษกันปลอม (Security Paper) กระดาษเอ็นซีอาร์ (Carbonless Paper) กระดาษสังเคราะห์ กระดาษสติ๊กเกอร์ ฯลฯ

2.7 กระบวนการหมัก (กุลชาดา สง่าสินธุ, 2553)

การหมักเป็นกระบวนการแปรรูปโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปรับสภาวะของอาหารให้เหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการแต่ไม่เหมาะสมกับการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ชนิดที่เป็นอันตรายและชนิดที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสหรือลักษณะที่ต้องการ ตัวอย่างการหมักผลิตภัณฑ์ต่างๆ

สิ่งมีชีวิตหลายชนิด ตั้งแต่แบคทีเรีย รา หรือยีสต์สามารถเปลี่ยนสารคาร์โบไฮเดรตให้กลายไปเป็นเอทานอลได้ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ปริมาณเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎีต่อน้ำตาลหนึ่งกิโลกรัมคือ 0.51 กิโลกรัม โดยในส่วนที่เหลือจะเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$3C_5H_{10}O_5 \longrightarrow 5C_2H_5OH+5CO_2 \text{ (for pentose)}$$

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH+2CO_2 \text{ (for hexose)}$$

แม้ว่าการหมักน้ำตาลเฮกโซสไปเป็นเอทานอลจะเป็นที่รู้จักกันตั้งแต่ประมาณ 6,000 ปีที่แล้ว แต่การหมักน้ำตาลเพนโตสนั้น เริ่มมีการค้นคว้ากันเมื่อมีการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส และได้ผลในช่วงทศวรรษที่ 1980 อย่างไรก็ตามสิ่งมีชีวิตทุกชนิดก็ยังมีข้อจำกัด ไม่ว่าจะเป็นเรื่องที่ไม่สามารถหมักได้ทั้งเพนโตสและเฮกโซส หรือการผลิตชีวมวลหรือเซลล์ใหม่ขึ้น ทำให้ปริมาณเอทานอลลดลง นอกจากนั้นเซลล์ยังอาจตายได้ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนอีกด้วย ดังนั้นในสมัยก่อนจึงใช้ถังปฏิกรณ์ต่อแบบอนุกรมเพื่อหมักน้ำตาลชนิดต่างๆ ในปัจจุบันจึงมีการลดจำนวนถังปฏิกรณ์ลงโดยการรวมปฏิกิริยาให้เกิดร่วมกันในถังเดียวกัน เช่น การรวมปฏิกิริยาการย่อยเข้ากับการหมัก ทำให้ผลผลิตสูงขึ้นและลดการเกิดสารยับยั้งให้น้อยลงได้ การปรับแต่งพันธุกรรมอาจทำให้ยีสต์หรือแบคทีเรียสามารถหมักได้ทั้งกลูโคสและไซโลสได้พร้อมกัน แต่ก็ยังมีปัญหาในการหมักไซโลส และอะราบิโนส

การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งและน้ำตาล โดยทั่วไปมีขั้นตอนดังนี้

1) ขั้นตอนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (สำหรับวัตถุดิบประเภทแป้ง)

2) ขั้นตอนการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล

2.7.1 เทคโนโลยีที่ใช้ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล โดยทั่วไปแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ การเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยสารเคมีและการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์

2.7.1.1 การเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยสารเคมี

เทคโนโลยีการใช้สารเคมีในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลจะแบ่งออกเป็นการย่อยสลายด้วยกรด และการย่อยสลายด้วยด่าง โดยการย่อยสลายด้วยกรดเป็นที่นิยมในการผลิตเอทานอลในโรงงานอุตสาหกรรมมากกว่า การใช้กรดอ่อนหรือกรดแก่ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันออกไปดังนี้

การเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยกรดอ่อน

ข้อดี คือในขั้นตอนของการปรับสภาพความเป็นกรดด่างของกระบวนการย่อยแป้งจะได้ผลผลิตพลอยได้เป็นยิบซั่มซึ่งเกิดจากการปรับสภาพสารละลายด้วยด่าง และเวลาในการย่อยสั้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบต่อเนื่องจึงทำให้ได้สารละลายน้ำตาลรีดิวซ์เพียงพอต่อการนำไปใช้ในกระบวนการขั้นต่อไป

ข้อเสีย คือสภาวะที่ใช้ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลนั้นจะต้องใช้อุณหภูมิและความดันสูง จึงทำให้วัสดุที่ใช้ทำถังปฏิกรณ์เป็นวัสดุที่มีราคาแพง และหลังจากปฏิกิริยาสิ้นสุดลงจะต้องมีการปรับสภาพความเป็นกรดด่างของสารละลายด้วยด่างเพื่อทำให้สารละลายเป็นกลางแล้วจึงนำสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ไปใช้ในขั้นตอนต่อไป และผลจากการย่อยทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์มีค่าประมาณร้อยละ 50 ของวัตถุดิบ

การเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยกรดแก่

ข้อดี คือ ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณมากกว่าร้อยละ 90 ของวัตถุดิบ โดยใช้อุณหภูมิและความดันต่ำในการย่อยสลายจึงทำให้วัสดุที่ใช้ทำถังปฏิกรณ์ถูกกว่าวัสดุที่ใช้ทำถังปฏิกรณ์ของการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยกรดอ่อน และการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยกรดแก่นั้นสามารถนำกรดกลับมาใช้ในกระบวนการย่อยสลายแป้งใหม่ได้

ข้อเสีย คือระยะเวลาในการย่อยต้องใช้เวลานาน มีการสูญเสียกรดบางส่วนไปกับส่วนที่ยังไม่ย่อยสลายและการผุกร่อนของเครื่องมือจากการใช้กรดแก่ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยกรดแก่นั้นไม่สามารถควบคุมได้ตามที่ต้องการ และในส่วนของเทคโนโลยีที่จะนำกรดแก่กลับมาใช้ในกระบวนการย่อยสลายนั้นมีราคาแพงอีกทั้งยังมีการพัฒนาเทคโนโลยีส่วนนี้ได้ทำได้ยาก หรือเมื่อนำเทคโนโลยีในการปรับสภาพความเป็นกรดด่างของเทคโนโลยีการย่อยด้วยกรดอ่อนมาใช้ จะต้องใช้ด่างในปริมาณมากในการปรับสภาพ

2.7.1.2 การเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์

ข้อดี คือได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณมาก สามารถควบคุมผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการได้ วัสดุที่นำมาใช้ทำถังปฏิกรณ์มีราคาไม่แพงและพลังงานที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์กับแป้งต่ำ

ข้อเสีย คือเอนไซม์ไม่สามารถย่อยแป้งที่สภาวะอุณหภูมิห้องได้เนื่องจากองค์ประกอบที่ซับซ้อนของแป้งและพันธะที่ยึดติดกันอย่างมั่นคง จึงต้องทำให้น้ำแป้งร้อนขึ้นซึ่งจะทำให้เส้นใยของแป้งบวมขึ้นเป็นผลให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยพันธะภายในโมเลกุลของแป้งได้ และในปัจจุบันเอนไซม์มีราคาสูงมากจึงทำให้การย่อยด้วยเอนไซม์มีต้นทุนการผลิตสูงตามไปด้วย ดังนั้นควรจะมีการส่งเสริมให้มีการศึกษาวิจัยกระบวนการผลิตเอนไซม์เพื่อทำให้ราคาของเอนไซม์มีราคาต่ำลง

2.7.2 เทคโนโลยีในการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล

สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลหรือสารละลายน้ำตาลที่ได้จากน้ำอ้อย หรือการเจือจางกากน้ำตาลจะถูกนำไปเติมสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ แล้วฆ่าเชื้อด้วยความร้อน จากนั้นปรับสภาพพีเอชให้เหมาะสมต่อการหมักต่อไป

เทคโนโลยีส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอลมีอยู่ 2 แบบ คือ การหมักแบบแบตช์ และการหมักแบบต่อเนื่อง การหมักแบบแบตช์เป็นการหมักโดยใส่หัวเชื้อและน้ำหมักลงในถังหมักใบเดียวกันและเกิดการหมักขึ้นในถังหมักใบเดียวกันจนเสร็จสิ้นการหมักในเวลาประมาณ 48 ถึง 72 ชั่วโมง ส่วนการหมักแบบต่อเนื่องเป็นการหมักโดยใส่หัวเชื้อและน้ำหมักลงในถังหมักใบแรก และปล่อยให้มีการไหลล้นไปสู่ถังใบที่ 2 3 4 หรือ 5 โดยอาจมีการเติมเชื้อและสารละลายน้ำตาลลงไปเพิ่มเติมในแต่ละถังจนกระทั่งได้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ต้องการในถังใบสุดท้าย น้ำหมักที่ได้จะผ่านเครื่องแยกเซลล์เพื่อนำเซลล์ยีสต์มาล้างด้วยกรดและบางส่วนนำกลับมาป้อนลงถังหมักใบแรกกับน้ำหมักที่เข้ามาใหม่ต่อไป

2.7.2.1 เทคโนโลยีการหมักแบบแบตช์

ข้อดี คือ ค่าติดตั้งอุปกรณ์ถูกกว่า ไม่ต้องการการฆ่าเชื้อในถังหมักอย่างสมบูรณ์ ไม่ต้องใช้คนที่มีความเชี่ยวชาญมากในการควบคุมเครื่องระหว่างทำงาน การลงทุนต่ำ ง่ายในการเก็บรักษาวัตถุดิบ สามารถใช้กับการหมักที่ต้องการผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันได้ เวลาที่ใช้ในการหมักไม่ถูกควบคุมและโอกาสที่การหมักจะติดเชื้อต่ำ

ข้อเสีย คือ ความถี่ในการฆ่าเชื้อถังจะมีผลเสียต่อการวัดค่าของเครื่องมือวัดต่างๆ ค่าใช้จ่ายในการเตรียมหัวเชื้อสูง ความเสี่ยงสูงในการกลายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้หมัก ถังหมักหนึ่งถัง

ไม่เพียงพอต่อการผลิตผลิตภัณฑ์หลายๆ อย่าง และผลิตภัณฑ์จะถูกแยกออกเนื่องจากปฏิกิริยาที่ไม่ต่อเนื่อง

2.7.2.2 เทคโนโลยีการหมักแบบต่อเนื่อง

ข้อดี คือ สามารถควบคุมผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้ โอกาสติดเชื้อในระหว่างการหมักต่ำ และป้องกันการเสียหายของอุปกรณ์เครื่องมือวัดในระหว่างการฆ่าเชื้อภายในถังน้อย

ข้อเสีย คือ วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักต้องเป็นแบบเดียวกันตลอดการหมัก ปัญหาในการรักษาอัตราการหมักสูงๆ การใช้เครื่องควบคุมแทนคนงานมีค่าใช้จ่ายในการทำงานสูงกว่าอุปกรณ์ ในการแยกของแข็งในระหว่างการหมักมีราคาแพงนอกจากนี้ยังมีการพัฒนาเทคโนโลยีการย่อยแป้งและหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอลพร้อมกันไปในขั้นตอน เดียว (Simultaneous saccharification and fermentation; SSF) ซึ่งช่วยให้มีประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลที่ย่อยได้ และได้ประสิทธิผลของเอทานอลที่ได้สูงขึ้น มีการลงทุนด้านอุปกรณ์ และการใช้พลังงานต่ำกว่าเทคโนโลยีที่แยกขั้นตอนการย่อยแป้งและการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล แต่อย่างไรก็ดี เทคโนโลยีแบบนี้ต้องมีการควบคุมการผลิต และการฆ่าเชื้อเป็นอย่างดีเพื่อไม่ให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ ซึ่งจะทำให้เกิดปัญหากับระบบโดยรวม

2.8 ปัจจัยที่สำคัญต่อยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

ปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของยีสต์และการหมักแอลกอฮอล์ ได้แก่ ธาตุอาหาร เกลือแร่ วิตามิน อุณหภูมิ พีเอช ความเข้มข้นของน้ำตาล และสารบางอย่างที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์

2.8.1 ผลของธาตุอาหาร เกลือแร่ และวิตามินต่อการหมัก

เมื่อพิจารณาถึงผลของธาตุอาหารแต่ละชนิดต่อการเจริญของยีสต์สามารถแยกออกได้ดังนี้

- ไนโตรเจน ยีสต์มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 10 ของน้ำหนักแห้ง ดังนั้นไนโตรเจนจึงเป็นธาตุ อาหารที่จำเป็น โดยทั่วไปยีสต์สามารถใช้แอมโมเนียมไอออนเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ แต่ในยีสต์บางชนิดต้องการกรดอะมิโนที่เฉพาะเท่านั้น เพราะกรดอะมิโนดังกล่าวเป็นตัวควบคุมการทำงานของวิถีไกลโคไลซีส (Glycolysis pathway) อย่างไรก็ตามเซลล์ยีสต์เองก็ประกอบด้วยพิวรีน (Purine) ไพริมิดีน (Pyrimidines) และกรดอะมิโน (Amino acid) ดังนั้นจึงอาจใช้ตัวยีสต์เองเป็นแหล่งแอมโมเนียไนโตรเจน เช่นในการนำน้ำกากส่ากลับมาใช้ละลายกากน้ำตาล (ประมาณร้อยละ 10 ถึง 30) เรียกกระบวนการนี้ว่า Slopping back ซึ่งนอกจากจะได้ธาตุอาหารแล้ว ยังช่วยเพิ่มความสามารถของการเป็นบัฟเฟอร์ และลดปริมาณน้ำที่ต้องใช้ รวมทั้งเป็นการ

กำจัดน้ำกากส่าทิ้งไปในตัวด้วยหรือโดยการนำเอาเซลล์ยีสต์ที่ถูกย่อยสลาย (Lysed yeast cell) กลับมาใช้ใหม่ แหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการหมักแอลกอฮอล์ นิยมใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นส่วนใหญ่

- ฟอสฟอรัส โดยมากใช้ในรูปเกลือฟอสเฟตในสัดส่วนประมาณ 0.6 มิลลิโมลต่อกรัมต่อเซลล์ (ในรูปของ $H_2PO_4^-$) มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ เพราะควบคุมการสังเคราะห์ไขมันและคาร์โบไฮเดรตและรักษาสภาพของผนังเซลล์ ดังนั้นฟอสเฟตจึงเป็น Ionic factor สำคัญที่สุดในการหาอัตราการหมัก (Rate of fermentation)

- ซัลเฟอร์ ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 0.4 ของน้ำหนักแห้งโดยอยู่ในรูปของเมไธโอนีน (Methionine) แต่เนื่องจากเมไธโอนีนมีราคาแพงมาก ดังนั้นในอุตสาหกรรมจึงใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตแทน

- แร่ธาตุต่างๆ (Trace elements) แร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตในการหมักยีสต์แบ่งเป็น 3 พวก ได้แก่ ธาตุอาหารหลัก(Macroelements) ได้แก่ โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม สังกะสี เหล็ก แมงกานีส และคลอรีน ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่ยีสต์ต้องการในปริมาณ 0.1 ถึง 1 มิลลิโมล และแร่ธาตุพวกนี้เข้าไปในเซลล์ยีสต์โดยอาศัยการแพร่ ธาตุอาหารรอง (Microelements) ได้แก่ โคบอลท์ นิกเกิล แคดเมียม โครเมียม ทองแดง ไอโอดีน โมลิบดีนัม และวานาเดียม ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่ยีสต์ต้องการในระดับ 0.1 ถึง 100 มิลลิโมล และสารยับยั้ง (Inhibitors) ได้แก่ เงิน อาซินิค ปรอท ลิเทียม ออสเมียม ตะกั่ว ซีลีเนียม และเทลลูเรียม ถ้ามีในระดับความเข้มข้นสูงกว่า 10 ถึง 100 มิลลิโมล จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการหมักโดยยีสต์ ในบางครั้งถ้ามีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในปริมาณมากเกินไปจะมีผลไปยับยั้งการเจริญและการหมักของยีสต์ได้เช่นกัน

- วิตามิน เป็นตัวควบคุมเมตาบอลิซึมของยีสต์ โดยจะควบคุมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เพราะวิตามินเป็นโคเอนไซม์ (Co-enzymes) หรือสารเริ่มต้น (Precursors) ที่ทำให้เอนไซม์สามารถทำงานได้เต็มที่ วิตามินที่ยีสต์ต้องการส่วนใหญ่เป็นไบโอตินและแพนธีโอนิคแอซิด

2.8.2 ผลของอุณหภูมิต่อการหมัก

อุณหภูมินับว่ามีความสำคัญมากต่อการหมักแอลกอฮอล์ สำหรับยีสต์ที่ใช้กันอยู่ตามโรงงานทั่วไป อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส และจะทนได้ไปถึง 37 องศาเซลเซียส ถ้าสูงขึ้นไปถึง 40 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่แล้วจะชะงักการเจริญแม้ว่าการหมักจะดำเนินไปได้ถ้ามีปริมาณยีสต์มากพอดังนั้นหลังการหมักไปแล้ว1 ถึง 10 ชั่วโมงต้องควบคุมอุณหภูมิให้ไม่เกิน 35 องศาเซลเซียส หลังจาก 10 ชั่วโมง ไปแล้วควบคุมไม่ให้เกิน 37 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิในช่วง 10 ชั่วโมง สูงกว่า 37 องศาเซลเซียสแล้วอาจเกิดปัญหา แบคทีเรียเจริญขึ้นมามาก

เกินไป เป็นผลให้ยีสต์ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ การควบคุมอุณหภูมิจึงจำเป็นและเป็นปัจจัยสำคัญต่อผลผลิตที่ได้ สำหรับการหมักเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์สูงร้อยละ 15 ถึง20 และให้ได้กลิ่นรสดีจะหมักไม่เกิน 15 องศาเซลเซียส การหมักที่อุณหภูมิสูงทำให้เกิดแอลกอฮอล์หนัก (Fusel oil) มากขึ้นซึ่งจะมีผลต่อการมึน และการปวดหัวของผู้บริโภค การลดอุณหภูมิของถังหมักเป็นค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้น แต่ก็อาจจะคุ้มทุนได้ถ้าสามารถหมักแอลกอฮอล์ได้ในระดับร้อยละ 9 ถึง 10 ภายใน 24 ถึง 36 ชั่วโมง สาเหตุที่อุณหภูมิในระหว่างการหมักเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากกิจกรรมของยีสต์คือในการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำตาลซูโครสจะเกิดความร้อน 149.5 แคลอรี่ต่อกรัมซูโครส หรือในกรณีน้ำตาลกลูโคสจะเกิดพลังงานความร้อนจากการหมัก 140.2 แคลอรี่ต่อกรัมกลูโคส ความร้อนที่เกิดขึ้นเป็นพลังงานคายความร้อน (Exothermic energy) จึงถ่ายเทลงสู่น้ำหมักทำให้น้ำหมักมีอุณหภูมิสูง ปกติอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักแอลกอฮอล์โดยยีสต์จะอยู่ในช่วง 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส แต่ในสภาวะที่มีแอลกอฮอล์ผลิตออกมาแล้วจะมีผลทำให้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการหมักเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณเอทานอลเป็นสำคัญ รวมถึงสายพันธุ์ของยีสต์ด้วย

2.8.3 ผลของพีเอชต่อการหมัก

ยีสต์และราเจริญได้ดีในสภาพที่เป็นกรดพอสมควร คือในระดับ 3.8 ถึง 5.5 ถ้าพีเอชต่ำกว่า 3.5 การเจริญจะลดลง ถ้าพีเอชต่ำถึง 3 หรือต่ำกว่านั้นก็จะไม่เจริญ ดังนั้นในการหมักจึงนิยมปรับให้มีพีเอชในช่วง 4 ถึง 4.5 ทั้งนี้นอกจากยีสต์จะเจริญได้ดีที่ระดับพีเอชดังกล่าวแล้วยังช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่ด้วย เพราะแบคทีเรียทั่วไปเจริญได้ดีในสภาพที่พีเอชเป็นกลาง แต่ก็มีแบคทีเรียบางชนิดโดยเฉพาะแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติคเจริญได้ดีในระดับพีเอชที่ยีสต์เจริญและมักจะสร้างปัญหาเมื่อแบคทีเรียพวกนี้สร้างกรดขึ้นมามากเกินไปจนยีสต์ทนไม่ได้ ปกติจะใช้กรดซัลฟูริคแบบราคาถูกมาใช้ในการปรับพีเอช การปรับพีเอชจะช่วยลดเวลาการต้มให้ความร้อนแก่ถังหมักเพื่อการฆ่าเชื้อ เพราะความร้อนที่อุณหภูมิเท่ากันจะฆ่าแบคทีเรียในอาหารที่มีสภาพเป็นกรดได้มากกว่าในสภาพที่เป็นกลางโดยปกติจะใช้ อุณหภูมิ 65 ถึง 70 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 นาที ก็เพียงพอสำหรับต้มฆ่าเชื้อในถังเตรียมกล้าเชื้อ เมื่อปรับพีเอชลงมาแล้วให้เป็น 4 ถึง 4.5

2.8.4 ความเข้มข้นของน้ำตาล

ความเข้มข้นของน้ำตาลจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ในกากน้ำตาลยังมีสารจำพวกเฟอริฟิวรอล ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์อีกด้วย การที่ใช้กากน้ำตาลความเข้มข้นสูงเกินไปไม่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลชนิดที่หมักเป็นแอลกอฮอล์ไม่ได้ปนเปื้อนอยู่ด้วย เช่น

น้ำตาลไซโลส เป็นต้น ดังนั้นในการหมักแอลกอฮอล์เมื่อวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์จะพบว่ามีเหลืออยู่เกือบร้อยละ 2

2.8.5 ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์

ถ้าเอทานอลที่ผลิตได้มีความเข้มข้นสูงขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์จะลดลง ส่งผลให้อัตราการหมักลดลงไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากเอทานอลจะมีผลต่อเอนไซม์ และรูปร่างของเซลล์ โดยเอทานอลจะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรเจนเนส (Alcohol dehydrogenase) และเฮกโซไคเนส (Hexokinase) ผลต่อรูปร่างของเซลล์โดยเอทานอลจะส่งผลต่อเมมเบรนของเซลล์ยีสต์ คืออาจมีการทำลายหรือทำให้เมนเบรนเปลี่ยนแปลงไป นอกจากการยับยั้งการหมักด้วยเอทานอลที่เกิดขึ้นแล้ว ต้องมีปัจจัยอื่นควบคู่ไปด้วย เช่น ความเข้มข้นน้ำตาลสูง และอุณหภูมิสูง เป็นต้น ซึ่งจะทำให้เกิดการยับยั้งต่อยีสต์อย่างรุนแรง

2.9 ระบบถังหมักและถังหมัก (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

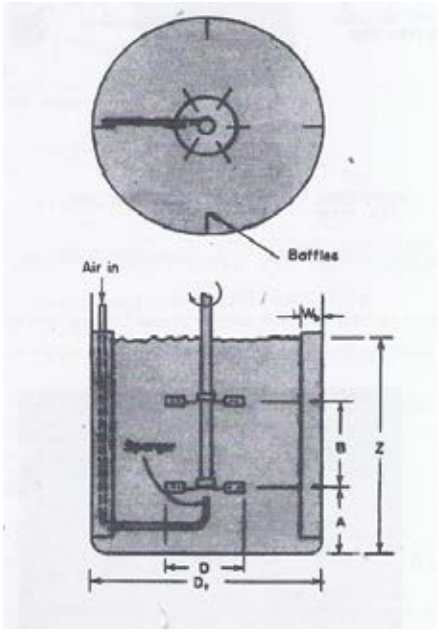
2.9.1 ระบบถังหมักที่ใช้ในอุตสาหกรรม อาจแบ่งเป็น 2 ระบบ คือ ถังหมักระบบปิด และถังหมักระบบเปิด

1.ถังหมักระบบปิด เป็นระบบที่ส่วนประกอบที่สำคัญในการหมักไม่สามารถนำเข้าหรือเอาออกจากระบบได้ การหมักระบบนี้มีการเติมสารอาหารลงไปในช่วงแรกของการหมัก เชื้อจะใช้อาหารในการเติบโตจนกระทั่งสิ้นสุดการเจริญเนื่องจากสารอาหารลดลง หรือเกิดการสะสมของสารพิษ ดังนั้นจะเห็นว่าระบบเมตาบอลิซึมของเชื่อในถังแบบปิดจะอยู่ในสภาพที่ไม่ยั่งยืนอาจเรียกว่าเป็นระบบการหมักแบบแบตช์ อย่างไรก็ตามมีการดัดแปลง คือมีการเติมสารอาหารเพิ่มเข้าไประหว่างการหมัก เพื่อเพิ่มปริมาณสารอาหาร หรือเพื่อกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์สารประกอบบางอย่างเรียกการดัดแปลงนี้ว่า ระบบเฟด-แบตช์

2.ถังหมักระบบเปิด ส่วนประกอบของระบบสามารถนำเข้าและออกจากถังหมักได้อย่างต่อเนื่อง คือมีการนำสารอาหารเข้าอย่างต่อเนื่อง ในขณะเดียวกันมีการนำเอาเซลล์ที่เกิดขึ้น (Biomass) หรือผลิตภัณฑ์อื่นๆออกจากถังอย่างต่อเนื่องเช่นกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าอัตราการเปลี่ยนวัตถุดิบเป็นเซลล์ (Biomass) และผลิตภัณฑ์ จะต้องสมดุลกับอัตราในการนำออก อาจเรียกระบบนี้ว่า การหมักแบบต่อเนื่อง

2.9.2 ถังหมักเป็นอุปกรณ์ที่สำคัญมีรูปร่างหลายแบบขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน ถังหมักแบบทรงกระบอกเป็นแบบที่เหมาะกับการทดลองต่างๆ ภายในถังหมักประกอบด้วยใบพัดสำหรับกวนอาหาร ท่อพ่นอากาศ และบัฟเฟอร์ (Baffle) ช่วยให้อาหารและอากาศคลุกเคล้ากันดี มีการออกแบบถังหมักมาตรฐาน สัดส่วนและรายละเอียดของถังหมักแบบทั่วไป สัดส่วน

ต่างๆ ไม่จำเป็นต้องแน่นอน อาจมีค่าใกล้เคียงได้ขึ้นอยู่กับชนิดของขบวนการหมักและโดยเฉพาะอย่างยิ่งการขยายถังหมักขนาดใหญ่ขึ้น อัตราส่วน D/D_T ค่อนข้างคงที่แต่อัตราส่วน Z/D จะมากขึ้น หมายถึงความสูงของถังจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่เส้นผ่านศูนย์กลางของตัวถังคงเดิม ดังแสดงในภาพที่ 2.6 ส่วนจำนวนใบพัดอาจเพิ่มขึ้นตามความเหมาะสมให้อาหารในถังคลุกเคล้ากับเซลล์จุลินทรีย์และอากาศให้ทั่วทุกจุดในถัง

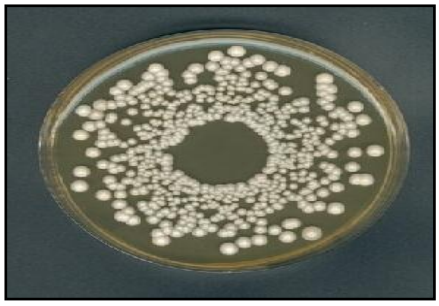


ภาพที่ 2.6 ลักษณะการออกแบบของถังหมัก

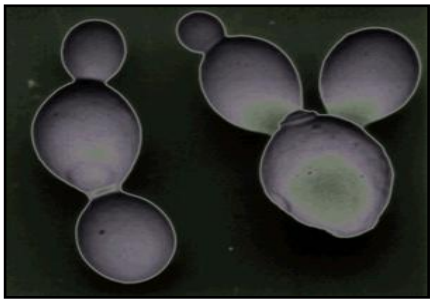
(วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

2.10 **ยีสต์** *Saccharomyces cerevisiae*

ยีสต์เป็นกลุ่มย่อยของฟังไจ มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อและการแบ่งตัว โดยมีบทบาทสำคัญในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เบียร์ และไวน์ อีกทั้งยังรู้จักกันดีในการทำขนมปังที่เรียกว่า ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) (สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล 2538) ยีสต์ที่ใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มักจะอยู่ในสกุล Saccharomyces เซลล์ของยีสต์พวกนี้จะเป็นรูปกลม รูปไข่ หรือค่อนข้างยาว อาจมีการสร้างไมซีเลียมเทียม การสืบพันธุ์จะเป็นแบบ แตกหน่อที่ขั้วเซลล์และสร้างแอสโคสปอร์ดังแสดงในภาพที่ 2.7 และ 2.8 สปีชีส์ที่สำคัญคือ *Saccharomyces cerevisiae*



ภาพที่ 2.7 *Saccharomyces cerevisiae* เจริญบนอาหาร YMA (www.emdchemicals.com., 2553 : ออนไลน์)



ภาพที่2.8 *Saccharomyces cerevisiae* ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (www.micron.ac.uk., 2553 : ออนไลน์)

Saccharomyces cerevisiae มีบทบาทในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น ขนมปัง ไวน์ กลีเซอรอล และอินเวอเทส (Invertase) แบ่งออกเป็น

1. ทอปยีสต์ (Top yeast) เจริญได้อย่างรวดเร็วที่ 20 องศาเซลเซียส เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาอย่างรวดเร็ว ทำให้เซลล์ลอยขึ้นไปอยู่บนผิวหน้าของอาหาร จึงเรียกว่า ทอปยีสต์ พวกที่หมักแอลกอฮอล์ได้ดี สังเกตได้ง่ายๆ จากการเขย่าขวดหมักจะเห็นฟองเกิดขึ้นจำนวนมาก ส่วนพวกที่หมักไม่ดีมักจะขึ้นเป็นฝ้าอยู่ที่ผิวหน้าของอาหาร

2. บอตทอมยีสต์ (Bottom yeast) เป็นพวกที่กิจกรรมการหมักเกิดดีที่อุณหภูมิ ต่ำ (10 ถึง 15 องศาเซลเซียส) ไม่มีการรวมกลุ่มของเซลล์และการเจริญเป็นไปอย่างช้าๆ ทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์น้อยเซลล์จึงค่อยๆตกตะกอนอยู่ที่ก้นภาชนะ จึงเรียกว่า บอตทอมยีสต์

ในการหมักน้ำตาล 1 โมล จะถูกยีสต์นำไปผลิตเป็นแอลกอฮอล์ได้ 2 โมล และให้คาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมลเช่นกัน (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529) ดังสมการ

	$C_6H_{12}O_6$		$2C_2H_5OH$	+	$2CO_2$
	กลูโคส		เอทิลแอลกอฮอล์		คาร์บอนไดออกไซด์
น้ำหนักโมเลกุล	180		92		88

นั่นคือ น้ำตาลกลูโคส 1 กิโลกรัม เปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ได้

= 92/180 กิโลกรัม

= 0.511 กิโลกรัม

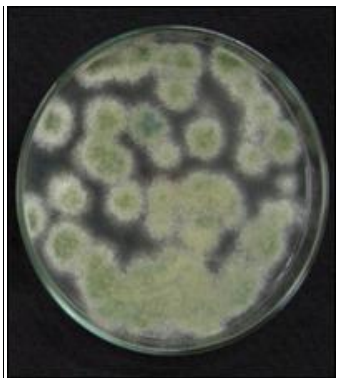
= 0.511/0.7934 ลิตร

= 0.644 ลิตร

หมายเหตุ : ความหนาแน่นของแอลกอฮอล์ คือ 0.7934

2.11 ลักษณะของเชื้อ *Trichoderma spp.* สำหรับผลิตเอนไซม์

เชื้อรา *Trichoderma spp.* เป็นเชื้อราชั้นสูง ที่อาศัยอยู่ในดิน และเศษซากอินทรียวัตถุธรรมชาติ เชื้อรา *Trichoderma spp.* มีการเจริญสร้างเส้นใยสีขาวได้รวดเร็วและสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่าสปอร์จำนวนมาก รวมกันเป็นกลุ่ม มีสีเขียว ซึ่งเกิดจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สามารถมีชีวิตรอดในสภาพธรรมชาติได้ดี โดยอาหารจากอินทรียวัตถุ เศษซากพืชและเชื้อโรค การเจริญบนอาหารเริ่มแรกโคโลนีไม่มีสี (Translucent) หรือสีขาวใส (Watery white) เจริญแบบราบติดผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อมาโคโลนี มีลักษณะเป็นปุยฝ้าย (Loosely floccose) หรือเป็นกระจุกแน่น มีสีเขียว (Green) หรือสีขาวล้วน (Pure white) หรือปรากฏลักษณะต่างๆในโคโลนีเดียวกัน เส้นใย (Mycelium) ของเชื้อรา *Trichoderma spp.* ไม่มีผนังกั้นเซลล์ (Coenocytic hyphae) ผนังเส้นใยเรียบมีการแตกกิ่งก้านมากมาย การสร้างสีลงในอาหารอาจเกิดขึ้นทำให้สีของอาหารเปลี่ยนแปลงไปหรือใต้โคโลนีสีเปลี่ยนไป และบางชนิดมีการสร้างกลิ่นอีกด้วย โดยทั่วไปบริเวณที่มีการสร้างสปอร์มีลักษณะเป็นวงรอบๆ (Ring-like zone) หรือเกิดเดี่ยวๆ ไม่เป็นระเบียบบนเส้นใยที่เจริญอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ (Aerial hypha) จากส่วนแกนกลางของก้านชูสปอร์ (Main branch of Conidiophore) จะแตกกิ่งก้านด้านข้าง (Side branch) จำนวนมาก มีขนาดสั้นๆ ซึ่งมีทั้งที่ออกมาเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่มจนถึง 3 อัน และสร้างต่อไปเรื่อยๆ มีขนาดเล็กลง (Small side branch) และทำมุมกว้างกับแกนกลาง ทำให้เห็นลักษณะการแตกกิ่งคล้ายต้นสนโดดที่ปลายกิ่งก้าน แต่ละอันเป็นที่เกิดของ Phialide ซึ่งมีรูปร่างแบบขวดชมพู่ (Flash shape) หรือพินโบว์ลิ่ง (Pin shape) บางครั้งยาวรีอย่างลูกแพร์ (Pear shape) จนถึงรูปไข่ (Ovoid) โดยทั่วไปมีฐานแคบ บริเวณกลางๆ พองกว่า และด้านปลายค่อยๆแคบลง จนถึงปลายคอเป็นรูปกรวย (Conical neck) หรือค่อนข้างรูปทรงกระบอก (Subcylindrical terminal phialide) หรือเกิดห่างสลับข้างกันไปไม่เป็นระเบียบหรือ เกิดเป็นคู่อยู่ตรงข้ามกัน (เกรียงศักดิ์ แสงศรีคำ, 2546)



ภาพที่ 2.9 เชื้อรา *Trichoderma spp.* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
(http://www.nbaii.res.in., 2555 : ออนไลน์)

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.การผลิตน้ำตาล

สุภาวินี นิลเขต (2550) ศึกษาการใช้กากตะกอนเยื่อกระดาษเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับผลิตกลูโคส และเอนไซม์เซลลูเลส โดยเชื้อรา *Trichoderma spp.* ในปฏิกรณ์กึ่งต่อเนื่อง ขนาดระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าตะกอนเยื่อกระดาษาจากกระบบบำบัดน้ำเสียก่อนเข้าถังทำข้นเพื่อเข้าสู่กระบวนการรีดน้ำ มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 50.13 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 38.81 ปริมาณลิกนินร้อยละ 7.49 และปริมาณเถ้าร้อยละ 3.57 โดยระบบที่มีการถ่ายและเติมอาหารทุกๆ 5 วัน มีค่ากลูโคสเฉลี่ย 0.486 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเอนไซม์แอคติวิตี้ 0.043 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อนำเอนไซม์ที่แยกได้จากระบบกึ่งต่อเนื่องที่มีการถ่ายและเติมอาหารครึ่งหนึ่งทุก 3, 4 และ 5 วัน มาย่อยกากตะกอนเยื่อกระดาษร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าเอนไซม์จากทั้งสามระบบสามารถย่อยกากตะกอนเยื่อกระดาษเป็นกลูโคสเฉลี่ยประมาณ 0.273, 0.214 และ 0.240 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ศิริวัฒนา บัญชรเทวกุล และคณะ (2551) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซโลส กลูโคส และอราบิโนส จากฟางข้าวและอ้อย เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตเอทานอล พบว่าฟางข้าวมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 35.62 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 29.57 และปริมาณลิกนินร้อยละ 2.99 และอ้อยมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 42.08 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 29.94 และปริมาณลิกนินร้อยละ 7.43 และเมื่อนำมาหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีในฟางข้าวและชานอ้อย พบว่ามีปริมาณกลูโคสเท่ากับร้อยละ 50.76 และ 43 ตามลำดับ

2. ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

Matsushika และคณะ (2009) พบว่ายีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม ที่ผ่านการดัดแปลงพันธุกรรมจำนวน 5 สายพันธุ์ มีความสามารถในการผลิตเอทานอลที่ต่างกัน โดยสายพันธุ์ MA-R4 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงที่สุดจากวัตถุดิบประเภทเซลลูโลสซึ่งผ่านการย่อยแล้ว

3. การผลิตเอทานอลจากตะกอนกระดาษ

Lark และคณะ (1997) ศึกษาการนำตะกอนกระดาษรีไซเคิล (Recycle paper sludge) มาใช้เพื่อการผลิตเอทานอลจากการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส และใช้ *Kluveromyces marxianus* เพื่อกระบวนการหมัก โดยตะกอนกระดาษรีไซเคิลมีเซลลูโลสร้อยละ 50 ทำการหมักแบบรวมปฏิกิริยาเป็นเวลา 72 ชั่วโมง สามารถผลิตเอทานอลได้ 32 กรัมต่อลิตรใช้ตะกอนกระดาษรีไซเคิล 180 กรัมต่อลิตร และ 35 กรัมต่อลิตร ใช้ตะกอนกระดาษรีไซเคิล 190 กรัมต่อลิตร พบว่าหากใช้ตะกอนกระดาษปริมาณมากจะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย

Marques และ คณะ (2008) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิล โดยใช้ *Pichia stipitis* แบบรวมปฏิกิริยา(SSF) และแบบแยกปฏิกิริยา(SHF) พบว่าปริมาณการผลิตแบบแยกปฏิกิริยาให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าแบบรวมปฏิกิริยา โดยแบบแยกปฏิกิริยาให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 19.6 กรัมต่อลิตร และใช้เวลาในกระบวนการหมักเท่ากับ 179 ชั่วโมง ผลได้ผลิตภัณฑ์เท่ากับ 0.25 กรัมต่อกรัม ในขณะที่การผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 18.6 กรัมต่อลิตร และใช้เวลาเท่ากับ 48 ชั่วโมง อัตราการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาในการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาจะใช้เวลาน้อยกว่าการผลิตแบบแยกปฏิกิริยา

กุลชาดา สง่าสินธุ (2553) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากกากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษโดยเอนไซม์เซลลูเลสและยีสต์ พบว่ากากตะกอนเยื่อกระดาษพบปริมาณโฮโลเซลลูโลส อัลฟาเซลลูโลส เบต้าเซลลูโลส แกรมมาเซลลูโลสและลิกนิน เท่ากับร้อยละ 73.3, 67.1, 4.7, 1.4 และ 6 ตามลำดับ ที่อัตราส่วน 1:15 ให้ผลผลิตน้ำตาลสูงสุดในวันที่ 6 ของการทดลองจากการทดลองทั้งหมด 7 วัน เมื่อนำอัตราส่วนดังมาใช้เพื่อการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาเปรียบเทียบกับแบบแยกปฏิกิริยา ผลการศึกษาพบว่าการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาให้ผลผลิตเอทานอลที่สูงกว่าการผลิตเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา และเมื่อขยายขนาดโดยทำการ

ทดลองในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้อัตราส่วนที่เหมาะสมและเพิ่มระยะเวลาในการหมัก สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 1.14 กรัมต่อกรัม

Park และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากของเสียกระดาษหนังสือพิมพ์ โดยการหมักแบบรวมปฏิกิริยา ใช้ *Saccharomyces cerevisiae* KNU5377 พบว่ายีตส์ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงในการหมักเอทานอลคือ *Saccharomyces cerevisiae* KNU5377 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำการหมักแบบรวม ปฏิกิริยา (Simultaneous saccharification and fermentation: SSF) การผลิตเอทานอลสูงสุดร้อยละ 8.4 จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า *Saccharomyces cerevisiae* KNU5377 สามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิสูง

Yamashita และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากตะกอนกระดาษ โดยทำการปรับสภาพด้วยวิธีทางกล (Ball milling) และกรดฟอสฟอริค (Phosphoric acid) เพื่อในการย่อยสลายและสร้างน้ำตาลเกิดขึ้นได้ดี ผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* AM 12 พบว่าการปรับสภาพทางกลด้วยการบดและปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริคนั้น ส่งผลต่อการผลิตเอทานอล โดยได้เปรียบเทียบผลการผลิตเอทานอลระหว่างตะกอนกระดาษที่ไม่ได้ทำการปรับสภาพและตะกอนกระดาษที่ทำการปรับสภาพด้วย Ball mill และกรดฟอสฟอริค ได้เท่ากับ 20.4 กรัมต่อลิตร และ 30.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลได้ผลิตภัณฑ์ (Ethanol yield) เท่ากับ 0.277 และ 0.416 ตามลำดับ ประสิทธิภาพการหมักเท่ากับร้อยละ 54.3 และ 81.5 มีอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์เท่ากับ 0.424 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ระยะเวลาหมัก 48 ชั่วโมง) และ 1.27 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง) ตามลำดับ

Peng และคณะ (2011) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากตะกอนกระดาษ โดย *Saccharomyces cerevisiae* GIM-2 แบบแยกปฏิกิริยา โดยกระบวนการที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับการออกแบบการทดลองทางสถิติ ซึ่งถูกใช้เพิ่มความสามารถในการเกิดน้ำตาลโดยการย่อยตะกอนกระดาษด้วยเอนไซม์ เมื่อทำการคัดเลือกตัวแปรที่มีความสำคัญและจะส่งผลต่อการผลิตน้ำตาลโดยวิธี Plackkett-Burman พบว่าตัวแปรที่สำคัญที่สุดคือ เวลาการย่อยสลาย ความเข้มข้นของสับสเตรท และปริมาณเซลลูเลส หลังจากนั้นนำตัวแปรที่มีความสำคัญมาออกแบบการทดลองโดยใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนองแบบ Box-Behnken จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ เวลาการย่อยสลาย 82.7 ชั่วโมง ปริมาณตะกอนเท่ากับ 40.8 กรัมต่อลิตร เอนไซม์เซลลูเลสเท่ากับ 18.1 FPU ต่อกรัมตะกอน สามารถให้น้ำตาลร้อยละ 83.1 เมื่อทำการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* GIM-2 ผลิตเอทานอลได้ 9.5 กรัมต่อลิตร ผลได้ผลิตภัณฑ์ (Ethanol

yield) เท่ากับ 0.34 กรัมต่อกรัมน้ำตาลอัตราการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.59 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลา 16 ชั่วโมง

4. การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทอื่น

ระวีวรรณ แกล้วกล้า (2538) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากฟางข้าว พบว่าฟางข้าวซึ่งมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสต่ำมากแต่มีปริมาณลิกนินที่สูง เมื่อปรับสภาพด้วยการแช่ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เพิ่มความเข้มข้นและอุณหภูมิ จะทำให้สัดส่วนของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นแต่ผลผลิตของเอทานอลลดลง

ปรียารัตน์ โยวะผุย (2550) ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมัก เพื่อผลิตเอทานอล ซึ่งใช้วัตถุดิบคือกากและเปลือกมันสำปะหลัง และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมัก พบว่าที่ความเข้มข้น แป้งร้อยละ 0.25 การหมักแบบรวมปฏิกิริยาให้ปริมาณเอทานอลที่สูงกว่า โดยการมียีสต์และเอนไซม์ย่อยสลายวัตถุดิบจะลดการสะสมของน้ำตาลภายในถังหมัก จึงเป็นการเพิ่มปริมาณเอทานอล ซึ่งการหมักแบบแยกปฏิกิริยาที่ที่ความเข้มข้น แป้งร้อยละ 0.25 บ่มเป็นเวลา 36 ชั่วโมง สามารถผลิตเอทานอลได้ 0.79 กรัมต่อลิตร และการหมักแบบรวมปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นแป้งเท่ากัน บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถผลิตเอทานอลได้ 0.83 กรัมต่อลิตร

Saha และ Cotta (2008) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากข้าวเปลือก โดยในข้าวเปลือกมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 35.6 ใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส และเฮมิเซลลูเลส ในการย่อยข้าวเปลือก ในกระบวนการหมักใช้เชื้อ *E. coli* และทำการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลแบบรวมและแยกปฏิกิริยา พบว่าการผลิตแบบรวมปฏิกิริยาให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าแบบแยกปฏิกิริยา โดยแบบรวมปฏิกิริยาให้ผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 11 กรัมต่อลิตร และแบบแยกปฏิกิริยาให้ผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 9.8 กรัมต่อลิตร

Gupta และคณะ (2009) ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากไม้จากต้น *Prosopis juliflora* แบบแยกปฏิกิริยา โดย *Saccharomyces cerevisiae* และ *Pichia stipitis*-NCIM 3498 พบว่า ไม้จากต้น *Prosopis juliflora* มีปริมาณโฮโลเซลลูโลสร้อยละ 66.20 ปริมาณลิกนินร้อยละ 29.10 ปริมาณเถ้าร้อยละ 2.02 เมื่อย่อยสลายโดยเอนไซม์เพื่อสร้างน้ำตาลพบว่าเกิดน้ำตาลสูงสุดร้อยละ 82.8 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 ชั่วโมง หลังจากทำการหมักด้วย *Pichia stipitis*-NCIM 3498 สามารถผลิตเอทานอลได้ 7.13 กรัมต่อลิตร ที่ปริมาณน้ำตาล 18.24 กรัมต่อ

ลิตร และ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตเอทานอลได้ 18.52 กรัมต่อลิตร ที่ปริมาณน้ำตาล 37.47 กรัมต่อลิตร

Behera และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากดอก Mahula (*Madhuca latifolia L.*) โดย *Saccharomyces cerevisiae* และ *Zymomonas mobilis* ทำการหมักเป็นเวลา 96 ชั่วโมง (4 วัน) พบว่า *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตเอทานอลได้ 24.83 กรัมต่อลิตร และผลได้ผลิตภัณฑ์เท่ากับ 0.445 กรัมต่อกรัม และ *Zymomonas mobilis* สามารถผลิตเอทานอลได้ 20.47 กรัมต่อลิตร และผลได้ผลิตภัณฑ์เท่ากับ 0.423 กรัมต่อกรัม แสดงให้เห็นว่า *Saccharomyces cerevisiae* มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล

Brethauer และ Wyman (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทเซลลูโลส พบว่าการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา เป็นรูปแบบที่สำคัญในการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอล อีกทั้งเป็นการลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสโดยน้ำตาล และการหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous simultaneous saccharification and fermentation) มีความสามารถในการผลิตเอทานอลที่ต่างจากแบบแบตช์ (Batch simultaneous saccharification and fermentation) เนื่องจากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นวิธีที่ทำให้เกิดการกวนผสมที่สมบูรณ์ ในขณะที่แบบแบตช์ การกวนผสมที่สมบูรณ์จะเกิดขึ้นได้ยากหากวัตถุดิบมีปริมาณมาก

ข้อสรุปจากงานวิจัยพบว่าเชื้อรา *Trichoderma spp.*สามารถใช้เพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้จากการศึกษาของสุภาวินี นิลเขต (2550) กากตะกอนเยื่อกระดาษเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับผลิตกลูโคส และเอนไซม์เซลลูเลส และจากการศึกษาของศิริวัฒนา บัญชรเทวกุล และคณะ (2551) พบว่าจากฟางข้าวและอ้อย เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตเอทานอล โดยมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 35.62 และปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 42.08 ตามลำดับ โดยปริมาณเซลลูโลสที่แตกต่างเมื่อนำมาผลิตเอทานอลจะให้ปริมาณเอทานอลที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2.1 ในกระบวนการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม และสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ จากการศึกษาของ Park และคณะ (2010) อีกทั้งยังให้ปริมาณเอทานอลที่สูง จากการศึกษาของ Gupta และคณะ (2009) และ Behera และคณะ (2010) โดยรูปแบบที่ใช้ผลิตเอทานอลเพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดคือ แบบรวมปฏิกิริยา จากการศึกษาของกุลชาดา สง่าสินธุ (2553)และ Brethauer และ Wyman (2010) พบว่าการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาเป็นรูปแบบที่สำคัญในการเปลี่ยน

ลิกโนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอล และเป็นการลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสโดยน้ำตาล

ข้อแตกต่างจากงานวิจัยของกุลชาดา สง่าสินธุ (2553) คือใช้ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล ใช้เอนไซม์เซลลูเลสซึ่งผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัท Novozyms มีชื่อทางการค้าว่า Novozym 50013 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมที่มีการย่อยสลายเซลลูเลส และในการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตรไม่มีการปรับสภาพวัตถุดิบ

ข้อสรุปจากทฤษฎี คือ เส้นใยจากพืชที่เป็นตัวหลักของกระดาษ โดยจะประกอบด้วยเซลลูโลส (Cellulose) ซึ่งเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสมาเรียงต่อกันกับเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างโมเลกุลของกลูโคสและน้ำตาลอื่น ๆ มาต่อกัน ในกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษจะมีเยื่อบางส่วนหลุดมากลับน้ำเสีย โดยเยื่อเหล่านี้จะประกอบด้วยเซลลูโลส ซึ่งเป็นวัตถุดิบอีกชนิหนึ่งที่สามารถนำมาผลิตเป็นเอทานอลได้ โดยกระบวนการย่อยเซลลูโลสให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งการย่อยนี้จะใช้เอนไซม์เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง และไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์จะเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้ ทำให้มีต้นทุนการบำรุงรักษาที่ต่ำ หลังจากการย่อยจนได้น้ำตาลจะเข้าสู้กระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ ซึ่งยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกลุ่มย่อยของฟังไจ มีการใช้กันอย่าแพร่หลายในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เบียร์ ไวน์ และ การทำขนมปังที่เรียกว่า ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) อีกทั้งในประเทศไทยสามารถผลิตยีสต์ได้เองโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เมื่อสิ้นสุดการหมักจะได้เอทานอลซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนกับการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งหรือน้ำตาล ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อและกระดาษมาทำการทดลองผลิตเอทานอล โดยทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลูเลส และทำการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์โดยการเพิ่มมูลค่าเป็นเอทานอลสำหรับพลังงานในอนาคตได้

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของวัตถุดิบประเภทเซลลูโลสเพื่อการผลิตเอทานอล

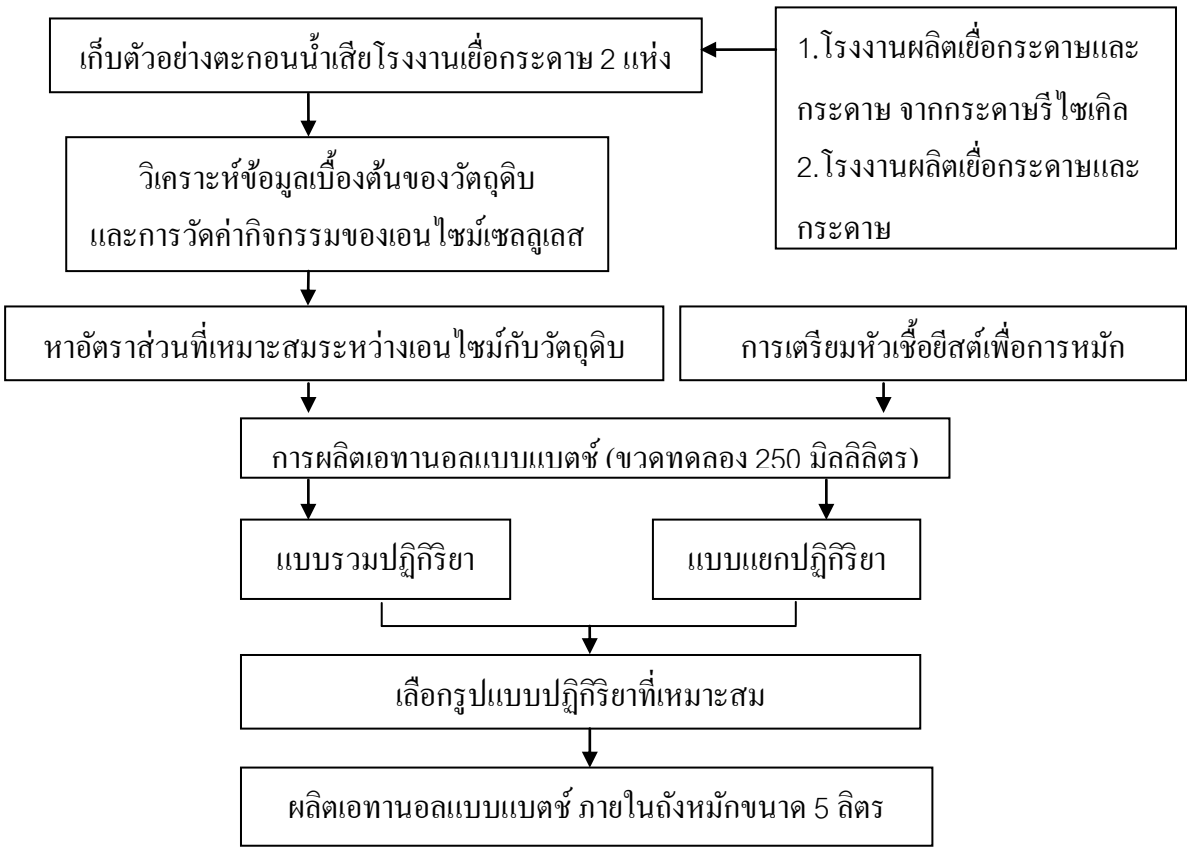
ผู้วิจัย	วัตถุดิบ	โฮโลเซลลูโลส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)		ลิกนิน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	เอทานอล (ก./ล.)
		เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส		
Lark และคณะ (1997)	ตะกอนกระดาษรีไซเคิล	50	10	-	35
ปรียารัตน์ โยวะผุย (2550)	กากและเปลือกมันสำปะหลัง	-	-	-	0.83 (รวมปฏิกิริยา) 0.79 (แยกปฏิกิริยา)
สุภาวินี นิลเขต (2550)	กากตะกอนเยื่อกระดาษ	50.13	38.81	7.49	-
ศิริวัฒนา บัญชรเทวกุล และคณะ(2550)	ฟางข้าว ชานอ้อย	35.62 42.08	29.57 29.94	2.99 7.43	-
Saha และ Cotta (2008)	ข้าวเปลือก	35.6	12	15.4	11 (รวมปฏิกิริยา) 9.8 (แยกปฏิกิริยา)
Marques และคณะ (2008)	ตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิล	34.1	-	20.4 (Klason lignin) *	18.6 (รวมปฏิกิริยา) 19.6 (แยกปฏิกิริยา)
Yamashita และคณะ (2008)	ตะกอนกระดาษ	33.4	14.2	-	18 (รวมปฏิกิริยา)
Gupta และคณะ (2009)	ไม้จากต้น *Prosopis juliflora*	47.50	18.70	29.10 (Klason lignin)*	18.52 (*S. cerevisiae*) 7.13 (*P. stipitis*)
Peng และ Chen (2011)	ตะกอนกระดาษ	60.8	14.2	8.4	9.5 (แยกปฏิกิริยา)

* Klason lignin คือ การวิเคราะห์หาปริมาณลิกนิน (Klason lignin) ตามมาตรฐาน องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ (TAPPI: 222-om-88) โดยการย่อยตัวอย่างในกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้นร้อยละ 72 จากนั้นหาน้ำหนักแห้งของตะกอนที่ได้คือ Klason lignin (ร้อยละน้ำหนักแห้ง) (มาลี ศรีสดสุข และคณะ, 2555: ออนไลน์)

บทที่ 3
แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale) เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากโรงงาน 2 แห่ง ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทเซลลูโลส ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยและบัณฑิตอาคารภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนการทำวิจัยแบ่งเป็น3 ขั้นตอนหลัก ซึ่งขั้นตอนที่ 1 การเก็บตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของวัตถุดิบ และการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ขั้นตอนที่ 2 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์กับวัตถุดิบและการผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อกระบวนการหมัก เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยในขั้นต่อไป ขั้นตอนที่3 การผลิตทดลองเอทานอลแบบแบตช์ ในขวดทดลองขนาด250 มิลลิลิตร และในถังหมักขนาด5 ลิตร ดังแสดงในภาพที่3.1

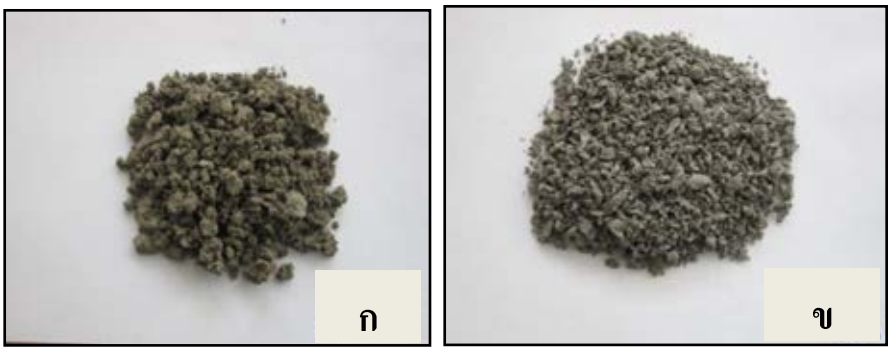


ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

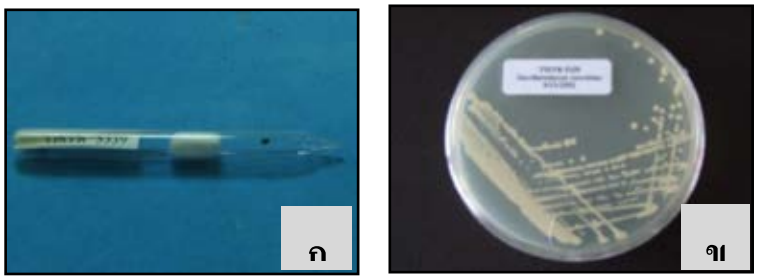
ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลจังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งเป็นระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง (Activated Sludge Process) โดยเก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสียบริเวณจุดหลังออกจากกระบวนการรีดน้ำ และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี ซึ่งเป็นระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง (Activated Sludge Process) เช่นเดียวกัน โดยเก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสียบริเวณจุดหลังออกจากกระบวนการรีดน้ำของบ่อตกตะกอนขั้นต้น



ภาพที่ 3.2 ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษหลังอบแห้งจาก
ก) โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล จังหวัดสมุทรสาคร
ข) โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี

3.1.2 เชื้อยีสต์

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5339 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 2549) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูง ดังแสดงในภาพที่3.3



ภาพที่ 3.3 *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339
ก) เชื้อยีสต์แห้ง ข) เชื้อยีสต์ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3 เอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีชื่อทางการค้าว่า Novozym 50013 เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัท Novozyms ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* ดังแสดงในภาพที่ 3.4

ภาพที่ 3.4 เอนไซม์เซลลูเลสจากบริษัท Novozyms

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ (Yeast Malt Broth) ยี่ห้อ Himedia

3.1.5 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. ตู้ถ่ายเชื้อ (laminar) ยี่ห้อ Holten Lamiair รุ่น HVR 2460
2. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH-meter)
3. ตู้เย็น
4. หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) ยี่ห้อ HIRAYAMA รุ่น HA-3D
5. เตาอบความร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ WTB binder รุ่น F115
6. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
7. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography) ยี่ห้อ Shimadzu GC-7AG
8. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
9. เครื่องเขย่า (Shaker) Sartorius รุ่น A200S
10. กระดาษกรอง (CN. Membrane) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
11. ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
12. เตาให้ความร้อน (Hot plate)
13. ตะเกียงแอลกอฮอล์
14. เครื่องแก้วสำหรับการทดลอง

สารเคมี

1. กรดซิตริก ยี่ห้อ UNIVAR
2. โซเดียมซิเตรท ยี่ห้อ UNILAB
3. 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิค (DNS) ยี่ห้อ Fluka
4. โพแตสเซียมโซเดียมทาเทรต ยี่ห้อ UNIVAR
5. ดี-กลูโคส ยี่ห้อ UNIVAR
6. เอทานอล ยี่ห้อ Mallinckrodt chemicals
7. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
8. น้ำกลั่น

3.1.6 ตัวแปร และค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจวัด

ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่ คือปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เอนไซม์เซลลูเลส ความเร็วรอบในการเขย่า และความถี่ในการเก็บตัวอย่าง ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา คือปริมาณตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ และเวลาที่ใช้ในการผลิตเอทานอล และตัวแปรที่ทำการวิเคราะห์ คือปริมาณน้ำตาลโดยวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีไดไนโตรซาลิไซลิค (DNS method) (Miller, 1959) และปริมาณเอทานอลวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (GC) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวแปร และค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการตรวจวัด

ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่	**ขวดทดลอง 250 มิลลิลิตร**	**ถังหมักขนาด 5 ลิตร**
ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว	100 มิลลิลิตร	3,500 มิลลิลิตร
เอนไซม์เซลลูเลส	1 มิลลิลิตร	35 มิลลิลิตร
ความเร็วรอบในการเขย่า	ประมาณ 150 รอบต่อนาที	-
ความถี่ในการเก็บตัวอย่าง	ทุกๆ 24 ชั่วโมง	ทุกๆ 24 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง
สัดส่วนเอนไซม์ต่อตะกอนน้ำเสีย	1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20	-
แหล่งของเซลลูโลส	- ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล - ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา	**ค่าที่ใช้ในการศึกษา**	
ปริมาณเซลลูโลส	การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
ปริมาณน้ำตาล	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีไดไนโตรซาลิไซลิค	
ปริมาณเอทานอล	เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (GC)	

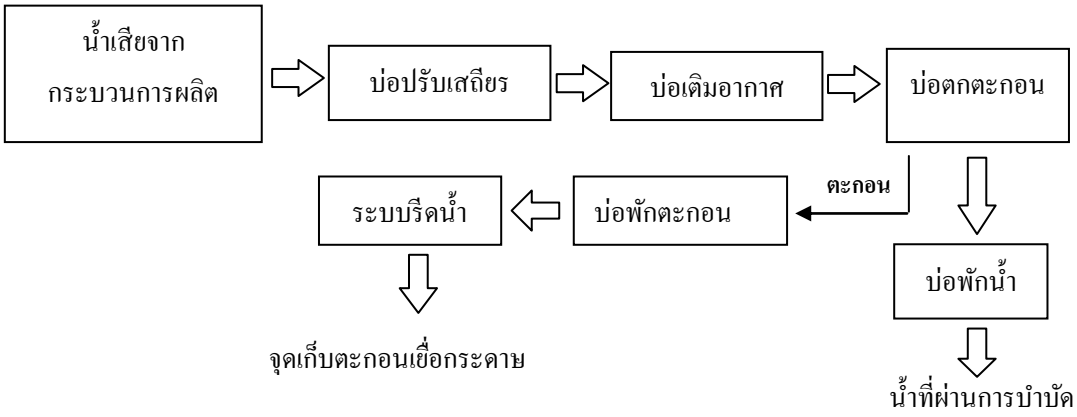
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การเก็บตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของวัตถุดิบ และการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

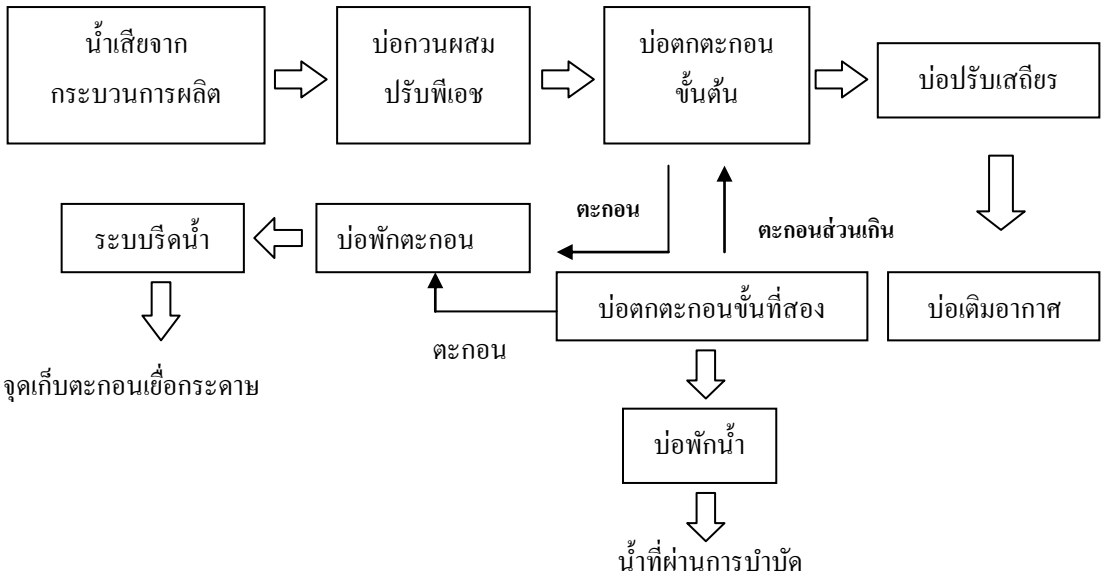
3.2.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล จังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งเป็นระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง (Activated Sludge Process) ดังแสดงในภาพที่ 3.5 และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัด ปราจีนบุรี ซึ่งเป็นระบบบำบัดแบบตะกอนเร่งเช่นเดียวกัน ดังแสดงในภาพที่ 3.6 โดยเก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสียบริเวณจุดหลังออกจากกระบวนการรีดน้ำ ของบ่อตกตะกอนขั้นต้น ซึ่งเป็น Combined sludge เป็นส่วนผสมของ Primary sludge คือส่วนที่แขวนลอยอยู่ในน้ำเสียจากโรงงาน ซึ่งมีของแห้งและส่วนประกอบที่เป็นพวกอินทรีย์สารส่วนใหญ่ เยื่อไม้และพวกอนินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบ และ Secondary sludge เป็นผลที่ได้จากการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพ สิ่งที่พบ ได้แก่ แบคทีเรีย

นอกจากนี้ยังอาจพบไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ซึ่งอาจจะพบส่วนที่เพิ่มเข้าไปในส่วนของสูตรอาหารในระบบชีวภาพ



ภาพที่ 3.5 กระบวนการบำบัดน้ำเสียและจุดเก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย
โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล จังหวัดสมุทรสาคร



ภาพที่ 3.6 กระบวนการบำบัดน้ำเสียและจุดเก็บตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย
โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี (กุลชาดา สง่าสินธุ, 2553)

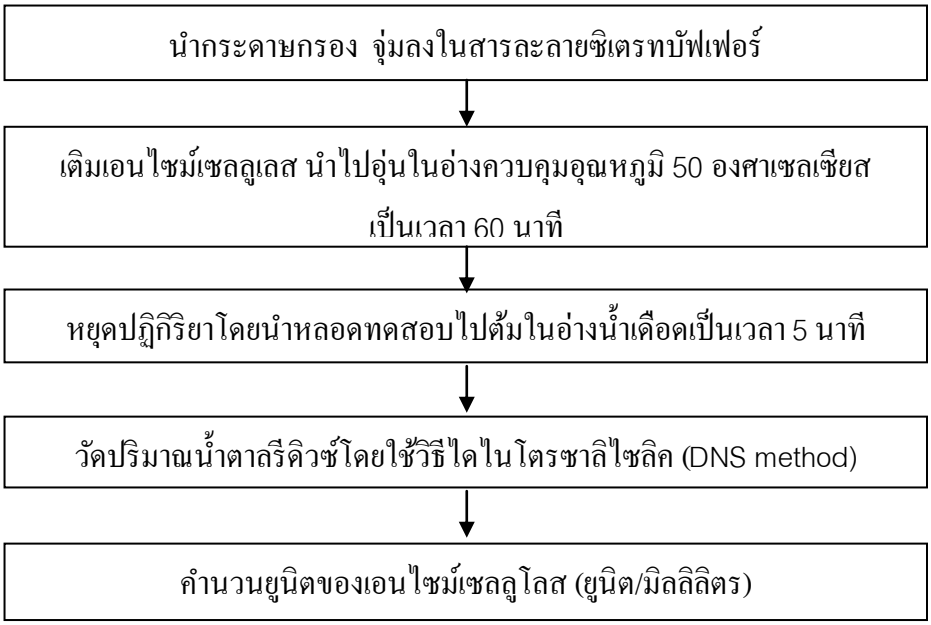
3.2.2 การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของกากตะกอนเยื่อกระดาษ

นำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษของโรงงานทั้งสองแห่งมาทำให้แห้ง เพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของตะกอน น้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษได้แก่ ปริมาณเซลลูโลสและลิกนิน โดยวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ (Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 2000) และวัดค่าพีเอชของตะกอนน้ำเสียทั้งสองแห่ง

3.2.3 การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เซลลูเลส ที่ใช้ในงานวิจัยมีชื่อทางการค้าว่า Novozym 50013 เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัท Novozyms ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากรา *Trichoderma reesei* ทำการตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสตามวิธีการของ Mandel และ Sternberg (1976) ดังแสดงในภาพที่ 3.7 ทำการทดสอบโดยใช้หลอดทดลอง ซึ่งนำกระดาษกรองขนาด 1x6 เซนติเมตร จำนวน 50 มิลลิกรัม จุ่มลงในสารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่พีเอช 4.8 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมเอนไซม์เซลลูเลสปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และหยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดทดลองไปต้มในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีไดไนโตรซาลิไซลิค (DNS method) (Miller, 1959) (ภาคผนวก ข) จากนั้นทำการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (ภาคผนวก ค) โดยนำปริมาณน้ำตาลที่ได้มาคำนวณยูนิตของเอนไซม์เซลลูโลส (ยูนิต /มิลลิลิตร) โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ (FPU) คือปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายกระดาษกรอง แล้วได้น้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่สภาวะที่ทดสอบเท่ากับ

$$\text{FPU} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{อัตราส่วนการเจือจางตัวอย่าง} \times \text{ปริมาณเอนไซม์}}{\text{ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน} \times \text{มวลโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส} \times \text{เวลาที่ใช้}}$$

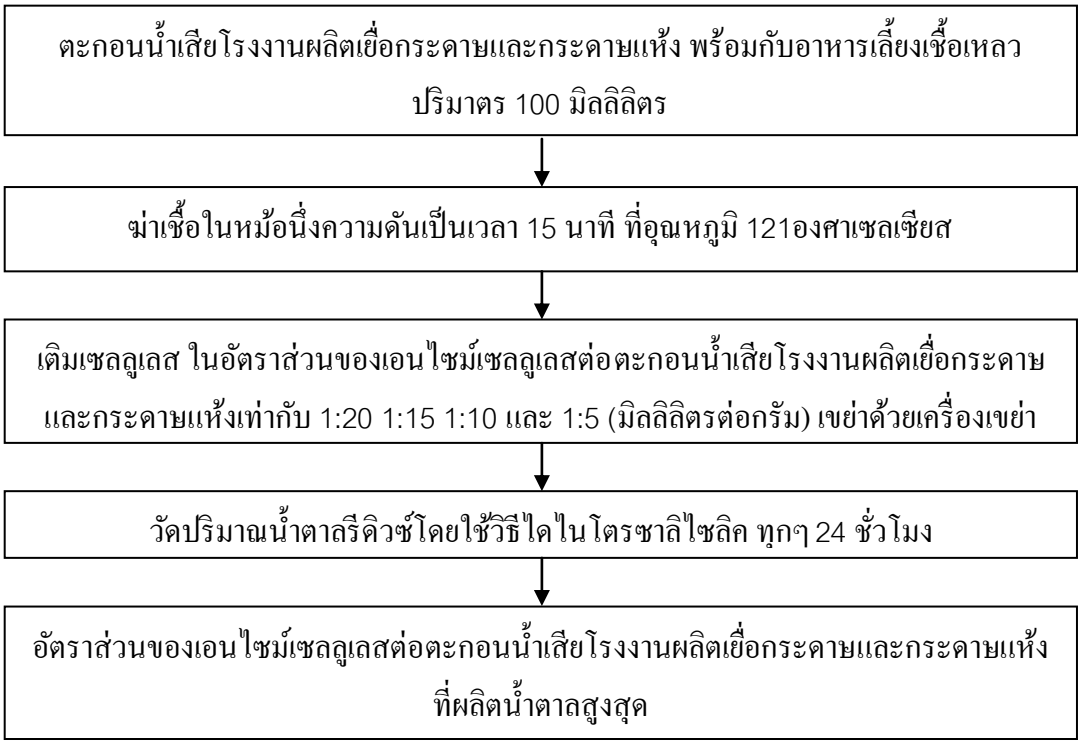


ภาพที่ 3.7 ขั้นตอนการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

ขั้นตอนที่ 2 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์กับวัตถุดิบ และการเตรียมหัวเชื้อยีสต์เพื่อกระบวนการหมัก เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยในขั้นต่อไป

3.2.4 ศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อ ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล

3.2.4.1 นำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งจากโรงงานทั้งสองแห่ง ใส่ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตรพร้อมกับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งทั้งสองแห่งที่ปริมาณ 20, 15, 10 และ 5 กรัม ไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมเซลลูเลส ในอัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ1:20, 1:15, 1:10 และ 1:5 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) ลงในขวดทดลองแล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง ทำการทดลองจนระดับน้ำตาลคงที่ ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทุกๆ 24 ชั่วโมง โดยวิธีไดไนโตรซาลิไซลิค (ภาคผนวก ข) ดังแสดงในภาพที่ 3.8 ทำให้ได้อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งที่ผลิตน้ำตาลสูงสุด



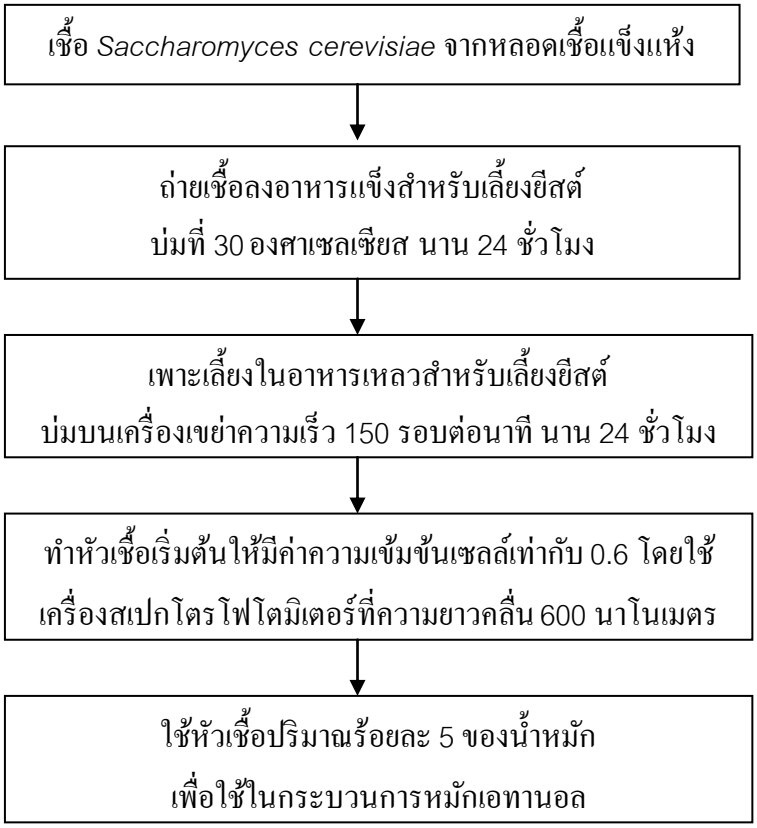
ภาพที่ 3.8 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล

3.2.4.2 นำอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ที่สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุดจากขั้นตอนที่ 3.2.4.1 ซึ่งทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ โดยการนำตะกอนน้ำเสียโรงงานทั้งสองแห่งเติมน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำน้ำส่วนที่ตะกอนน้ำเสียไม่ดูดซึมออก เติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมเซลลูเลสเขย่าด้วยเครื่องเขย่า เก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงเพื่อ วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีไดไนโตรซาลิไซลิค

3.2.5 การเตรียมหัวเชื้อยีสต์เพื่อกระบวนการหมัก (Fermentation)

ยีสต์ที่ใช้ในการทดลองคือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ถ่ายยีสต์ที่เจริญบนอาหารแข็งสำหรับเลี้ยงยีสต์ (Yeast Malt Extract Agar) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อยีสต์ลงสู่อาหารเหลวสำหรับเลี้ยงยีสต์ (Yeast Malt Extract Broth) ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งอาหารเหลวผ่านการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน

เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เขย่าบนเครื่องเขย่า นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาเตรียมหัวเชื้อเพื่อกระบวนการผลิตเอทา นอล กำหนดค่าความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นเท่ากับ 0.6 (ค่า OD เท่ากับ 0.6) โดยทำการวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโต มิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ก่อนนำหัวเชื้อปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมัก (ปริมาตรต่อปริมาตร) มาใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอล ดังแสดงในภาพที่ 3.9



ภาพที่ 3.9 ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อยีสต์เพื่อกระบวนการหมัก (Fermentation)

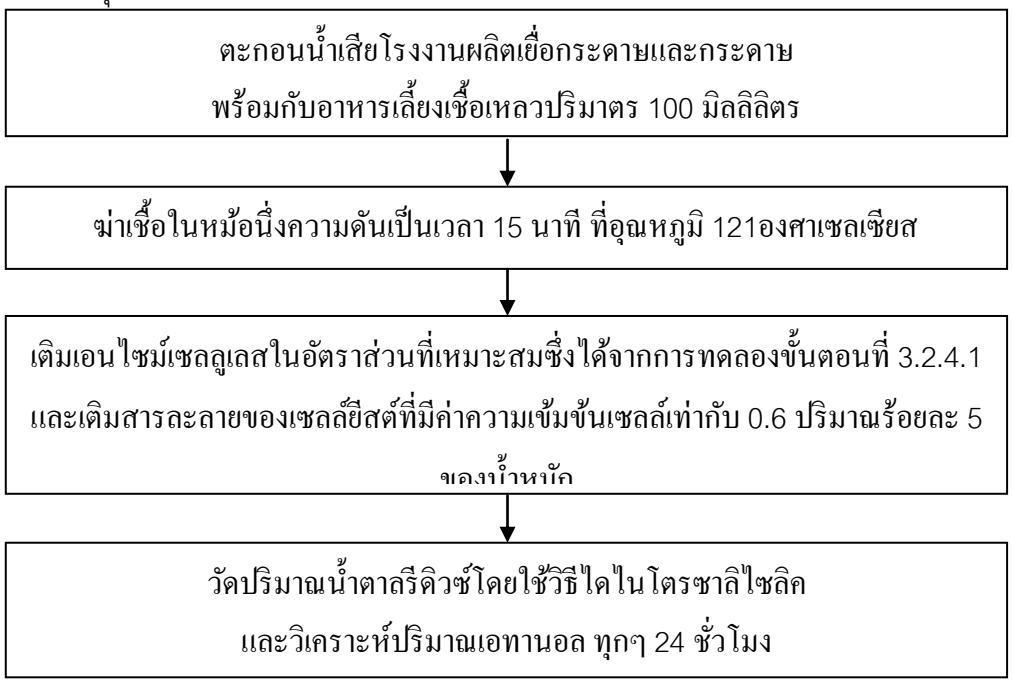
ขั้นตอนที่ 3 การผลิตเอทานอลแบบแบตช์ ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร และในถังหมักขนาด 5 ลิตร

3.2.6 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ขวดทดลองขนาด 250 มล.)

3.2.6.1 <u>แบบรวมปฏิกิริยา</u> โดยนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง ซึ่งสามารถผลิตน้ำตาลสูงสุดจากขั้นตอน 3.2.4.1 และอาหารเหลวสำหรับเลี้ยงยีสต์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมเอนไซม์เซลลูเลสในอัตราส่วนที่

เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 3.2.4.1 และเติมสารละลายของเซลล์ยีสต์ที่มีค่าความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 0.6 ปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมัก นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมงทำการทดลองจนระดับน้ำตาลคงที่ โดยการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีไดไนโตรซาลิไซลิค และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี

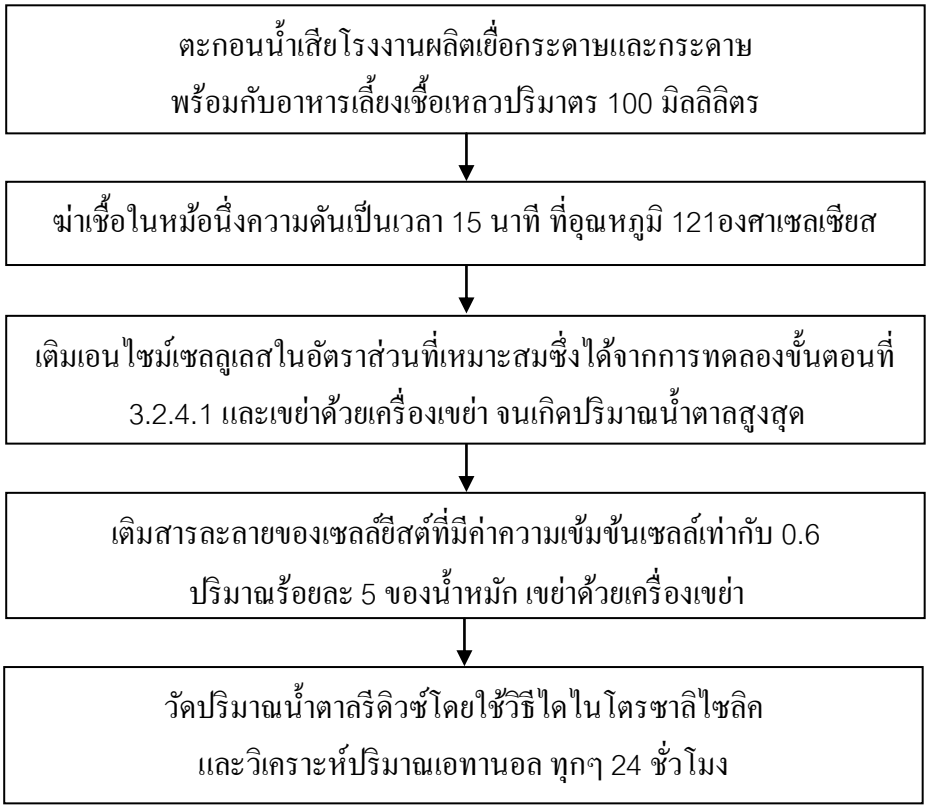
ทำการทดลองผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา ด้วยตะกอนน้ำเสียที่ทำให้ชุ่มด้วยน้ำ โดยนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ซึ่งสามารถผลิตน้ำตาลสูงสุดจากขั้นตอน 3.2.4.1 นำตะกอนน้ำเสียโรงงานทั้งสองแห่งเติมน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำน้ำส่วนที่ตะกอนน้ำเสียไม่ดูดซึมออก เติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมเซลลูเลสในอัตราส่วนที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 3.2.4.1 และเติมสารละลายของเซลล์ยีสต์ที่มีค่าความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 0.6 ปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมัก นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมงทำการทดลองจนระดับน้ำตาลคงที่ โดยการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีไดไนโตรซาลิไซลิค และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี ขั้นตอนการทดลองดังสรุปในภาพที่ 3.10



ภาพที่ 3.10 ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ แบบรวมปฏิกิริยาในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.6.2 <u>แบบแยกปฏิกิริยา</u> โดยนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง ที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง ซึ่งสามารถผลิตน้ำตาลสูงสุดจากขั้นตอน 3.2.4.1 และอาหารเหลวสำหรับเลี้ยงยีสต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมเอนไซม์เซลลูเลสในอัตราส่วนที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 3.2.4.1 นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าจนเกิดปริมาณน้ำตาลสูงสุด จึงเติมสารละลายของเซลล์ยีสต์ที่มีค่าความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 0.6 ปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมัก เขย่าด้วยเครื่องเขย่า เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง ทำการทดลองจนระดับน้ำตาลคงที่ โดยการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีไดไนโตรซาลิไซลิค และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี

ทำการทดลองผลิตเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา ด้วยตะกอนน้ำเสียที่ทำให้ชุ่มด้วยน้ำ โดยนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง ซึ่งสามารถผลิตน้ำตาลสูงสุดจากขั้นตอน 3.2.4.1 นำตะกอนน้ำเสียโรงงานทั้งสองแห่งเติมน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำน้ำส่วนที่ตะกอนน้ำเสียไม่ดูดซึมออก เติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมเซลลูเลสในอัตราส่วนที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 3.2.4.1 นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า จนเกิดปริมาณน้ำตาลสูงสุด จึงเติมสารละลายของเซลล์ยีสต์ที่มีค่าความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 0.6 ปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมัก เขย่าด้วยเครื่องเขย่า เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง ทำการทดลองจนระดับน้ำตาลคงที่ โดยการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีไดไนโตรซาลิไซลิค และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี ขั้นตอนการทดลองดังแสดงในภาพที่ 3.11

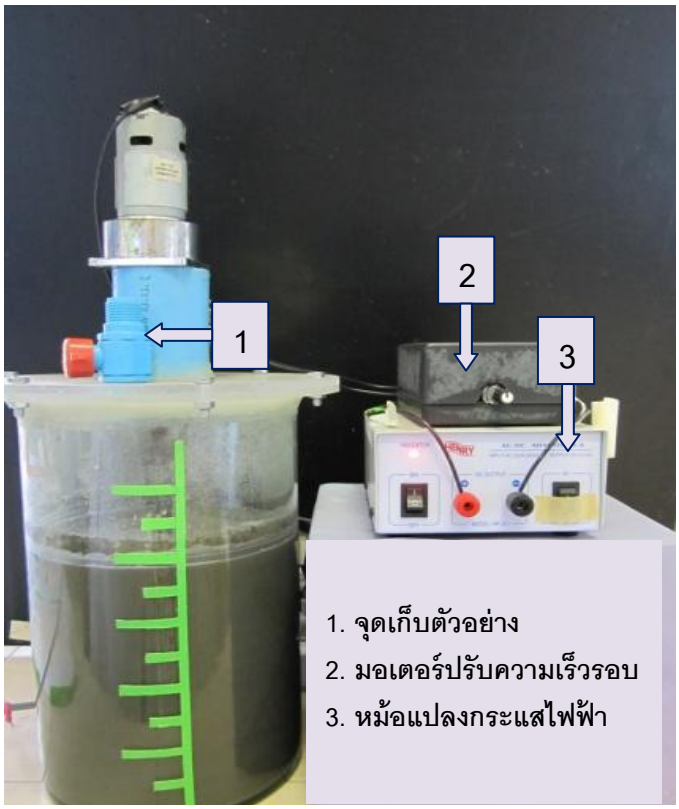


ภาพที่ 3.11 ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ แบบแยกปฏิกิริยา ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.7 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ในถังหมักขนาด 5 ลิตร)

นำสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลที่ทดลองในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ทั้งอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งในขั้นตอนที่ 3.2.4.1 และรูปแบบการผลิตเอทานอล (แบบรวมปฏิกิริยาหรือแบบแยกปฏิกิริยา)ในขั้นตอนที่ 3.2.6 ที่ให้ปริมาณเอทานอลมากที่สุด มาใช้ในการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งเป็นถังหมักแบบกวน (Stirred Tank Reactor, STR) ประกอบด้วยตัวถัง (Vessel) ซึ่งเป็นถังทรงกระบอกทำด้วยแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 17 เซนติเมตร สูง 28 เซนติเมตร มีอุปกรณ์การกวนและไม่มีการเติมอากาศ ใช้ปริมาตรทำงาน (Working Volume) เท่ากับ 3.5 ลิตร ซึ่งมีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง และเอนไซม์เซลลูเลส เก็บตัวอย่างทุก24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี ไดไนโตรซาลิไซลิค(DNS method) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี และทำการทดลองผลิตเอทานอลด้วยตะกอนน้ำเสียที่ทำให้ชุ่มด้วยน้ำ โดยนำสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลที่ทดลองในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ ทั้งอัตราส่วนระหว่าง

เอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ และรูปแบบการผลิตเอทานอล (แบบรวมปฏิกิริยาหรือแบบแยกปฏิกิริยา) ที่ให้ปริมาณเอทานอลมากที่สุด มาใช้ในการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี ไดไนโตรซาลิไซลิค (DNS method) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี ถังหมักแบบกวนขนาด5 ลิตร ที่ใช้ในการทดลอง แสดงในภาพที่3.12



ภาพที่ 3.12 ถังหมักแบบกวนขนาด 5 ลิตร ที่ใช้ในการทดลอง

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองเพื่อศึกษาการนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากโรงงานทั้งสองแห่ง ซึ่งเป็นของเสียที่เกิดจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงาน เพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยวัตถุดิบให้ได้น้ำตาล และใช้ยีสต์ในกระบวนการหมักเพื่อการผลิตเอทานอล ซึ่งการทดลองแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเก็บตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของวัตถุดิบ และการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

ขั้นตอนที่ 2 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์กับวัตถุดิบ และการเตรียมหัวเชื้อยีสต์เพื่อกระบวนการหมัก เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยในขั้นต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 การผลิตเอทานอลแบบแบตช์ ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร และถังหมักขนาด 5 ลิตร

เมื่อทำการทดลองตามขั้นตอนข้างต้น พบว่าให้ผลการทดลองดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเก็บตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของวัตถุดิบ และการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

4.1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เมื่อนำตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ของโรงงานทั้งสองแห่งมาทำให้แห้งเพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษได้แก่ ปริมาณเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ตามมาตรฐาน การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ (ภาคผนวก จ) โดยปริมาณโฮโลเซลลูโลส ประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสรวมกัน ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบจะทำให้ทราบค่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณโฮโลเซลลูโลส นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณเฮมิเซลลูโลส พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล ปริมาณโฮโลเซลลูโลสร้อยละ 39.7 แบ่งเป็นปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 39.7 และไม่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลส ปริมาณลิกนินร้อยละ 8 และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 50.9 โดยน้ำหนักแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ มีปริมาณโฮโลเซลลูโลสร้อยละ 73.3 แบ่งเป็นปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 73.2 และมีปริมาณปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 0.1 ปริมาณลิกนินร้อยละ 6 และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 26.3 โดยน้ำหนักแห้ง โดยปริมาณเถ้าคือส่วนของ

สารอนินทรีย์ (Inorganic) ที่เหลือจากการเผา ซึ่งปริมาณเซลลูโลสที่แตกต่างกันเป็นผลจากวัตถุดิบในการผลิตเยื่อกระดาษที่แตกต่างกัน โดยตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล ใช้วัตถุดิบหลักในการผลิตคือกระดาษที่ใช้งานแล้วทำให้มีปริมาณเซลลูโลสต่ำผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็น กระดาษกล่อง (Box Paper) หรือกระดาษปรู๊ฟ (Newsprint) เป็นต้น ส่วนตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษใช้วัตถุดิบหลักในการผลิตคือไม้ที่ให้เนื้อเยื่อมากและมีคุณภาพสูงเหมาะสำหรับการผลิตกระดาษพิมพ์เขียน ในกระบวนการสกัดเยื่อกระดาษจะต้องกำจัดลิกนินออกไปเนื่องจากเป็นสาเหตุทำให้กระดาษมีสีคล้ำและเยื่อมีความแข็งแรงต่ำทำให้ปริมาณลิกนินในตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งมีค่าต่ำ จึงไม่ทำการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนทำการผลิตเอทานอล ผลการ วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง ดังสรุปในตารางที่ 4.1 โดย เซลลูโลสเกิดจากกลูโคสเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว เซลลูโลสเมื่อถูกย่อยจะแตกตัวออกให้น้ำตาลกลูโคสจำนวนมาก ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทน้ำตาลสำหรับการผลิตเอทานอล

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง

ตะกอนน้ำเสีย	ค่าพีเอช	องค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)			
		โฮโลเซลลูโลส		ลิกนิน	เถ้า
		เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส		
โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล	6.87	39.7	0	8	50.9
โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	6.22	73.2	0.1	6	26.3

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า Saha และ Cotta (2008) วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสในข้าวเปลือก พบเซลลูโลสร้อยละ 35.6 Marques และคณะ (2008) วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสจากตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิล พบว่ามีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 34.1 และปริมาณเถ้าร้อยละ 29.3 และศิริวัฒนา บัญชรเทวกลุ และคณะ (2551) วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสจากฟางข้าวและชานอ้อย พบว่าในฟางข้าวมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 35.62 และในชานอ้อยมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 42.08 เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบที่แตกต่างกันเป็นผลให้มีปริมาณเซลลูโลสที่แตกต่างกัน เมื่อทำการย่อยจะแตกตัวออก ให้น้ำตาลกลูโคส ที่แตกต่างกัน จากปริมาณเซลลูโลสที่สูงทำให้มีความ

เป็นไปได้ที่จะนำตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษมาใช้ประโยชน์โดยเปลี่ยนให้มีมูลค่าเพิ่มขึ้น เช่นการผลิตเอทานอล

4.2 การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีชื่อทางการค้าว่า Novozym 50013 เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัท Novozyms ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* เป็นเอนไซม์ที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมที่มีการย่อยสลายเซลลูเลส โดยแบ่งเป็นสองชุด เนื่องจากการขอความอนุเคราะห์เอนไซม์จากบริษัทที่จำหน่ายในครั้งแรกได้เพียง 100 มิลลิลิตร ทำให้ไม่เพียงพอต่อการใช้ตลอดการทดลอง จึงทำการขอความอนุเคราะห์เอนไซม์ชุดที่สอง ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิดเดียวกันแต่ปริมาตรเพิ่มขึ้น เพื่อให้เพียงพอต่อการใช้งานตลอดการทดลอง

นำเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* มาตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสตามวิธีการของ Mandel และ Sternberg (1976) โดยคำนวณยูนิตของเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิต/มิลลิลิตร) ซึ่ง 1 หน่วยของเอนไซม์ (FPU) คือปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายกระดาษกรอง แล้วได้น้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่สภาวะที่ทดสอบเท่ากับ 0.242 ยูนิต(FPU) ต่อมิลลิลิตร ของเอนไซม์ ชุดที่ 1 และ 0.238 ยูนิต (FPU) ต่อมิลลิลิตรของเอนไซม์ ชุดที่ 2 (ภาคผนวก ค.) ซึ่งค่ากิจกรรมทั้งสองมีค่าใกล้เคียงกัน จากค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่สูงจะทำให้ค่าการย่อยสลายสูงตามไปด้วย เนื่องจากการย่อยสลายขึ้นอยู่กับการทำงานร่วมกันของ เอ็นโดกลูคาเนส และเซลโลไบโอไฮโดรเลส (Cellobiohydrolases) ย่อยได้เซลโลไบโอส หลังจากนั้นเบต้ากลูโคสิเดสจะเปลี่ยนเซลโลไบโอสเป็นกลูโคส โดยเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวอาจจะไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการย่อยสลาย โดย *Trichoderma* เป็นกลุ่มใหญ่ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส แต่มีค่ากิจกรรมของ เบต้า-กลูโคสิเดสที่ต่ำ (Singhania และคณะ, 2010) ปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ก็คือ อุณหภูมิ ซึ่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและจะลดลงเนื่องจากการเสียสภาพเอนไซม์ ทั่วไปเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (Optimal temperature) ประมาณ 50 องศาเซลเซียส ยกเว้นจุลินทรีย์ทนความร้อนบางชนิด นอกจากนี้ยังมีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง คงทนต่อพีเอชได้กว้างระหว่าง 4.0 ถึง 8.0 และคงทนต่อสารเคมีได้ดี อย่างไรก็ตามเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันย่อมมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป (น้อย เกษมสุขสกุล, 2529) จากค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสเท่ากับ 0.242 ยูนิต(FPU)ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากเอนไซม์ทางการค้า พบว่ามีค่าสูงกว่า Cellulase AP30K ที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 0.17 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่ Cellulase AP30K จะมีลักษณะที่ใช้เป็นผง โดยค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสทาง

การค้าชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.2 นำค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่คำนวณได้ มาทำการทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยเติมเอนไซม์เซลลูเลส 1 มิลลิลิตร ทุกอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ทำให้มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสเท่ากับ 0.242 ยูนิต เพื่อหาอัตราส่วนที่สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุด

ตารางที่ 4.2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส จากเอนไซม์ทางการค้า

ชื่อทางการค้า	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิลิตร)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ลักษณะ
Cellulyve	24	50	ของเหลว
Cellulase 2000L	10	50	ของเหลว
Novozymes 188	น้อยกว่า 5	50	ของเหลว
Bio-feed beta L	น้อยกว่า 5	50	ของเหลว
Ultraflo L	น้อยกว่า 5	50	ของเหลว
Cellulase TAP106	0.42	50	ผง
Biocellulase A	0.29	50	ผง
Cellulase AP30K	0.17	60	ผง
Novozyme 50013*	0.242	50	ของเหลว

ที่มา: Singhania และคณะ, 2010 หมายเหตุ: * จากการทำการทดลองในงานวิจัยนี้

ขั้นตอนที่ 2 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์กับวัตถุดิบ และการผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อกระบวนการหมัก เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยในขั้นต่อไป

4.3 ผลศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล

เอนไซม์คือกลุ่มโปรตีนที่มีความสามารถเร่งปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเร่งสังเคราะห์ โดยสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะไม่รุนแรง และไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์จะเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้ (ปราณี อ่านเปรื่อง,2545) ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบในการใช้เอนไซม์เพื่อย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส โดยประสิทธิภาพของการใช้เอนไซม์ในการย่อยขึ้นอยู่กับสัดส่วนวัตถุดิบต่อเอนไซม์ ถ้าสัดส่วนของวัตถุดิบสูงเกินไป จะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ในขณะที่อัตราส่วนที่ต่ำไปก็จะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาและประสิทธิภาพลดลง (กุลชาดา สง่าสินธุ , 2553) จึงมี

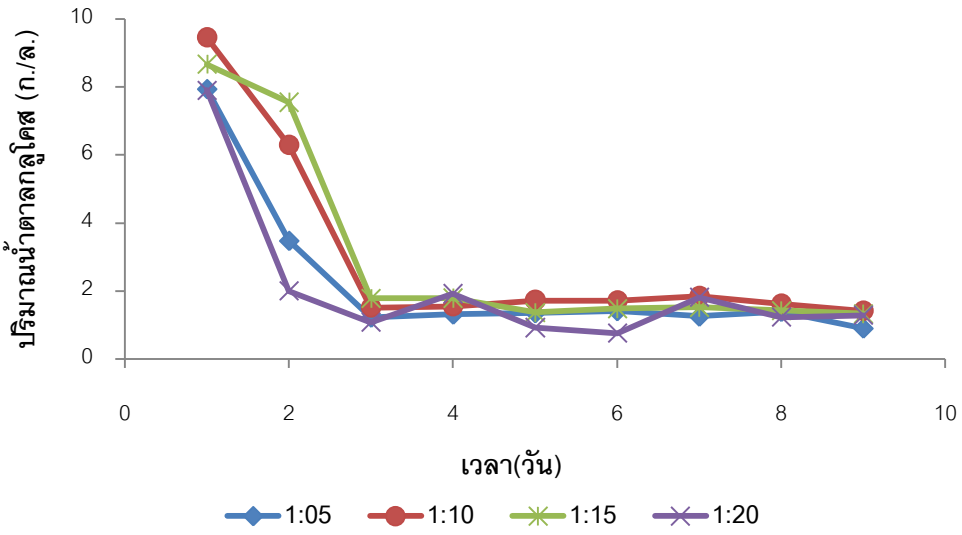
การศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาลสูงสุด โดย เอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ 3 ชนิด ที่ทำงานร่วมกัน ได้แก่ เอ็นโดกลูคาเนส เอ็กโซกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคสิเดส

จากการนำตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งจากโรงงานทั้งสองแห่งมาศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาลในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร พร้อมกับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:20, 1:15, 1:10 และ 1:5 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตน้ำตาลสูงสุดที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) โดยผลิตน้ำตาลเท่ากับ 9.45 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.1 โดยที่อัตราส่วนที่ 1:10 มีแนวโน้มลดลงหลังจากการเกิดปฏิกิริยา 48 ชั่วโมง(วันที่ 2 ของการทดลอง) และเริ่มลดลงและคงที่ ในวันที่ 3 ของการทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง 9 วัน โดยปริมาณน้ำตาลที่ลดลงอาจเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และสารตั้งต้นเกิดได้เร็ว ทำให้สารตั้งต้นหรือเอนไซม์หมดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้ปริมาณน้ำตาลที่ได้ลดลง นอกจากนั้นจากการเขย่าในระบบเปิดและไม่มีการควบคุมอุณหภูมิในการย่อยสลาย ทำให้มีโอกาสที่เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศส่งผลให้เกิดการแย่งอาหาร

ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลต่างๆ การทดลองครั้งที่ 1

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนต่างๆ (ก./ล.)			
	1:5 (มล./ก.)	1:10 (มล./ก.)	1:15 (มล./ก.)	1:20 (มล./ก.)
1	7.94	9.45	8.66	7.90
2	3.47	6.29	7.54	2.00
3	1.21	1.50	1.77	1.07
4	1.30	1.54	1.78	1.91
5	1.34	1.72	1.36	0.91
6	1.40	1.71	1.47	0.75
7	1.24	1.84	1.51	1.80
8	1.38	1.62	1.41	1.22
9	0.89	1.41	1.32	1.27

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 1 (กรกฎาคม 2554)



ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล การทดลองครั้งที่ 1

นอกจากนี้ผลการทดลองพบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ที่ทุกอัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษซึ่งมีลักษณะแห้ง ตะกอนจะดูดซับอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเตรียมในปริมาตร 100 มิลลิลิตรไว้หมด จึงทำให้ไม่สามารถทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลได้ ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองเพิ่มเติมโดยเตรียมปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 150 มิลลิลิตร ซึ่งผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:15 และ 1:20 ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจะดูดซับอาหารเลี้ยงเชื้อไว้เช่นเดียวกัน ทำให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลได้ที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 และ 1:5 ทำให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลได้ที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 และ 1:5 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) ซึ่งจะมีผลต่อขั้นตอนการทดลองผลิตเอทานอลในขั้นตอนต่อไป โดยอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตน้ำตาลสูงสุดที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษแห้ง) โดยผลิตน้ำตาลเท่ากับ 8.73 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) โดยที่อัตราส่วนที่ 1:10 มีแนวโน้มลดลงในวันที่ 4 ของการทดลองและเริ่มลดลงและคงที่ในวันที่ 7 ของการทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง 9 วัน

เมื่อทำการปรับอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษเป็น 0.5:7.5 (1:15) และ 0.5:10 (1:20) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร พบว่าอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 0.5:7.5 สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุด 7.96 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการทดลอง โดยผลิตน้ำตาลได้น้อยกว่าที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:5 และ 1:10 เนื่องจากใช้ปริมาณเอนไซม์ที่น้อยกว่า แต่มีปริมาณตะกอนที่มากขึ้นทำให้ปริมาณเอนไซม์ไม่เพียงพอที่จะทำการย่อยตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ และอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 0.5:10 สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุด 8.75 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการทดลอง ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณน้ำตาลจากอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10 แต่ระยะเวลาในการผลิตน้ำตาลที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับ

ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 0.5:10 มากกว่าอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 0.5:7.5 และ 0.5:10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน แสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.2

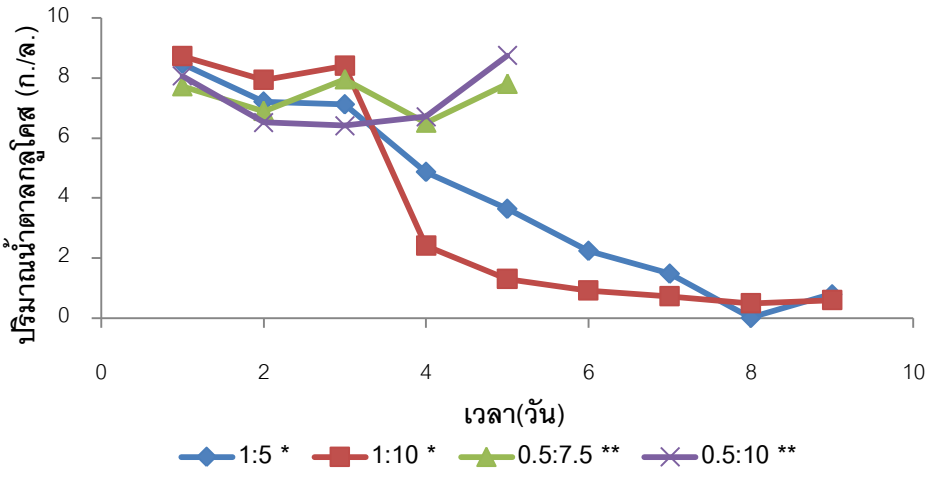
จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในการหมักแบบแยกปฏิกิริยาของทั้งสองตัวอย่างจะต้องหมักให้ได้น้ำตาลสูงสุดเป็นเวลา 1 วันก่อนจะเติมเซลล์ยีสต์เพื่อทำการผลิตเอทานอลในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนต่างๆ (ก./ล.)			
	1:5 *	1:10 *	0.5:7.5 **	0.5:10 **
1	8.48	8.73	7.73	8.07
2	7.22	7.94	6.91	6.52
3	7.13	8.41	7.96	6.42
4	4.88	2.42	6.52	6.72
5	3.65	1.31	7.81	8.75
6	2.25	0.93	-	-
7	1.49	0.73	-	-
8	0.02	0.50	-	-
9	0.80	0.61	-	-

หมายเหตุ: * ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 1 (กรกฎาคม 2554) และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 150 มิลลิลิตร

**ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2 (เมษายน 2555) และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร



หมายเหตุ : * ใช้อาการเลี้ยงเชื้อเหลว 150 มล. และ ** ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 100 มล.

ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เมื่อทำการทดลองซ้ำโดยเลือกอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) เนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่สามารถผลิตน้ำตาลสูงสุด พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุดเท่ากับ 7.39 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) ซึ่งต่ำกว่าการทดลองครั้งที่ 1 ที่สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุดเท่ากับ 9.45 กรัมต่อลิตร และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษสามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุดเท่ากับ 8.46 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) ซึ่งต่ำกว่าการทดลองครั้งที่ 1 ที่สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุดเท่ากับ 8.73 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10 การทดลองครั้งที่ 2 แสดงดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.3

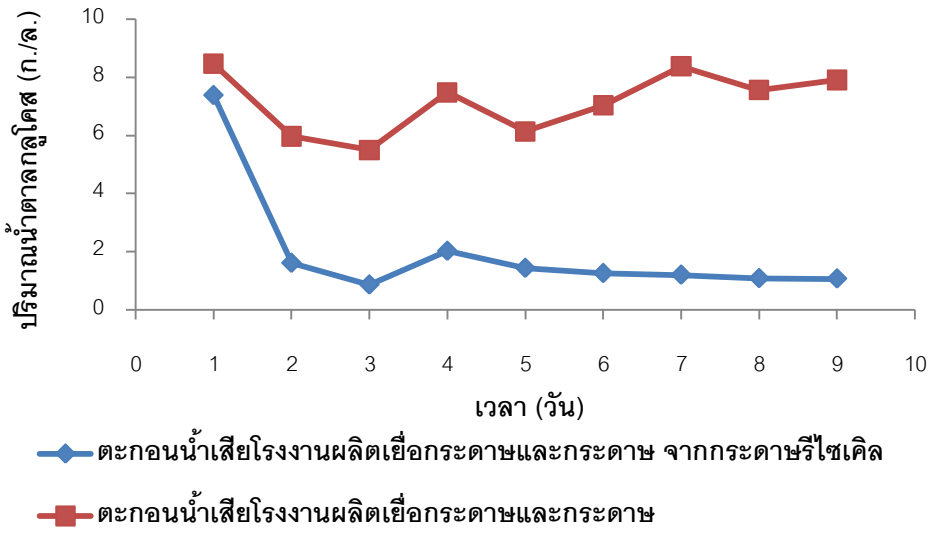
จากการทดลองผลิตน้ำตาลกลูโคส ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล มีปริมาณน้ำตาลลดลงทุกการทดลอง อาจเนื่องมาจากตะกอนมีส่วนที่มาจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ทำให้มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนออกมากับตะกอน อาจมีสปอร์ของจุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่สามารถฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เนื่องจากสปอร์ช่วยให้จุลินทรีย์สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้นาน แม้จะมีสภาพอากาศที่แห้งแล้ง และทนต่อความร้อนสูงได้ ทำให้สามารถแพร่กระจายในน้ำ ดิน และอากาศ เมื่อสภาวะเหมาะสมสปอร์จะทำให้

จุลินทรีย์เจริญเติบโตต่อไป ทำให้เมื่อเกิดการผลิตน้ำตาล จุลินทรีย์เหล่านั้นจึงนำน้ำตาลที่ผลิตได้ใช้เป็นแหล่งอาหาร ทำให้ปริมาณน้ำตาลลดลง

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10 การทดลองครั้งที่ 2

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วน 1:10 (ก./ล.)	
	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ
1	7.39	8.46
2	1.61	5.97
3	0.86	5.50
4	2.02	7.48
5	1.43	6.14
6	1.25	7.03
7	1.20	8.38
8	1.08	7.56
9	1.07	7.90

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 1 (กรกฎาคม 2554)



ภาพที่ 4.3 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ 1:10 การทดลองครั้งที่ 2

จากงานวิจัยที่ผ่านมาของพรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์ (2545) พบว่าการย่อยสลายเหง้ามันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูบริกซ์ ได้น้ำตาลรีดิวซ์ 8.3 กรัมต่อลิตร โดยใช้เอนไซม์เซลลูบริกซ์เท่ากับ 4.079 ยูนิตต่อกรัมเหง้ามันสำปะหลัง ซึ่งเอนไซม์เซลลูบริกซ์เป็นเอนไซม์ที่ผสมระหว่างเอนไซม์ 2 ชนิดคือ เซลลูเลส และเซลลโลไบเอส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน ใกล้เคียงกับการทดลองข้างต้นที่ใช้เพียงเอนไซม์เซลลูเลส และกุลชาดา สง่าสินธุ (2553) พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับกากตะกอนเยื่อกระดาษคือ 1:15 ให้น้ำตาลสูงสุดเท่ากับ 33.99 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 6 ของการทดลองจากการทดลองทั้งหมด 7 วัน โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งมีค่าสูงกว่าการทดลอง แต่ระยะเวลาที่เกิดน้ำตาลสูงสุดมากกว่า ทำให้ต้องใช้ระยะมากกว่าในการหมักแบบแยกปฏิกิริยาเพื่อทำการผลิตเอทานอล

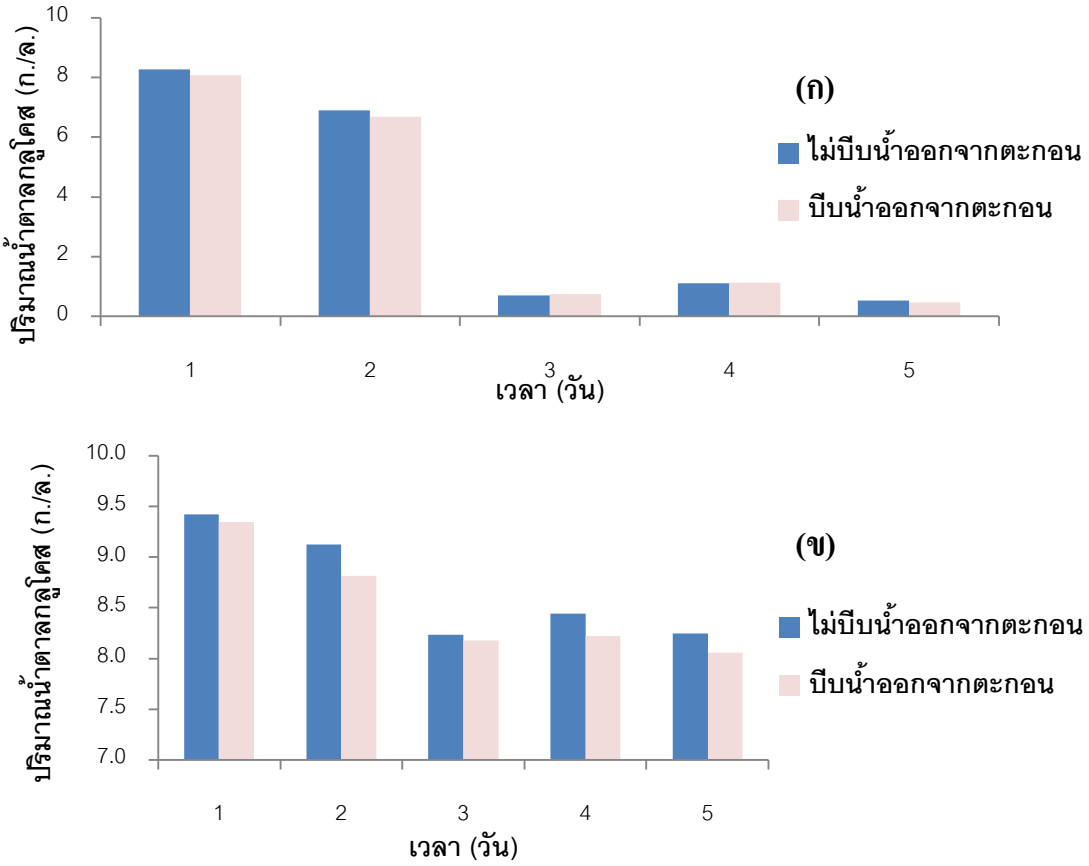
เมื่อนำอัตราส่วนที่เอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ 1:10 โดยนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งมาเติมน้ำทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อและเติมเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าสามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 8.27 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) สำหรับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษสามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 9.42 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และเมื่อนำตะกอนมาบีบน้ำเพื่อหาปริมาณน้ำตาล พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลสามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 8.07 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษสามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 9.35 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.7 เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสในวันที่สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุด จากการ ไม่บีบน้ำออกจากตะกอนและบีบน้ำออกจากตะกอน พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบไม่บีบน้ำออกจากตะกอนมีค่าสูงกว่าแบบบีบน้ำออกจากตะกอน เช่นเดียวกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แสดงในภาพที่ 4.4 อาจเนื่องมาจากเมื่อทำการบีบน้ำออกจากตะกอนทำให้เกิดการเจือจางปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตได้ทำให้เมื่อวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสจึงมีค่าลดลง

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งเท่ากับ 1:10 ไม่บีบน้ำออกจากตะกอน

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./ล.)	
	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล	ตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษและกระดาษ
1	8.27	9.42
2	6.89	9.12
3	0.71	8.24
4	1.12	8.44
5	0.54	8.25

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งเท่ากับ 1:10 เมื่อบีบน้ำออกจากตะกอน

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./ล.)	
	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล	ตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษและกระดาษ
1	8.07	9.35
2	6.69	8.82
3	0.75	8.18
4	1.13	8.22
5	0.48	8.06



ภาพที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่อัตราส่วน 1:10 จากการไม่บีบน้ำออกจากตะกอนและบีบน้ำออกจากตะกอน (ก) ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล และ (ข) ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตจากตะกอนน้ำเสียโรงงานทั้งสองแห่งแบบตะกอนแห้งและตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งแบบตะกอนแห้งสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสกลูโคสได้น้อยกว่าตะกอนที่ชุ่มด้วยน้ำ แสดงดังตารางที่ 4.8 โดยตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบตะกอนชุ่มด้วยน้ำสามารถผลิตน้ำตาลได้มากกว่าตะกอนแห้งเพียง 0.88 กรัมต่อลิตร และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แบบตะกอนชุ่มด้วยน้ำสามารถผลิตน้ำตาลได้มากกว่าตะกอนแห้งเพียง 0.89 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตจากตะกอนน้ำเสียโรงงานทั้งสองแห่ง แบบตะกอนแห้งและตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./ล.)			
	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล		ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	ตะกอนแห้ง	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ	ตะกอนแห้ง	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ
1	7.39	8.27	8.46	9.35
2	1.61	6.89	5.97	8.82
3	0.86	0.71	5.50	8.18
4	2.02	1.12	7.48	8.22
5	1.43	0.54	6.14	8.06
6	1.25	-	7.03	-
7	1.20	-	8.38	-
8	1.08	-	7.56	-
9	1.07	-	7.90	-

หมายเหตุ: - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

ขั้นตอนที่ 3 การผลิตเอทานอลแบบแบตช์ ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร และในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ที่สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุดคือ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษแห้ง) ของโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล และโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

4.4 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร)

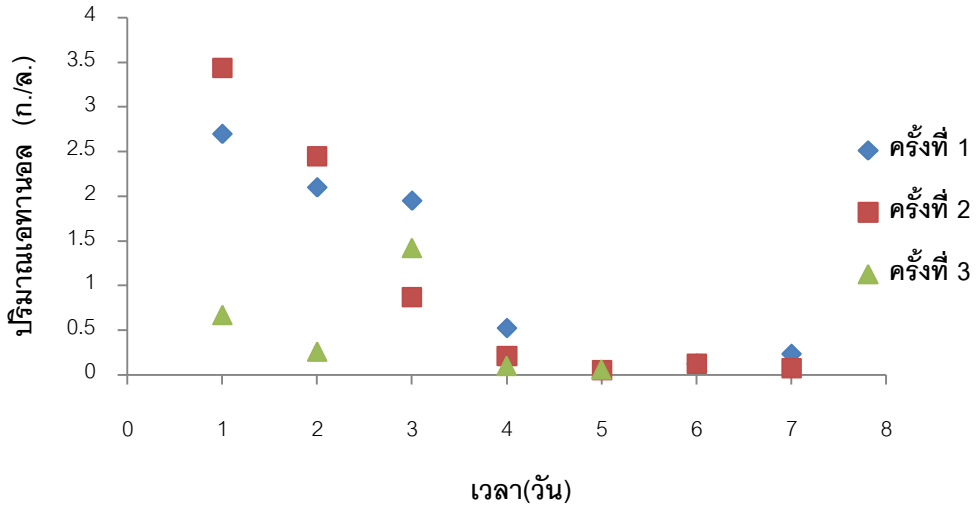
4.4.1 <u>แบบรวมปฏิกิริยา</u> คือการผลิตเอทานอลโดยย่อยเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลและหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอลพร้อมกันในขั้นตอน เดียว (Simultaneous saccharification and fermentation; SSF) โดยอัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) เติมเอนไซม์เซลลูเลส และสารละลายของเซลล์ยีสต์ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 2.70 กรัมต่อลิตรในวันที่1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) ในการทดลองครั้งที่1 สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 3.44 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง(หลัง

เกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) และในการทดลองครั้งที่3 พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 1.42 กรัมต่อลิตรในวันที่3 ของการทดลองซึ่งมีค่าต่ำที่สุดดังแสดงในตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.9 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)		
	แบบรวมปฏิกิริยา		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	2.70	3.44	0.67
2	2.10	2.45	0.26
3	1.95	0.87	1.42
4	0.52	0.21	0.10
5	*	0.05	0.06
6	0.12	0.12	-
7	0.23	0.07	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง และ * คือ ค่าผิดพลาด (5.25 ก./ล.)



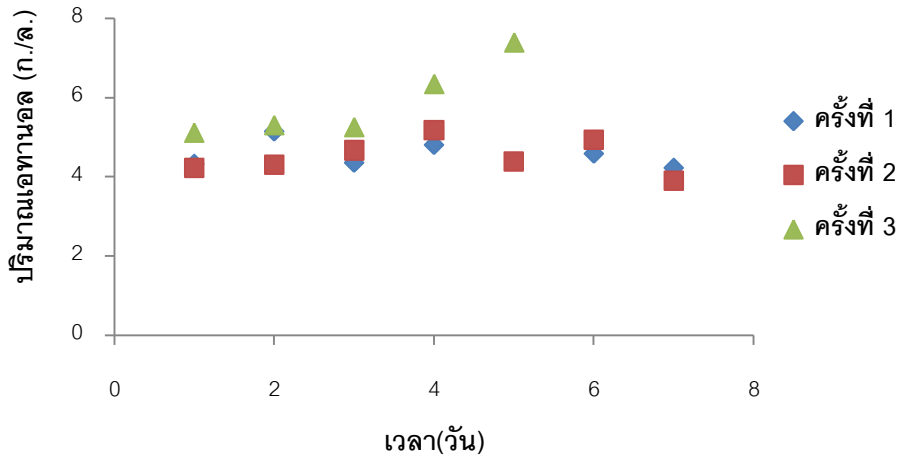
ภาพที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบรวมปฏิกิริยา

และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 5.14 กรัมต่อลิตรในวันที่ 2 ของการทดลองในการทดลองครั้งที่1 สำหรับการทดลองครั้งที่2 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 5.18 กรัมต่อลิตรในวันที่4 ของการทดลองและในการทดลองครั้งที่ 3 พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 7.39 กรัมต่อลิตรในวันที่ 5 ของการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.6

ตารางที่ 4.10 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)		
	แบบรวมปฏิกิริยา		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	4.32	4.22	5.11
2	5.14	4.31	5.30
3	4.35	4.67	5.25
4	4.80	5.18	6.34
5	*	4.38	7.39
6	4.58	4.93	-
7	4.22	3.90	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง และ * คือ ค่าผิดพลาด (0.82 ก./ล.)



ภาพที่ 4.6 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแบบรวมปฏิกิริยา

เมื่อนำอัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) ทำให้ชุ่มด้วยน้ำ เติมเอนไซม์เซลลูเลส และสารละลายของเซลล์ยีสต์ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 2.66 กรัมต่อลิตร ในวันที่1 ของการทดลอง(หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 6.21 กรัมต่อลิตรในวันที่2 ของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.11 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./ล.)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)
1	1.03	2.66
2	1.02	1.27
3	0.73	0.90
4	0.27	1.07
5	0.36	0.71

ตารางที่ 4.12 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษโดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(ก./ล.)	ปริมาณเอทานอล(ก./ล.)
1	3.52	3.36
2	1.40	6.21
3	2.21	3.78
4	1.68	4.51
5	1.54	4.34

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการ ผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบบรวมปฏิกิริยา จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าต่ำกว่าตะกอนน้ำเสียแห้ง เช่นเดียวกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ดังแสดง

ในตารางที่ 4.13 และ 4.14 เนื่องจากปริมาตรของเหลวที่เหลือจากการดูดซึมน้ำของตะกอนแบบแห้งมีปริมาตรน้อยกว่าทำให้ ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้มีความเข้มข้นสูงกว่าตะกอนที่ชุ่มด้วยน้ำ

ตารางที่ 4.13 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล

เวลา(วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)			
	แบบรวมปฏิกิริยา			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ
1	2.70	3.44	0.67	2.66
2	2.10	2.45	0.26	1.27
3	1.95	0.87	1.42	0.90
4	0.52	0.21	0.10	1.07
5	*	0.05	0.06	0.71
6	0.12	0.12	-	-
7	0.23	0.07	-	-

หมายเหตุ: - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง และ * คือ ค่าผิดพลาด (5.25 ก./ล.)

ตารางที่ 4.14 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา(วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)			
	แบบรวมปฏิกิริยา			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ
1	4.32	4.22	5.11	3.36
2	5.14	4.31	5.30	6.21
3	4.35	4.67	5.25	3.78
4	4.80	5.18	6.34	4.51
5	*	4.38	7.39	4.34
6	4.58	4.93	-	-
7	4.22	3.90	-	-

หมายเหตุ: - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง และ * คือ ค่าผิดพลาด (0.82 ก./ล.)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Lark และคณะ (1997) นำตะกอนกระดาษรีไซเคิลมาผลิตเอทานอล โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส และใช้ *Kluveromyces marxianus* ทำการหมักแบบรวมปฏิกิริยาเป็นเวลา 72 ชั่วโมง สามารถผลิตเอทานอลได้ 32 กรัมต่อลิตรใช้ตะกอนกระดาษรีไซเคิล 180 กรัมต่อลิตร และ 35 กรัมต่อลิตร ซึ่งตะกอนกระดาษ รีไซเคิล 190 กรัมต่อลิตร โดยส่วนของของเหลวจะเห็นได้ไม่ชัดเจนเมื่อมีส่วนที่เป็นของแข็งสูงและ Yamashita และคณะ (2008) ทำการทดลองผลิตเอทานอล จากตะกอนกระดาษแบบรวมปฏิกิริยาโดยใช้ *Zymomonas mobilis* NBRC 13756 ที่ตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมแอลจิเนส (Ca-alginate-immobilized) พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้เพียง 18 กรัมต่อลิตร หลังจากการทำหมัก 2 วันที่ความเข้มข้นของตะกอนกระดาษเริ่มต้นเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร ในขณะที่งานวิจัยของ Marques และคณะ (2008) ทำการทดลองผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิลโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเชื้อ *Pichia stipitis* พบว่าการหมักแบบรวมปฏิกิริยาสามารถผลิตเอทานอลได้ 18.6 กรัมต่อลิตร เช่นกันแต่ใช้เวลาในการหมักถึง 48 ชั่วโมง (2 วัน) การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากวัตถุดิบประเภทต่างๆ แบบรวมปฏิกิริยา แสดงดังตารางที่ 4.15 พบว่าตะกอนน้ำเสียจากโรงงานทั้งสองแห่ง สามารถผลิตเอทานอลได้ต่ำกว่างานวิจัยอื่น

ตารางที่ 4.15 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยา

ผู้วิจัย	วัตถุดิบ	การผลิตเอทานอล			ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)
		เอนไซม์	เชื้อ	รูปแบบปฏิกิริยา	
Lark และคณะ (1997)	ตะกอนกระดาษรีไซเคิล	เซลูเลส	*K. marxianus*	รวม	35
ปรียารัตน์ โยวะผุย (2550)	กากและเปลือกมันสำปะหลัง	แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส	*S. cerevisiae*	รวม	0.83
Yamashita และคณะ (2008)	ตะกอนกระดาษ	เซลูเลส	*Zymomonas mobilis*	รวม	18
Saha และ Cotta (2008)	ข้าวเปลือก	ผสมระหว่างเซลลูเลสเบต้ากลูโคซิเดสและเฮมิเซลลูเลส	*E. coli*	รวม	11
Marques และคณะ (2008)	ตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิล	เซลลูเลส	*P. stipitis*	รวม	18.6
งานวิจัยนี้	-ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไรเคิล	เซลลูเลส	*S. cerevisiae* TISTR 5339	รวม	2.70* 3.44 ** 1.42 *** 2.66 ****
	-ตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษและกระดาษ				5.14 * 5.18 ** 7.39 *** 6.21****

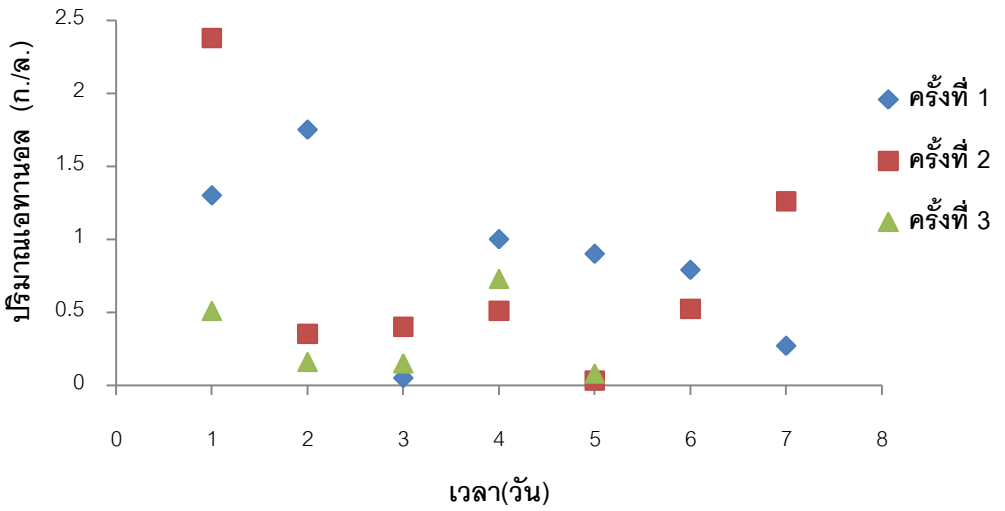
หมายเหตุ: * การทดลองครั้งที่ 1, **การทดลองครั้งที่ 2, *** การทดลองครั้งที่ 3, ****ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

4.4.2 <u>แบบแยกปฏิกิริยา</u> คือการผลิตเอทานอลที่แยกขั้นตอนของการย่อยเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลก่อน ทำการหมักน้ำตาลเป็นเอทานอล (Separate hydrolysis and fermentation; SHF) โดยอัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง เท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) เติมเอนไซม์เซลลูเลสทำการย่อยเพื่อให้ได้น้ำตาลสูงสุดจากผลการทดลองที่ 4.3 คือวันที่ 1 ของการทดลอง (หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง)ทั้งสองตัวอย่าง โดยเริ่มหลังทำการเติมเซลล์ยีสต์ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษ รีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 1.75 กรัมต่อลิตรในวันที่ 2 ของการทดลองในการทดลองครั้งที่1 สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 2.38 กรัมต่อลิตรวันที่ 1 ของการทดลอง (หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) และในการทดลองครั้งที่3 พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 0.73 กรัมต่อลิตรในวันที่4 ของการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.16 และภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.16 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)		
	แบบแยกปฏิกิริยา		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	1.30	2.38	0.51
2	1.75	0.35	0.16
3	*	0.40	0.15
4	1.00	0.51	0.73
5	0.90	0.03	0.08
6	0.79	0.52	-
7	0.27	1.26	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง และ * คือ ค่าผิดพลาด (0.05 ก./ล.)



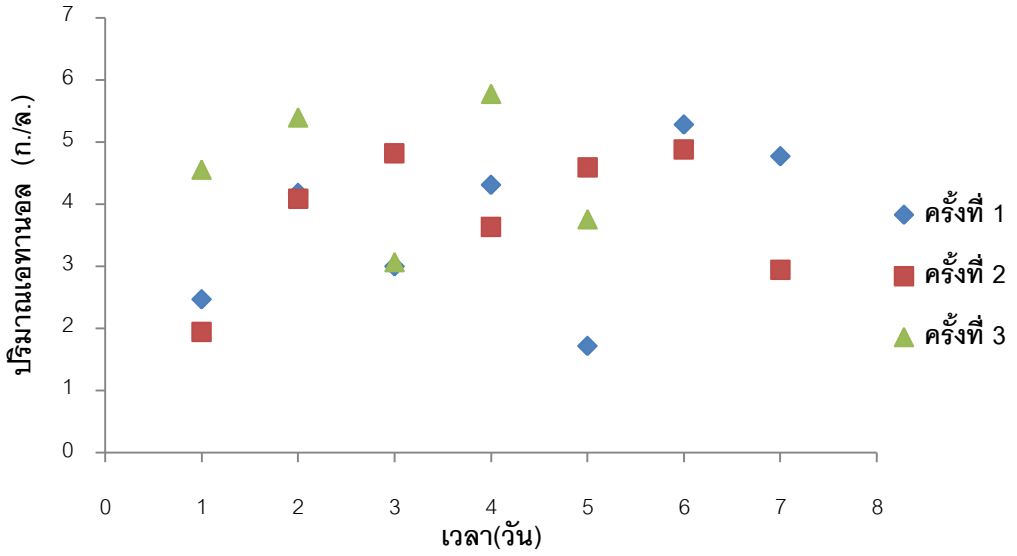
ภาพที่ 4.7 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล แบบแยกปฏิกิริยา

และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 5.28 กรัมต่อลิตรในวันที่ 6 ของการทดลองในการทดลองครั้งที่1 สำหรับการทดลองครั้งที่2 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 4.88 กรัมต่อลิตรในวันที่6 ของการทดลองและในการทดลองครั้งที่ 3 พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 5.78 กรัมต่อลิตรในวันที่ 4 ของการทดลองเช่นเดียวกันดังแสดงในตารางที่ 4.17 และภาพที่ 4.8

ตารางที่ 4.17 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)		
	แบบแยกปฏิกิริยา		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	2.47	1.95	4.56
2	4.18	4.09	5.40
3	3.00	4.82	3.07
4	4.31	3.64	5.78
5	1.72	4.59	3.76
6	5.28	4.88	-
7	4.77	2.95	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง



ภาพที่ 4.8 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแบบแยกปฏิกิริยา

เมื่อนำอัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) ทำให้ชุ่มด้วยน้ำ เติมเอนไซม์เซลลูเลส หลังจากนั้นเติมสารละลายของเซลล์ยีสต์ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 1.76 กรัมต่อลิตรในวันที่ 2 ของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.18 และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 6.00 กรัมต่อลิตรในวันที่2 ของการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.18 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(ก./ล.) เริ่มต้น 7.4 ก./ล.	ปริมาณเอทานอล(ก./ล.)
1	0.54	1.75
2	0.43	1.76
3	0.40	1.26
4	0.29	0.77
5	0.29	1.02

ตารางที่ 4.19 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษโดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(ก./ล.) เริ่มต้น 8.53 ก./ล.	ปริมาณเอทานอล(ก./ล.)
1	3.21	3.59
2	2.05	6.00
3	1.97	4.56
4	1.71	5.65
5	1.73	4.40

เมื่อเปรียบเทียบการ ผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบบแยกปฏิกิริยา จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าต่ำกว่าตะกอนน้ำเสียแห้ง เนื่องจากปริมาตรของเหลวที่เหลือจากการดูดซึมน้ำของตะกอนแบบแห้งมีปริมาตรน้อยกว่าทำให้ ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้มีความเข้มข้นสูงกว่าตะกอนที่ชุ่มด้วยน้ำ และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าสูงกว่าเพียง 0.22 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.20 และ 4.21

ตารางที่ 4.20 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล

เวลา(วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.) แบบแยกปฏิกิริยา			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ
1	1.30	2.38	0.51	1.75
2	1.75	0.35	0.16	1.76
3	*	0.40	0.15	1.26
4	1.00	0.51	0.73	0.77
5	0.90	0.03	0.08	1.02
6	0.79	0.52	-	-
7	0.27	1.26	-	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

และ * คือ ค่าผิดพลาด (0.05 ก./ล.)

ตารางที่ 4.21 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา(วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)			
	แบบแยกปฏิกิริยา			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ
1	2.47	1.95	4.56	3.59
2	4.18	4.09	5.40	6.00
3	3.00	4.82	3.07	4.56
4	4.31	3.64	5.78	5.65
5	1.72	4.59	3.76	4.40
6	5.28	4.88	-	-
7	4.77	2.95	-	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

จากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Marques และคณะ (2008) ทำการทดลองผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิลโดยเอนไซม์เซลลูเลสและเชื้อ *Pichia stipitis* พบการหมักแบบแยกปฏิกิริยาสามารถผลิตเอทานอลได้ 19.6 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลา 179 ชั่วโมง(ประมาณ 7 วัน) ผลได้ผลิตภัณฑ์ (Ethanol yield) เท่ากับ 0.25 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และงานวิจัยของ Peng และ Chen (2011) พบว่าการผลิตเอทานอลจากตะกอนกระดาษแบบแยกปฏิกิริยาผลิตเอทานอลได้ 9.5 กรัมต่อลิตร ผลได้ผลิตภัณฑ์ (Ethanol yield) เท่ากับ 0.34 กรัมต่อกรัมน้ำตาล จากผลได้ผลิตภัณฑ์เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการทดลองของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง ให้ค่าผลได้ผลิตภัณฑ์สูงกว่างานวิจัยของ Marques และคณะ และ Peng และ Chen (2011) โดยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตเอทานอลได้สูงกว่า *Pichia stipitis* สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gupta และคณะ (2009) พบว่าเมื่อทำการผลิตเอทานอลจากไม้จากต้น *Prosopis juliflora* แบบแยกปฏิกิริยา หลังจากทำการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่าการหมักด้วย *Pichia stipitis* แสดงในตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.22 ปริมาณเอทานอลของการหมักแบบแยกปฏิกิริยา

ผู้วิจัย	วัตถุดิบ	ปฏิกิริยา	เอนไซม์	เชื้อที่ใช้	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)
Marques และคณะ (2008)	ตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิล	แบบแยกปฏิกิริยา	เซลลูเลส	*Pichia stipitis*	19.6
Gupta และคณะ (2009)	ไม้จากต้น Prosopis juliflora	แบบแยกปฏิกิริยา	ผสมระหว่างเซลลูเลสและเบต้ากลูโค-ซิเดส	*S. cerevisiae* *Pichia stipitis*	18.52 7.13
Peng และChen (2011)	ตะกอนกระดาษ	แบบแยกปฏิกิริยา	เซลลูเลส	*S. cerevisiae* GIM-2	9.5
งานวิจัยนี้	-ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล	แบบแยกปฏิกิริยา	เซลลูเลส	*S. cerevisiae* TISTR 5339	1.75 * 2.38 ** 0.73 *** 1.76 ****
	-ตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษและกระดาษ				5.28 * 4.88 ** 5.78 *** 6.00 ****

หมายเหตุ: * การทดลองครั้งที่ 1, **การทดลองครั้งที่ 2, *** การทดลองครั้งที่ 3, ****ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

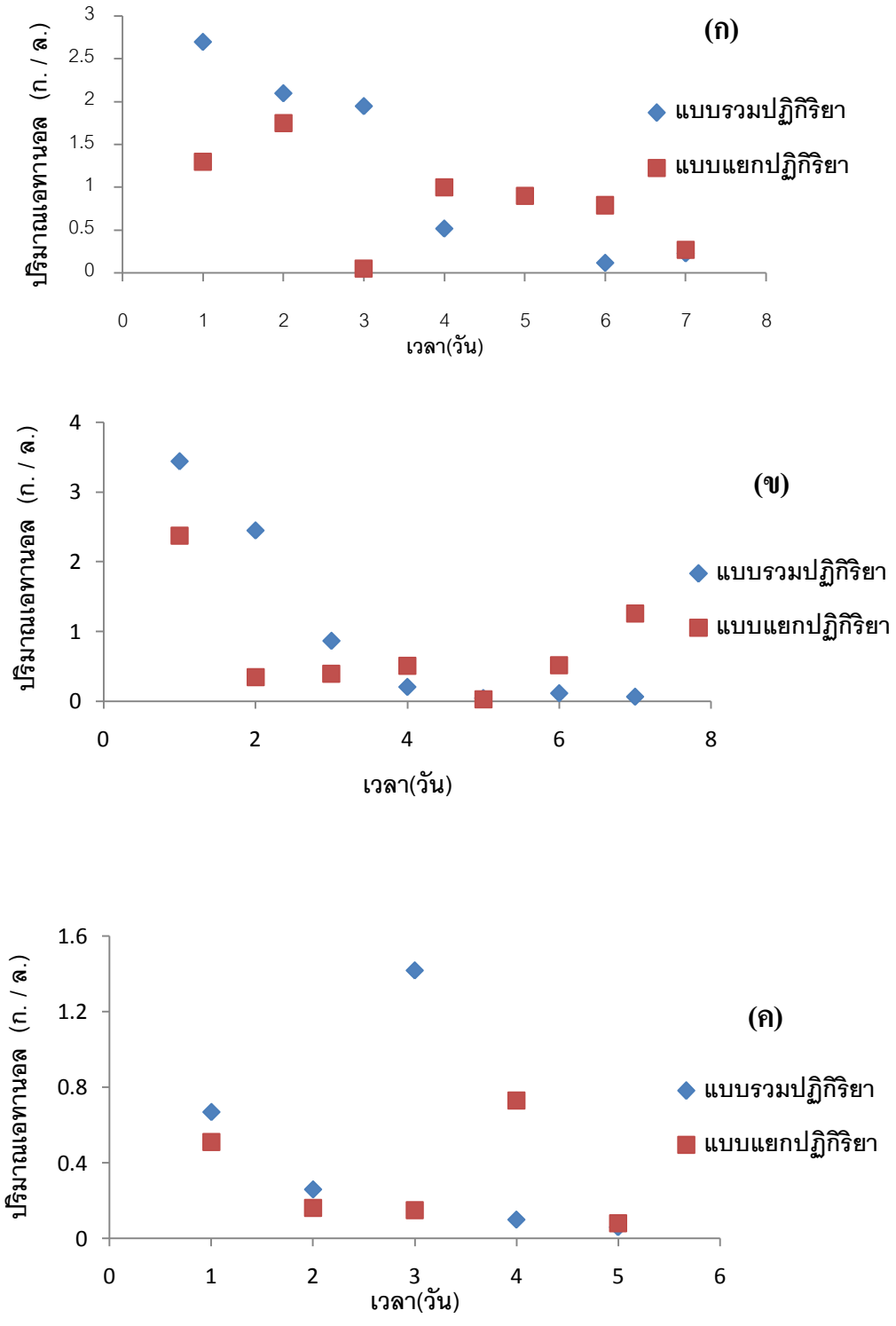
จากปริมาณเอทานอลของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ที่ลดลงจากการหมักแบบรวมและแยกปฏิกิริยา อาจเกิดจากการเขย่าในระบบเปิดและไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ เมื่อทำการเขย่าในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อปริมาณเอทานอล โดยมีโอกาสระเหยออกจากระบบ ทำให้ปริมาณลดลง

เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากการหมักแบบแบตช์ (ขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร) แบบรวมและแบบแยกปฏิกิริยาของตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษทั้งสองแห่ง พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดในรูปแบบการผลิตแบบรวมปฏิกิริยา ทั้งสามครั้งของการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.23 และภาพที่ 4.9

ตารางที่ 4.23 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก. / ล.)					
	แบบรวมปฏิกิริยา			แบบแยกปฏิกิริยา		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	2.70	3.44	0.67	1.30	2.38	0.51
2	2.10	2.45	0.26	1.75	0.35	0.16
3	1.95	0.87	1.42	*	0.40	0.15
4	0.52	0.21	0.10	1.00	0.51	0.73
5	*	0.05	0.06	0.90	0.03	0.08
6	0.12	0.12	-	0.79	0.52	-
7	0.23	0.07	-	0.27	1.26	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง และ * คือ ค่าผิดพลาด



ภาพที่ 4.9 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล (ก) การทดลองครั้งที่ 1 (ข) การทดลองครั้งที่ 2 (ค) การทดลองครั้งที่ 3

และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดในรูปแบบการผลิตแบบแยกปฏิกิริยาในการทดลองครั้งที่ 1 โดยผลิตเอทานอลสูงสุดในวันที่ 6 ของการทดลอง สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดในรูปแบบการผลิตแบบรวมปฏิกิริยาในวันที่ 4 และ 5 ของการทดลอง ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 4.24 และภาพที่ 4.10

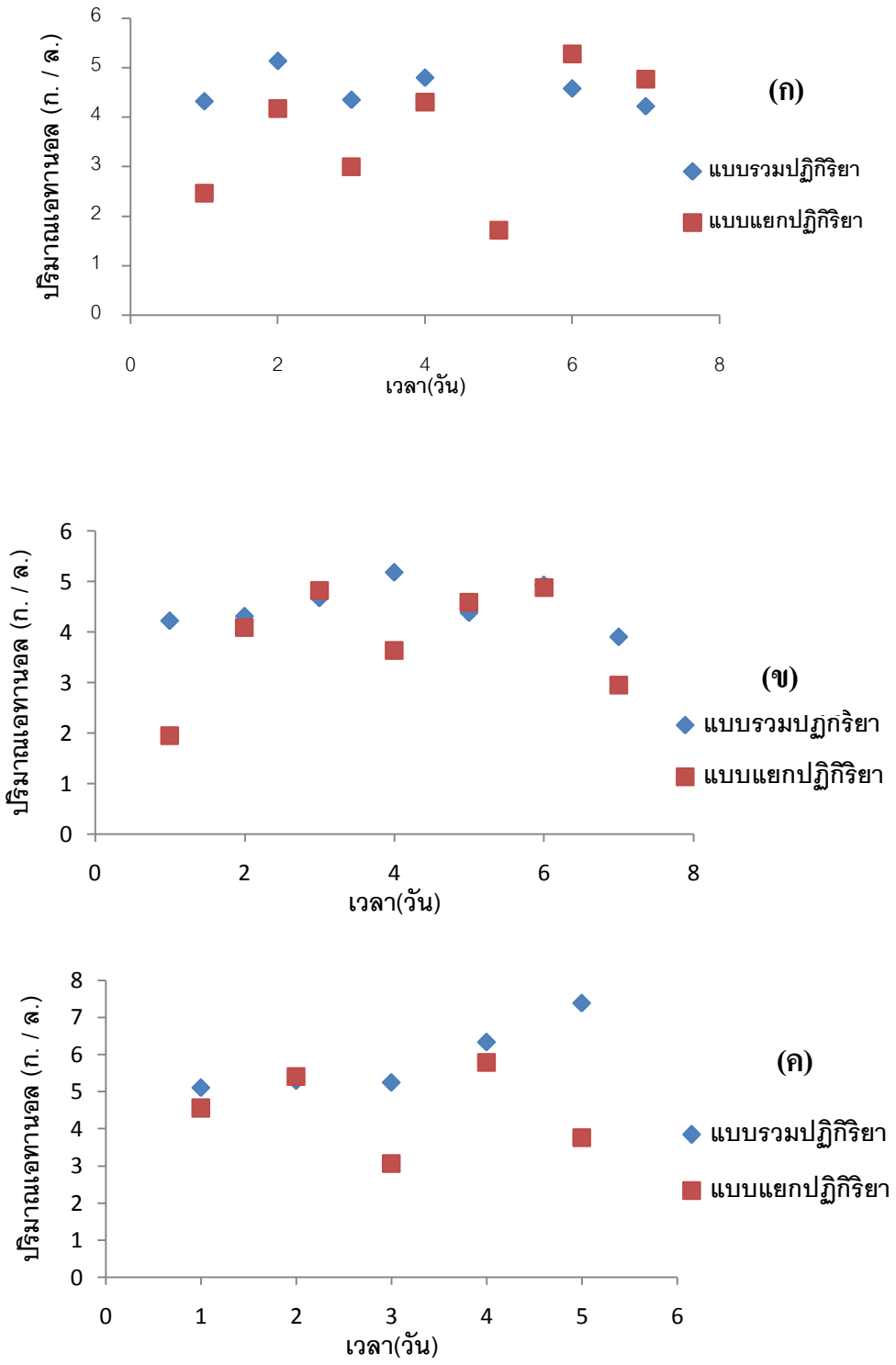
ตารางที่ 4.24 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก. / ล.)					
	แบบรวมปฏิกิริยา			แบบแยกปฏิกิริยา		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	4.32	4.22	5.11	2.47	1.95	4.56
2	5.14	4.31	5.30	4.18	4.09	5.40
3	4.35	4.67	5.25	3.00	4.82	3.07
4	4.80	5.18	6.34	4.31	3.64	5.78
5	*	4.38	7.39	1.72	4.59	3.76
6	4.58	4.93	-	5.28	4.88	-
7	4.22	3.90	-	4.77	2.95	-

หมายเหตุ: ทำการทดลองด้วยเอนไซม์ ชุดที่ 2, - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง และ * คือ ค่าผิดพลาด

โดยการผลิตเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยาเป็นการผลิตน้ำตาลให้ได้ปริมาณสูงสุดก่อนเติมเซลล์ยีสต์เพื่อทำการผลิตเอทานอล ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะเกิดขึ้นเมื่อมีการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องกันหลายขั้นตอนเช่น สารตั้งต้นถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดที่หนึ่ง(A) โดยเอนไซม์ชนิดที่หนึ่ง(a) และผลิตภัณฑ์ชนิดที่หนึ่ง(B) ถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดที่สอง(C) โดยเอนไซม์ชนิดที่สอง(b) เมื่อความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ชนิดที่สอง(C) เพิ่มมากขึ้นอาจไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดที่หนึ่ง(a) หรือเอนไซม์ชนิดที่สอง(b) หากไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดที่หนึ่ง(a) ก็จะเป็นผลให้เกิดผลิตภัณฑ์ชนิดที่หนึ่ง(B)น้อยลงหรือไม่เกิดขึ้น เอนไซม์ชนิดที่สอง(b) จึงไม่สามารถเปลี่ยนผลิตภัณฑ์ชนิดที่หนึ่ง(B) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดที่สอง (C)ได้ ส่งผลให้มีสารตั้งต้นสำหรับผลิตเอทานอลน้อยกว่าแบบรวมปฏิกิริยาที่ไม่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

และจากงานวิจัยของ Marques และคณะ (2008) ทำการทดลองผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิลโดยเอนไซม์เซลลูเลสและเชื้อ *Pichia stipitis* แบบรวมและแยกปฏิกิริยาพบว่าแบบแยกปฏิกิริยาให้ปริมาณเอทานอลที่สูงกว่า แต่ใช้เวลาในการหมักที่ยาวนานมากกว่าแบบรวมปฏิกิริยาถึง131 ชั่วโมง (ประมาณ5 วัน) โดยให้ปริมาณเอทานอลมากกว่าเพียง 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งการหมักแบบรวมปฏิกิริยาได้รับการยอมรับเพราะมักจะให้ผลได้ผลิตภัณฑ์โดยรวมที่สูงและใช้เวลาในการหมักน้อยกว่า และสามารถลดขั้นตอนการหมักให้อยู่ภายในถังหมักเดียวได้ จากผลการทดลองข้างต้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกการผลิตเอทานอลจากการหมักแบบแบตช์แบบรวมปฏิกิริยาในการขยายขนาดโดยทำการทดลองในถังหมักขนาด 5 ลิตร



ภาพที่ 4.10 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ (ก) การทดลองครั้งที่ 1 (ข) การทดลองครั้งที่ 2 (ค) การทดลองครั้งที่ 3

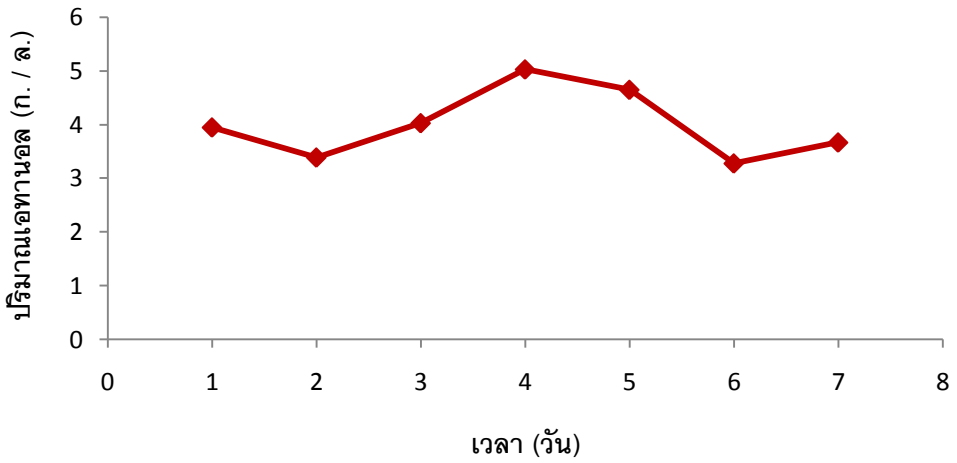
4.5 การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ทำการทดลองในถังหมักขนาด 5 ลิตร)

อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ และรูปแบบการผลิตเอทานอลที่เหมาะสม คืออัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) และการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง มาใช้ในการผลิตเอทานอลในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งเป็นถังหมักแบบกวน ประกอบด้วยตัวถัง ซึ่งเป็นถังทรงกระบอกทำด้วยแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 17 เซนติเมตร สูง 28 เซนติเมตร มีอุปกรณ์การกวนและไม่มีการเติมอากาศ ใช้ปริมาตรการทำงานประมาณ 3.5 ลิตร

พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 5.03 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเท่ากับ 5.87 ในวันที่ 4 ของการทดลอง แสดงในตารางที่ 4.25 และภาพที่ 4.11 เมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสารตั้งต้น (สับสเตรท) ที่ใช้ไป (ภาคผนวก ง.) จะได้เท่ากับ 0.97 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส แสดงดังตารางที่ 4.26 อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด (ภาคผนวก ง.) เท่ากับ 0.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ตารางที่ 4.25 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.) น้ำตาลเริ่มต้น 5.7 ก. /ล.	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พีเอช (ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.87)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
1	1.62	3.95	6.01	25
2	0.76	3.39	5.86	27
3	0.81	4.03	5.75	27
4	0.51	5.03	5.87	27.5
5	0.67	4.65	5.89	28
6	0.69	3.28	5.89	28
7	0.73	3.67	5.92	29



ภาพที่ 4.11 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้แบบรวมปฏิกิริยาจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

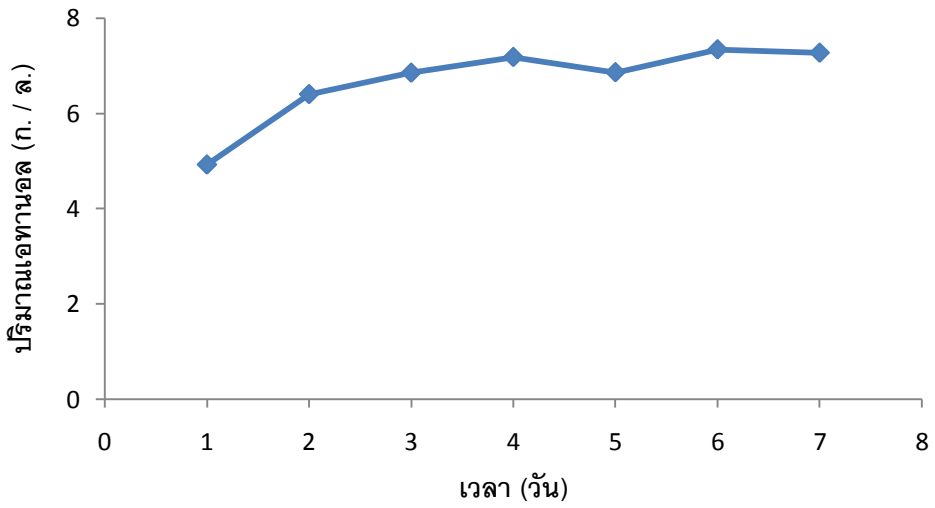
ตารางที่ 4.26 ผลได้ผลิตภัณฑ์ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.) น้ำตาลเริ่มต้น 5.7 ก./ล.	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก.เอทานอล/ก.กลูโคส)
1	1.62	3.95	0.97
2	0.76	3.39	0.69
3	0.81	4.03	0.82
4	0.81	5.03	0.97
5	0.67	4.65	0.92
6	0.69	3.28	0.65
7	0.73	3.67	0.74

สำหรับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 7.34 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเท่ากับ 4.78 ในวันที่ 6 ของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4. 27 และภาพที่ 4.12 เมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสารตั้งต้น (สับสเตรท) ที่ใช้ไปจะได้เท่ากับ 0.99 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส ดังแสดงในตารางที่ 4. 28 อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด (ภาคผนวก ง.) เท่ากับ 0.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ตารางที่ 4.27 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.) น้ำตาลเริ่มต้น 8.51 ก. /ล.	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พีเอช (ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.22)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
1	2.57	4.92	5.47	25
2	1.11	6.40	5.15	26
3	1.01	6.85	4.88	28
4	1.22	7.18	4.82	28
5	1.15	6.86	4.74	28
6	1.11	7.34	4.78	25
7	1.07	7.27	4.8	24



ภาพที่ 4.12 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้แบบรวมปฏิกิริยาจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 4.28 ผลได้ผลิตภัณฑ์ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.) น้ำตาลเริ่มต้น 8.51 ก./ล.	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก.เอทานอล/ก.กลูโคส)
1	2.57	4.92	0.83
2	1.11	6.40	0.87
3	1.01	6.85	0.91
4	1.22	7.18	0.98
5	1.15	6.86	0.93
6	1.11	7.34	0.99
7	1.07	7.27	0.98

ซึ่งผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง แสดงในตารางที่ 4.29 โดยแนวโน้มการผลิตเอทานอลของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลเพิ่มขึ้นในวันที่ 1 ถึง 4 ของการทดลอง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง

ตารางที่ 4.29 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (วัน)	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก.เอทานอล/ก.น้ำตาล)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก.เอทานอล/ก.น้ำตาล)
1	3.95	0.97	4.92	0.83
2	3.39	0.69	6.40	0.87
3	4.03	0.82	6.85	0.91
4	5.03	0.97	7.18	0.98
5	4.65	0.92	6.86	0.93
6	3.28	0.65	7.34	0.99
7	3.67	0.74	7.27	0.98

ค่าพีเอชมีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลองสำหรับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง แต่ค่าพีเอชปริมาณสูงกว่าการทดลองของกุลชาดา สง่าสินธุ (2553) ที่ทำการผลิตเอทานอลจากกากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ โดยเอนไซม์เซลลูเลสและยีสต์ เวลาทำการเวลาทดลองทั้งหมด 13 วัน ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 9.15 กรัมต่อลิตร พีเอช 3.9 ในวันที่ 9 ของการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งสามารถผลิตได้ต่ำกว่า โดยค่าพีเอชมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ซึ่งจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่เป็นกรดพอสมควร คือในระดับ 3.8 ถึง 5.5 ถ้าพีเอชต่ำกว่า 3.5 การเจริญจะลดลง ถ้าพีเอชต่ำถึง 3 หรือต่ำกว่านั้นก็จะไม่เจริญ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529) จากผลการทดลองพบว่าค่าพีเอช 5.7 ถึง 4.8 ตลอดการทดลองมีแนวโน้มลดลง ค่าพีเอชเริ่มต้นที่สูงกว่า 5.5 อาจมีผลทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์เกิดขึ้นได้ไม่ดีนัก

อุณหภูมิในการผลิตเอทานอลก็เป็นอีกปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของยีสต์โดยยีสต์ที่ใช้กันอยู่ทั่วไปจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ในช่วง 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส และจะทนได้ไปถึง 37 องศาเซลเซียสส่วนใหญ่แล้วจะชะงักการเจริญเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส ต้องควบคุมอุณหภูมิให้ไม่เกิน35 องศาเซลเซียสในการหมักตั้งแต่1 ถึง 10 ชั่วโมง ถ้าอุณหภูมิในช่วงหลังจาก 10 ชั่วโมง สูงกว่า 37 องศาเซลเซียสแล้วอาจเกิดปัญหาแบคทีเรียเจริญขึ้นมามากเกินไป เป็นผลให้ยีสต์ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ โดยอุณหภูมิในระหว่างการหมักเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากกิจกรรมของยีสต์ที่เกิดการคายพลังงานความร้อนออกมาให้กับน้ำหมัก (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529) ซึ่งอุณหภูมิในการผลิตเอทานอลของตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษและกระดาษอยู่ในช่วง 25 ถึง 28 องศาเซลเซียส และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลอยู่ในช่วง 25 ถึง 29 องศาเซลเซียส ซึ่งการผลิตเอทานอลของ ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่งมีอุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส ทำให้ยีสต์สามรถเจริญได้ แต่การเจริญอาจไม่ดีนักเพราะอุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิภายนอกในช่วงที่ทำการผลิตเอทานอลมีอุณหภูมิต่ำเพราะเป็นช่วงที่เข้าสู่ฤดูหนาวมีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 26.8 องศาเซลเซียส (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2555: ออนไลน์) ค่าพีเอช และอุณหภูมิ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษทั้งสองแห่ง แสดงดังตารางที่ 4.30 และ ตารางที่ 4.31

ตารางที่ 4.30 ค่าพีเอช และอุณหภูมิ ในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พีเอช (เริ่มต้น 6.87)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
			ภายนอกถังหมัก	ภายในถังหมัก
1	3.95	6.01	25	25
2	3.39	5.86	26	27
3	4.03	5.75	27	27
4	5.03	5.87	28	27.5
5	4.65	5.89	28	28
6	3.28	5.89	28	28
7	3.67	5.92	29	29

ตารางที่ 4.31 ค่าพีเอช และอุณหภูมิ ในถังหมักขนาด 5 ลิตรของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พีเอช (เริ่มต้น 6.22)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
			ภายนอกถังหมัก	ภายในถังหมัก
1	4.92	5.47	27	25
2	6.40	5.15	26	27
3	6.85	4.88	28	27
4	7.18	4.82	29	27.5
5	6.86	4.74	28	28
6	7.34	4.78	25	28
7	7.27	4.80	24	29

การผลิตเอทานอลจากอัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) ทำให้ชุ่มด้วยน้ำ เติมเอนไซม์เซลลูเลส และสารละลายของเซลล์ยีสต์ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษ รีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 5.75 กรัมต่อลิตร ที่ พีเอชเท่ากับ 6.22 ในวันที่ 1 ของการทดลอง (หลังเกิดปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง) แสดงในตารางที่4.32 และเมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสารตั้งต้น (สับสเตรท) ที่ใช้ไป จะได้เท่ากับ 0.84 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส แสดงในตารางที่ 4.34

อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด (ภาคผนวก ง.) เท่ากับ 0.24 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สำหรับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 6.95 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเท่ากับ4.58 ในวันที่ 2 ของการทดลอง แสดงในตารางที่ 4.33 และเมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสารตั้งต้น (สับสเตรท) ที่ใช้ไป จะได้เท่ากับ 0.98 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส แสดงในตารางที่4.34 อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด (ภาคผนวก ง.) เท่ากับ 0.14 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ตารางที่ 4.32 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.) น้ำตาลเริ่มต้น 7.20 ก. /ล.	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พีเอช (เริ่มต้น6.87)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
1	0.36	5.75	6.22	31
2	0.51	4.18	6.12	32
3	0.57	3.25	6.08	32
4	0.53	2.51	5.9	32
5	0.46	3.20	5.8	32

ตารางที่ 4.33 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.) น้ำตาลเริ่มต้น 7.72 ก. /ล.	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พีเอช (เริ่มต้น6.22)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
1	1.81	5.65	4.9	31
2	0.66	6.95	4.58	32
3	0.70	6.61	4.22	31
4	0.93	6.59	4.26	32
5	0.90	6.54	4.22	32

ตารางที่ 4.34 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก.เอทานอล/ ก.น้ำตาล)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก.เอทานอล/ ก.น้ำตาล)
1	5.75	0.84	5.65	0.96
2	4.18	0.62	6.95	0.98
3	3.25	0.49	6.61	0.94
4	2.51	0.38	6.59	0.97
5	3.20	0.47	6.54	0.96

เมื่อเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าสูงกว่าตะกอนน้ำเสียแห้งเพียง 0.72 กรัมต่อลิตร และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าต่ำกว่าตะกอนน้ำเสียแห้งเพียง 0.39 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.35 และ 4.36

ตารางที่ 4.35 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล(ก./ล.)	
	ตะกอนแห้ง	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ
1	3.95	5.75
2	3.39	4.18
3	4.03	3.25
4	5.03	2.51
5	4.65	3.20
6	3.28	-
7	3.67	-

หมายเหตุ: - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

ตารางที่ 4.36 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณเอทานอล(ก./ล.)	
	ตะกอนแห้ง	ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ
1	4.92	5.65
2	6.40	6.95
3	6.85	6.61
4	7.18	6.59
5	6.86	6.54
6	7.34	-
7	7.27	-

หมายเหตุ: - คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

เมื่อนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ที่ใช้วัตถุดิบในการผลิตเอทานอลที่ต่างกัน พบว่าปริมาณเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากโรงงานทั้งสองแห่ง มีค่าต่ำเนื่องชนิดของเอนไซม์และเชื้อยีสต์ที่ใช้แตกต่างกัน โดยตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล ผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 12.67 ของเซลลูโลส และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 10.03 ของเซลลูโลส เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดลองของกุลชาดา สง่าสินธุ พบว่ามีค่าสูงกว่า แสดงดังตารางที่ 4.37

ในการพิจารณาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆพิจารณาจากค่าปริมาณเซลลูโลสที่อยู่ในองค์ประกอบของวัตถุดิบ เนื่องจากเมื่อเซลลูโลสในวัตถุดิบถูกย่อยสลายจะได้น้ำตาล และพิจารณาความสามารถของเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบ ให้ได้น้ำตาลเพื่อนำไปใช้ในหารผลิตเอทานอลในขั้นต่อไป นอกจากนั้นควรพิจารณาจากปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากวัตถุดิบ เพื่อใช้ในการเลือกวัตถุดิบที่เหมาะสม

จากการทดลองขยายขนาดในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากโรงงานทั้งสองแห่งได้ สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล ได้ โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 0.242 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 การผลิตแบบรวมปฏิกิริยา ที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง)

ตารางที่ 4.37 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้โดยวัตถุดิบที่แตกต่างกัน เปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ

ผู้วิจัย	วัตถุดิบ	เซลลูโลส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	เซลลูโลส (ก./ล.)	น้ำตาล (ก./ล.)	เอทานอล (ก./ล.)	เอทานอล ** (ร้อยละของน้ำตาล)	เอทานอล ** (ร้อยละของเซลลูโลส)
Larkและคณะ(1997)	ตะกอนกระดาษรีไซเคิล	50	95	-	35 (รวม)	-	36.84
Saha และ Cotta (2008)	ข้าวเปลือก	35.6	49.3	-	11 (รวม)	-	22.4
				19.8	9.8 (แยก)	49.5	20.00
Marques และคณะ (2008)	ตะกอนน้ำเสียจากกระดาษรีไซเคิล	34.1	60.9	-	18.6 (รวม)	-	30.54
				56.2	19.6 (แยก)	34.87	32.18
Yamashita และคณะ(2008)	ตะกอนกระดาษ	33.4	66.8	-	18 (รวม)	-	26.95
Gupta และคณะ (2009)	ไม้จากต้น *Prosopis juliflora*	47.5	47.5	37.47	18.52 (แยก)	49.43	39.00
				18.24	7.13 (แยก)	39.10	15.01
Peng และ Chen (2011)	ตะกอนกระดาษ	60.8	24.81	27.8	9.5 (แยก)	34.17	38.29
กุลชาดา สง่าสินธุ (2553)	กากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ	73.2	109.8	-	9.15(รวม)	-	8.33
งานวิจัยนี้	ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล	39.7	39.7	-	5.03(รวม) 5.75*(รวม)	-	12.67 14.48
	คือ ตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษและกระดาษ	73.2	73.2	-	7.34(รวม) 6.95*(รวม)	-	10.03 9.50

หมายเหตุ: * คือ ทำการผลิตเอทานอลโดยการทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ, – คือ ไม่มีข้อมูล และ ** คือ ข้อมูลจากการคำนวณ

บทที่ 5

สรุปผลและข้อแสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการทดลอง เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทเซลลูโลส โดยมีขั้นตอนการวิจัยแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน โดยขั้นตอนที่ 1 เก็บตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของวัตถุดิบ และการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ขั้นตอนที่ 2 หาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์กับวัตถุดิบ และการผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อกระบวนการหมัก เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยในขั้นต่อไป ขั้นตอนที่ 3 ผลิตเอทานอลแบบแบตช์ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร และในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

5.1 สรุปผลการทดลอง

1. เมื่อนำตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษของโรงงานทั้งสองแห่งมาทำให้แห้งเพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ ได้แก่ ปริมาณเซลลูโลส ลิกนิน และ เถ้า พบว่าตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล โดยปริมาณโฮโลเซลลูโลส ประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 39.7 ไม่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลส ปริมาณลิกนินร้อยละ 8 และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 50.9 และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 73.2 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 0.1 ปริมาณลิกนินร้อยละ 6 และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 26.3 โดยน้ำหนักแห้ง

2. การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งผลิตจาก เชื้อรา *Trichoderma reesei* โดยคำนวณยูนิตของเอนไซม์เซลลูโลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ซึ่ง 1 หน่วยของเอนไซม์ (FPU) คือปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายกระดาษกรอง แล้วได้น้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่สภาวะที่ทดสอบเท่ากับ 0.242 ยูนิต (FPU)ต่อมิลลิลิตรของเอนไซม์ ชุดที่ 1 และ 0.238 ยูนิต(FPU)ต่อมิลลิลิตร ของเอนไซม์ ชุดที่ 2

3. จากการนำตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แห้งจากโรงงานทั้งสองแห่งมาศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลส ต่อตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาลในขวด ทดลอง ขนาด 250 มิลลิลิตร พบว่าตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล ผลิตน้ำตาลสูงสุดที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ

1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แห้ง) โดยผลิตน้ำตาลเท่ากับ 9.45 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง และตัวอย่างตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ ผลิตน้ำตาลสูงสุดที่อัตราส่วนของเอนไซม์เซลลูเลสต่อ ตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิต เยื่อกระดาษและกระดาษแห้งเท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อ กรัมตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง) โดยผลิตน้ำตาลเท่ากับ 8.73 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง

4. เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากการหมักแบบแบตช์ขวดทดลองขนาด250 มิลลิลิตร) แบบรวมและแบบแยกปฏิกิริยาของตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษทั้งสองแห่ง พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดในรูปแบบการผลิตแบบรวมปฏิกิริยา ทั้งสามครั้งของการทดลอง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดในรูปแบบการผลิตแบบแยกปฏิกิริยาในการทดลองครั้งที่ 1 โดยผลิตเอทานอลสูงสุดในวันที่ 6 ของการทดลอง สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดในรูปแบบการผลิตแบบ รวมปฏิกิริยาในวันที่ 4 และ 5 ของการทดลอง

5. การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ทำการทดลองในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร) ที่อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เท่ากับ 1:10 (มิลลิลิตรเอนไซม์ต่อกรัม ตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ แห้ง) และรูปแบบการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาของ ตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ ทั้งสองแห่ง พบว่า ตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 5.03 กรัมต่อลิตร ที่ พีเอชเท่ากับ 5.87 ในวันที่ 4 ของการทดลอง เมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้ไป จะได้เท่ากับ 0.97 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด เท่ากับ 0.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สำหรับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 7.34 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเท่ากับ 4.78 ในวันที่ 6 ของการทดลอง เมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้ไปจะได้เท่ากับ 0.99 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด เท่ากับ 0.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

6. การศึกษาอัตราส่วนที่เอนไซม์เซลลูเลสกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ 1:10 โดย ทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ เพื่อการผลิตน้ำตาล พบว่าสามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 8.27 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง สำหรับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลและตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 9.42 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง และเมื่อนำตะกอนมาบีบน้ำ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิลสามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 8.07 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตน้ำตาลเท่ากับ 9.35 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 ของการทดลอง เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสในวันที่สามารถผลิตน้ำตาลได้สูงสุด จากการไม่บีบน้ำออกจากตะกอนและบีบน้ำออกจากตะกอน พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไรเคิล แบบไม่บีบน้ำออกจากตะกอนมีค่าสูงกว่าแบบบีบน้ำออกจากตะกอน เช่นเดียวกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

7. ผลผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร) แบบรวมปฏิกิริยา โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงาน ผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 2.66 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 ของการทดลองและตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ และกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 6.21 กรัมต่อลิตรในวันที่2 ของการทดลองเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบบรวมปฏิกิริยา จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าต่ำกว่าตะกอนน้ำเสียแห้ง เช่นเดียวกับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ และแบบแยกปฏิกิริยา พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 1.76 กรัมต่อลิตรในวันที่ 2 ของการทดลอง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 6.00 กรัมต่อลิตรในวันที่ 2 ของการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบบแยกปฏิกิริยา จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าต่ำกว่าตะกอนน้ำเสียแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าสูงกว่าเพียง 0.22 กรัมต่อลิตร

8. การผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบแบตช์ (ทำการทดลองในถังหมักขนาด 5 ลิตร) โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 5.75 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเท่ากับ 6.22 ในวันที่ 1 ของการทดลอง เมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้ไป จะได้เท่ากับ 0.84 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุดเท่ากับ 0.24 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สำหรับตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 6.95 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเท่ากับ 4.58 ในวันที่ 2 ของการทดลอง และเมื่อคำนวณปริมาณผลได้ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้ไปจะได้เท่ากับ 0.98 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุดเท่ากับ 0.14 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรจากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษที่ทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าสูงกว่าตะกอนน้ำเสียแห้ง และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำมีค่าต่ำกว่าตะกอนน้ำเสียแห้งเพียง 0.39 กรัมต่อลิตร

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ทำการทดลองโดยใช้จุลินทรีย์ชนิดอื่นในกระบวนการหมัก เช่น *Zymomonas mobilis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Candida krusei* และ *E. coli* เป็นต้น เนื่องจากจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถนำมาใช้เพื่อกระบวนการหมักเอทานอลได้

2. ทำการวิจัยโดยการใช้เอนไซม์เซลลูเลส มีชื่อทางการค้าว่า Novozym 50013 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 รูปแบบการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา กับวัตถุดิบประเภทเซลลูโลสชนิดอื่น เช่น กากมันสำปะหลัง ฟางข้าว ชานอ้อย ใบข้าวโพด และกระดาษหนังสือพิมพ์ เป็นต้น เพื่อทำการผลิตเอทานอลโดยใช้รูปแบบการผลิตแบบรวมปฏิกิริยา ซึ่งเป็นการนำของเสียเหลือทิ้ง มาเพิ่มมูลค่าในการผลิตเอทานอลได้

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

การพลังงานทหาร, กรม. ศูนย์การอุตสาหกรรมป้องกันประเทศและพลังงานทหาร. การปรับสภาพวัตถุดิ บ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา :http://www1.mod.go.th/opsd/dedweb/energy/etanol%20home%20page%20&%20proposal.pdf. [2553, ธันวาคม 16]

อุตุนิยมวิทยา, กรม. สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา ศูนย์ภูมิอากาศ. สภาวะอากาศประเทศไทย เดือนธันวาคม 2554. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www. tmd.go.th./climate/climate. php?FileID=4. [2555, กุมภาพันธ์24]

กุลชาดา สง่าสินธุ . 2553. การผลิตเอทานอลจากกากตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษโดยเอนไซม์เซลลูเลสและยีสต์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต , ภาควิชาวิศว กรรมสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เกรียงศักดิ์ แสงศรีดำ. 2546. การใช้เชื้อรา *Trichoderma spp.* ร่วมกับเชื้อรา *Gliocladium sp.* เพื่อควบคุมเชื้อราเหตุโรคพืชในดินโดยชีววิธี . วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

คลังความรู้ดิจิทัล , เซลลูโลส . [ออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.trueplookpanya.com/true/knowledge_detail.php?mul_content_id=2495. [2553, ธันวาคม10]

ธนาคารเพื่อการส่งออกและนำเข้าแห่งประเทศไทย. 2549. Cellulosic Ethanal ทางเลือกใหม่ของการผลิตเอทานอลในอนาคต.

นัยนา นิยมวัน . กระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ . [ออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.tistr.or.th/t/publication/page_area_show_bc.asp?i1=77&i2=7. [2553, ธันวาคม 20]

น้อย เกษมสุขสกุล. 2529. การผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูงบนวัสดุที่เป็นของแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บริษัท สุพรีมพริ้นท์ จำกัด. ประเภทของกระดาษ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:http://www.supremeprint.net/index.php?lay=show&ac=article&Id=538771416. [2553, ธันวาคม 15]

บริษัท สุพรีมพริ้นท์ จำกัด. องค์ประกอบหลักในเยื่อกระดาษ . [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.supremeprint.net/index.php?lay=show&ac=article&Id=538770933. [2553, ธันวาคม 15]

บริษัท แอ๊ดวานซ์ อะโกร จำกัด (มหาชน) . กระบวนการผลิตกระดาษ . [ออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.doubleapaper.com/knowing/paper_process1.pdf. [2553, ธันวาคม 20]

ปราณี อ่านเปรื่อง . 2545. เอ็นไซม์ทางอาหาร . พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปรียารัตน์ โยวะผุย. 2550. การศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมักจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร . วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์. 2545. การผลิตเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลัง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมเคมีเทคนิค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาพโครงสร้างของเซลลูโลสและตำแหน่งที่เอนไซม์ชนิดต่างๆเข้าทำปฏิกิริยา . [ออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www1.mod.go.th/opsd/dedweb/energy/etanol%20home%20page% 20&%20proposal.pdf. [2553, ธันวาคม 20]

ภาพโครงสร้างผนังเซลล์ของพืช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://learners.in.th/file/dawood/view/83293. [2553, ธันวาคม 20]

ภาพโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส.[ออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html. [2553, ธันวาคม 20]

ภาพโครงสร้างลิกนิน. [ออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://bugs.bio.usyd.edu.au/learning/resources/Mycology/Feeding/extracellDigestion.shtml. [2553, ธันวาคม 20]

ภาพเชื้อรา *Trichoderma spp.* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://www.nbaii.res.in/PDBC-NAIP/Trichoderma.htm. [2555, มีนาคม 4]

ภาพลักษณะการออกแบบของถังหมัก . วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ . พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

ภาพสูตรเคมีและโครงสร้างของเอทานอล. [ออนไลน์]. แหล่งที่มาhttps://www.myfirstbrain.com/student_view.aspx?ID=33485. [2554, มีนาคม 11]

ภาพ *Saccharomyces cerevisiae* (เจริญบนอาหาร YMA). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.emdchemicals.com/.../prods/1_05397_0500.html. [2553, ธันวาคม 20]

ภาพ *Saccharomyces cerevisiae* (ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์) . [ออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.micron.ac.uk/organisms/sacch.html. [2553, ธันวาคม 20]

มาลี ศรีสดสุข, ปริศนา สิริอาชา , และเกสร ทวีเศษ . การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อการผลิตกระดาษ . [ออนไลน์].แหล่งที่มา:http://posaa.kapi.ku.ac.th/Document/PDF/FinalRep2001_V2 /Full_2A-3(7).pdf. [2555, มีนาคม 4]

มุกดา คูหิรัญ. 2546. แนวทางการพัฒนาการใช้เซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อการผลิตเอทานอล. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยสุรนารี.

ระวีวรรณ แกล้วกล้า . 2538. การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเคมีเทคนิค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

ศิริวัฒนา บัญชรเทวกุล , วีระชัย บัญชรเทวกุล และชมพูนุช หาญนันทวิวัฒน์. 2551. การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซโลส กลูโคส และอราบิโนส จากฟางข้าวและชานอ้อย เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตเอทานอล . โครงการวิจัยคณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2549. รายชื่อจุลินทรีย์ผลิตเอทานอลที่มีเพาะเลี้ยงและเก็บไว้ในสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล . 2538. วิศวกรรมเคมีชีวภาพพื้นฐาน 1. กรุงเทพ มหานคร: สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุภาวินี นิลเขต. 2550. การใช้กากตะกอนเยื่อกระดาษเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับผลิตกลูโคส และเอนไซม์เซลลูเลส โดยเชื้อรา *Trichoderma spp.* ในปฏิกรณ์กึ่งต่อเนื่อง ขนาดระดับห้องปฏิบัติการ . วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรม สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักข่าวแห่งชาติ กรมประชาสัมพันธ์ . ประเทศไทย มีการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพเป็นอันดับที่ 8 ของโลก.[ออนไลน์].แหล่งที่มา:http://media.thaigov.go.th/pageconfig /viewcontent /viewcontent1.asp?pageid=471&directory=1794&contents=43953. [2553, ธันวาคม 10]

ภาษาอังกฤษ

Behera, S., Mohanty, R.C. and Ray, R.C. 2010. Comparative study of bio-ethanol production from mahula (*Madhuca latifolia L.*) flowers by *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis*. Applied Energy. 87: 2352-2355.

Brethauer, S. and Wyman, C.E. 2010. Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. Bioresource Technology. 101: 4862-4874.

Greulch, V.A. 1973. Plant function and structure. New York: MC Millian.

Gupta, R., Sharma, K.K. and Kuhad, R.C. 2009. Separate hydrolysis and fermentation (SHF) of *Prosopis juliflora*, a woody substrate, for the production of cellulosic ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*-NCIM 3498. Bioresource Technology. 100: 1214–1220.

Kirt, K.T. 1983. Degradation and conversion of lignocellulosic. The Filamentous Fungi. New York: Edward Arnold.

Lark, N., Xia, Y., Qin, C.G., Gong, C.S. and Tsao, G.T. 1997. Production of ethanol from recycled paper sludge using cellulase and yeast, *Kluveromyces marxianus*. Biomass and Bioenergy. 2: 135-143.

Marques, S., Alves, L., Roseiro J.C. and Gı´rio, F.M. 2008. Conversion of recycled paper sludge to ethanol by SHF and SSF using *Pichia stipitis*. Biomass and bioenergy. 32: 400-406.

Matsushika, A., Inoue, H., Murakami, K., Takimura, O. and Sawayama, S. 2009. Bioethanol production performance of five recombinant strains of laboratory and industrial xylose-fermenting *Saccharomyces cerevisiae*. Bioresource Technology.100: 2392-2398.

Mendel, M. and Stermberg, D. 1976. Recent advances in cellulose technology. J. Ferment. Technol. 54 (4) : 267-286.

Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Anal Chem. 31 : 426-428.

Park, I., Kim, I., Kang, K., Sohn, H., Rhee, I., Jin I. and Jang, H. 2010.Cellulose ethanol production from waste newsprint by simultaneoussaccharification and fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* KNU5377. Process Biochemistry. 45 : 487–492.

Paturau, J.M. 1989. Byproduction of the Cane Sugar Industry. 3rd ed. Great Britain: Elsevier Science Publisher Ltd.

Peng, L. and Chen, Y. 2011. Conversion of paper sludge to ethanol by separate hydrolysis and fermentation (SHF) using *Saccharomyces cerevisiae*. Biomass and bioenergy. 35: 1600-1606.

Saha, B.C. and Cotta, M.A. 2008. Lime pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol. Biomass and bioenergy. 32: 971-977.

Singhania, R.R., Sukumarana, R.K., Patelb, A.K., Larrocheb, C. and Pandeya, A. 2010. Review Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. Enzyme and Microbial Technology. 46: 541–549.

Technical Association of the Pulp and Paper Industry. 2000. Method for alpha-, betta- and gamma cellulose in pulp.

Yamashita, Y., Kurosumi, A., Sasaki, C. and Nakamura, Y. 2008. Ethanol production from paper sludge by immobilized *Zymomonas mobilis*. Biochemical Engineering Journal. 42: 314–319.

Yamashita, Y., Sasaki, C. and Nakamura, Y. 2010. Development of efficient system for ethanol production from paper sludge pretreated by ball milling and phosphoric acid. Carbohydrate Polymers. 79: 250–254.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ จากอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ(มาตรฐานของ Tappi)

(Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 2000)

1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส

สารเคมีและวิธีเตรียม

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5

   วิธีเตรียม: ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์175 กรัม ในน้ำกลั่น และเจือจางเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

2. สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) เข้มข้น 0.5 นอร์มัล

   วิธีเตรียม : ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 24.52 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

3. สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมาตรฐานเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

   วิธีเตรียม : ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 4.904 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

4. สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

   วิธีเตรียม: ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟต $[Fe(NH_4)(SO_4).6H_2O]$ 40.5 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ทำการหาค่าความเข้มข้นที่แน่นอนทุกครั้งที่ใช้ โดยนำไปไตเตรทกับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมาตรฐาน

   วิธีหาความเข้มข้นที่แน่นอน: ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมาตรฐานปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ค่อยๆเทกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 12 มิลลิลิตรลงในขวด โดยเอียงขวดทำมุมประมาณ 45 องศากับพื้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น หยดอินดิเคเตอร์ 2 ถึง 4 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ต้องการหาความเข้มข้นที่แน่นอน

วิธีการคำนวณ: $N_2V_2 = N_1V_1$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต, นอร์มัล

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟต, นอร์มัล

V_1 = ปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต, มิลลิลิตร

V_2 = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟต, มิลลิลิตร

5. สารละลายอินดิเคเตอร์

วิธีเตรียม : ละลาย 1,10-ฟีนานโธรลีนโมโนไฮเดรท ($C_{12}H_8N_2.H_2O$) หนัก 1.5 กรัม กับเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4.H_2O$) 0.7 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไตเตรท

6. กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 98 (ค่าความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 1.84)

7. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 3 นอร์มัล

วิธีเตรียม: ค่อยๆเทกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร83.5 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ ปรับปริมาตรเป็น1,000 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างหนัก 1.5 กรัมน้ำหนักแห้ง ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร บันทึกน้ำหนักตัวอย่าง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกปิดนาฬิกา จับเวลาทันทีที่เติมสารละลาย นำไปกวนบนเครื่องกวนสารเป็นเวลา 30 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังครบเวลากวนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

2. กรองสารละลายเพื่อแยกตะกอนตัวอย่างออก โดยทิ้งสารละลายใส 10 มิลลิลิตรแรกของการกรอง เก็บสารละลายใสเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3. การวิเคราะห์ปริมาณแอลฟา-เซลลูโลส(เซลลูโลส)

3.1 ปิเปตตัวอย่างจากข้อ 2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.5 นอร์มัล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3.2 ค่อยๆเทกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 30 มิลลิลิตร โดยเอียงขวดทำมุม 45 องศากับพื้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

3.3 หยดอินดิเคเตอร์ 2 ถึง 4 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองอมส้มเป็นน้ำตาลอมม่วง บันทึกปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟต

3.4 เตรียมสารละลายแบลงค์ (Blank) โดยปิเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปทำวิธีการเดียวกับสารละลายตัวอย่างในข้อ 3.1 ถึง 3.3

3.5 การคำนวณ

แอลฟา-เซลลูโลส (%) = $100 - [6.85(V_2-V_1)\ xN\ x20\ /(AxW)]$

เมื่อ V_1 = ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายตัวอย่าง, มิลลิลิตร

V_2 = ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายแบลงค์, มิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟต, นอร์มัล

A = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้, มิลลิลิตร

W= น้ำหนักตัวอย่างแห้ง, กรัม

6.85 = มิลลิกรัมสมมูลของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับเซลลูโลส

4. การวิเคราะห์ปริมาณ แกมม่า-เซลลูโลส

4.1 ปิเปตตัวอย่างจากข้อ 2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในกระบอกตวงที่มีจุกปิด เติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 3 นอร์มัล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 ถึง 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ถึง 3 นาที เพื่อให้เกิดตะกอนอย่างสมบูรณ์ กรองสารละลายโดยเก็บส่วนใสไว้วิเคราะห์

4.2 นำสารละลายใสที่กรองได้ไปวิเคราะห์วิธีเดียวกันกับข้อ 3.1 ถึง 3.3

4.3 การคำนวณ

แกมม่า-เซลลูโลส (ร้อยละ) = $[6.85(V_4-V_3)\ xN\ x20\ /(AxW)]$

เมื่อ V_3 = ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายตัวอย่าง, มิลลิลิตร

V_4 = ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายแบลงค์, มิลลิลิตร

5. การวิเคราะห์ปริมาณ เบต้า-เซลลูโลส(เฮมิเซลลูโลส)

การคำนวณ

เบต้า-เซลลูโลส (ร้อยละ) = 100 - [(แอลฟา-เซลลูโลส) + (แกมม่า-เซลลูโลส)]

2.วิธีวิเคราะห์ปริมาณลิกนิน

การคำนวณ

ลิกนิน (ร้อยละ) = 100 – ร้อยละของเซลลูโลส – ร้อยละของเฮมิเซลลูโลส

ภาคผนวก ข

การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส

ภาคผนวก ข

การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส (Miller, 1959)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA)

ละลาย กรดไดไนโตรซาลิไซลิก 10 กรัม และโพแทสซียมโซเดียมตาเทรต ($COOK(CHOH)_2COONa.4H_2O$) 250 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 16 กรัมในน้ำ 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายในขวดสีชาหรือขวดทึบแสง

วิธีการ

1. ใส่สารละลายที่ต้องการทดสอบ (ที่มีความเจือจางเหมาะสม) 1.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำทุกหลอดไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันที เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด

2. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 5 40 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปหาปริมาณน้ำตาลจากกราฟมาตรฐาน

3. ทำชุดควบคุม (control) เตรียมเช่นเดียวกันแต่ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายเอนไซม์

การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส

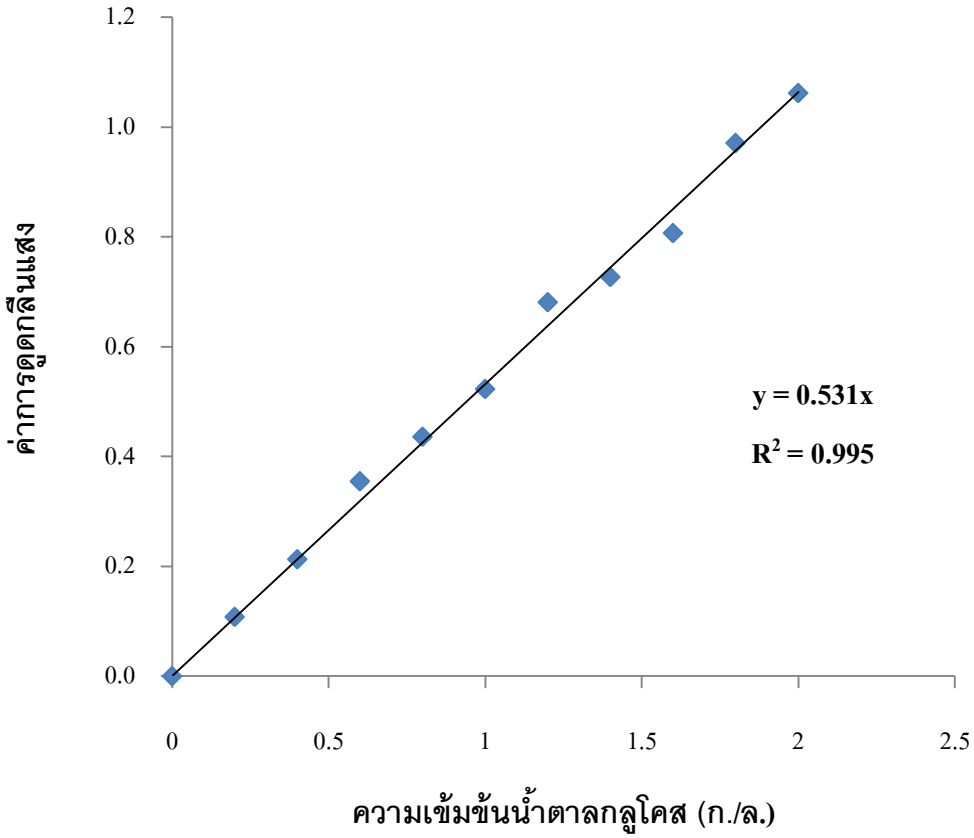
$$\text{ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มก ./มล.)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} \times \text{ค่าความเจือจาง}}{\text{ค่าความชันของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส}}$$

การทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ทำกราฟมาตรฐานกลูโคสจำนวน 5 จุด โดยเตรียมจากกลูโคส (Analytical grade) จำนวน 10 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 และ2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปหาปริมาณกลูโคสตามวิธี DNS

ตารางที่ ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงของกลูโคสมาตรฐาน

ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
0	0.000
0.2	0.108
0.4	0.213
0.6	0.355
0.8	0.436
1.0	0.523
1.2	0.681
1.4	0.727
1.6	0.807
1.8	0.971
2.0	1.062



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ภาคผนวก ค

การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

ภาคผนวก ค

การวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่พีเอช 4.8

ละลายกรดซิตริก 2.1014 กรัม ลงในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร และละลายโซเดียมซิเตรท 4.4115 กรัม ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร นำสารทั้งสองส่วนมาผสมรวมกัน และเก็บในตู้เย็น

วิธีการ

1. นำกระดาษกรองขนาด 1x6 เซนติเมตร จำนวน 50 มิลลิกรัม จุ่มลงในสารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่พีเอช 4.8 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2. เติมเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

3. หยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดทดลองไปต้มในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีไดไนโตรซาลิไซลิค (DNS method)

4. นำมาคำนวณยูนิตของเอนไซม์เซลลูโลส (ยูนิต /มิลลิลิตร) โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ (FPU) คือปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายกระดาษกรอง แล้วได้น้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่สภาวะที่ทดสอบเท่ากับ

$$\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} \times \text{อัตราส่วนการเจือจาง} \times \text{ปริมาณเอนไซม์}}{\text{ค่าความชัน} \times \text{มวลโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส} \times \text{เวลาที่ใช้}}$$

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 5.226×10^{-3} กรัมต่อมิลลิลิตร

คำนวณจาก $= \dfrac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ก./มล.)} \times 10^{6} \times \text{ปริมาณเอนไซม์(มล.)}}{180 \times 60}$

$= \dfrac{5.226 \times 10^{-3} \times 10^{6} \times 0.5}{180 \times 60}$

$=$ 0.242 ยูนิต(FPU)/มิลลิลิตร

ภาคผนวก ง

ปริมาณเอทานอลจากพื้นที่ใต้กราฟและการคำนวณปริมาณเอทานอลที่ได้ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้ไป หรือผลได้ผลิตภัณฑ์ (Yield)

ภาคผนวก ง

1. ปริมาณเอทานอลจากพื้นที่ใต้กราฟที่ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี

วิธีทำ

1. ทำกราฟมาตรฐานเอทานอลจำนวน 6 จุด โดยเตรียมจากสารละลายเอทานอลบริสุทธิ์จำนวน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ ร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2(%v/v) และนำไปหาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟีผลที่ได้คือ พื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลแต่ละความเข้มข้น

2. นำพื้นที่ใต้กราฟและค่าความเข้มข้นของเอทานอลทั้ง 6 มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐานเอทานอล

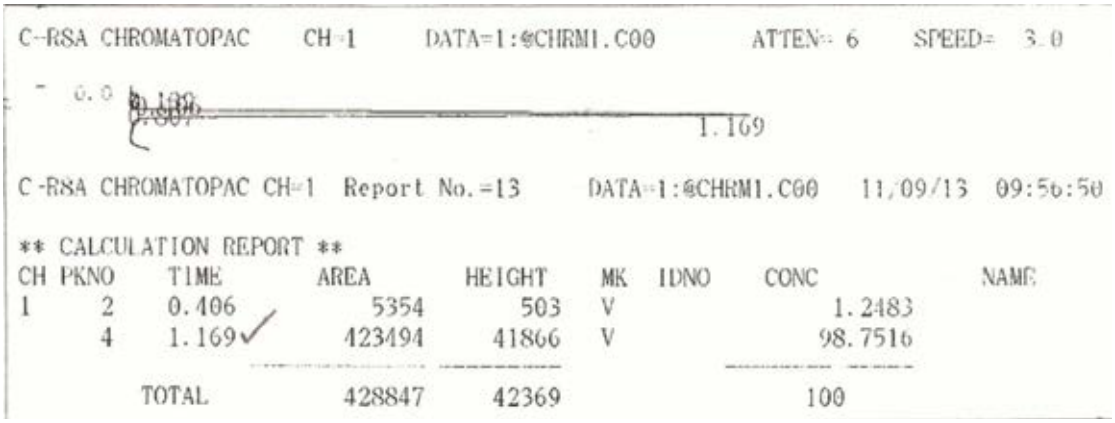
3. นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากตัวอย่างไปหาปริมาณเอทานอลจากกราฟมาตรฐานเอทานอล

ตารางที่ ง.1 สภาวะที่ใช้ในการทดสอบด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี

เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี	**สภาวะ**
คอลัมน์	Parapak Q
อุณหภูมิคอลัมน์	160 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิหัวฉีด	220 องศาเซลเซียส
ก๊าซตัวพา	ไนโตรเจน (50 มิลลิลิตรต่อนาที)

ตารางที่ ง.2 ตัวอย่างพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลมาตรฐาน

ความเข้มข้นเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	พื้นที่ใต้กราฟ
0	0
0.2	183229
0.4	290841
0.6	435847
0.8	597458
1	715824
1.2	884465



C-RSA CHROMATOPAC CH-1 DATA=1:@CHRM1.C00 ATTEN= 6 SPEED= 3.0

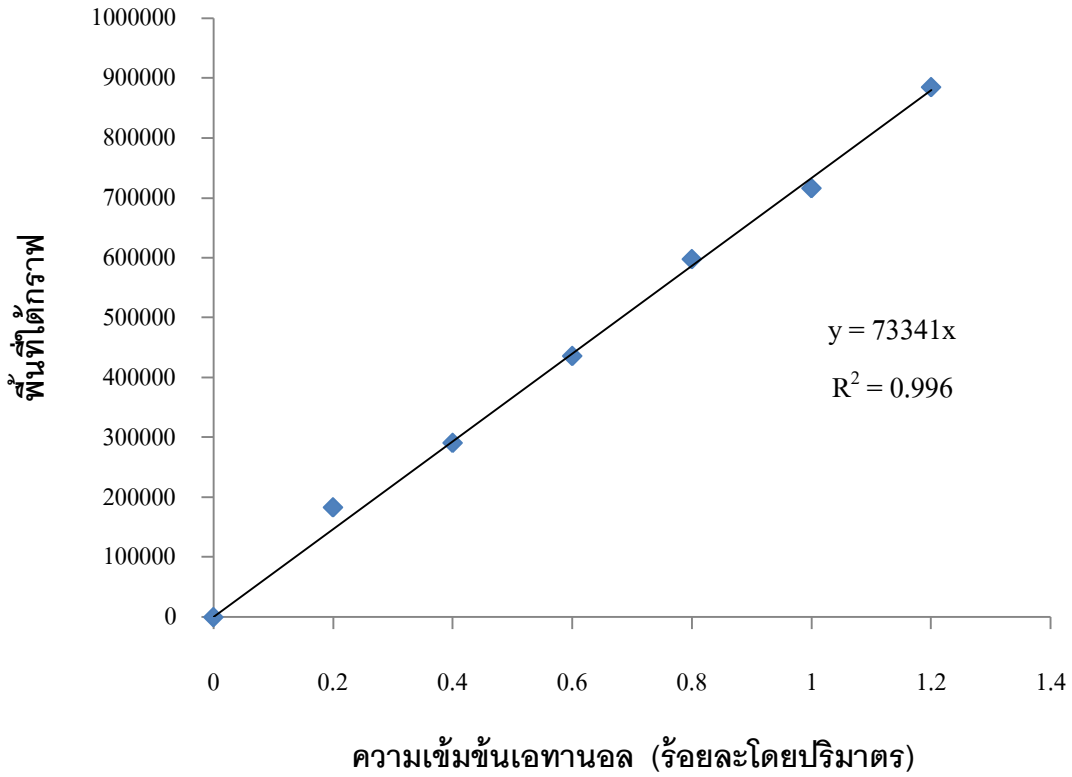
0.0 1.169

C-RSA CHROMATOPAC CH-1 Report No.=13 DATA=1:@CHRM1.C00 11/09/13 09:56:50

** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	0.406	5354	503	V		1.2483	
	4	1.169	423494	41866	V		98.7516	
		TOTAL	428847	42369			100	

ภาพที่ ง.1 ตัวอย่างพื้นที่ใต้กราฟ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี



ภาพที่ ง.2 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานเอทานอล

2. การคำนวณปริมาณเอทานอลที่ได้ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้ไป หรือผลได้ผลิตภัณฑ์ (yield)

$$\text{ผลได้ผลิตภัณฑ์ (Ethanol yield)} = \frac{\text{เอทานอลวันที่ X} - \text{เอทานอลวันที่ 0}}{\left|\text{น้ำตาลวันที่ X} - \text{น้ำตาลวันที่ 0}\right|}$$

วิธีทำ

ปริมาณเอทานอลที่คำนวณได้จากการวัดด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี ผลที่ได้จะมีหน่วยเป็นร้อยละโดยปริมาตร (%v/v)

สมมติ ให้มีปริมาณเอทานอล เท่ากับร้อยละ 0.68 คือ

ในสารละลาย 100 มิลลิลิตร มีเอทานอลอยู่ 0.68 มิลลิลิตร

ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร มีเอทานอลอยู่ $\frac{0.68}{100} \times 1000$

$= 6.8$ มิลลิลิตร

จากสูตร $d = m/v$; ความหนาแน่นของเอทานอลเท่ากับ 0.789 กรัม/มิลลิลิตร

แทนในสูตร $0.789 \frac{\text{ก.}}{\text{มล.}} = \frac{\text{ก.}}{6.8 \text{ มล.}}$

$m = 0.789 \frac{\text{ก.}}{\text{มล.}} \times 6.8 \text{ มล.}$

$= 5.37$ กรัม

สรุป เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.68 จะเท่ากับเอทานอล 5.37 กรัมต่อลิตร

นำค่าเอทานอลในหน่วยของ กรัมต่อลิตร แทนสูตรเพื่อการคำนวณหาผลได้ผลิตภัณฑ์ (Ethanol yield)

3. อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด

$$\text{อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด} = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้สูงสุด (กรัมต่อลิตร)}}{\text{เวลาที่ใช้ผลิตเอทานอล (ชั่วโมง)}}$$

สมมติ ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้สูงสุด 87.46 กรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้คือ 144 ชั่วโมง

$$\text{แทนค่า อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด} = \frac{87.46}{144}$$

ประสิทธิภาพของการหมัก (ร้อยละ) = 0.607 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ภาคผนวก จ
ผลการทดลอง

ภาคผนวก จ

ผลการทดลอง

1. ผลการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล จังหวัดสมุทรสาคร

แบบ วศ.1

รายงานการทดสอบ

ชื่อวัตถุตัวอย่าง	เครื่องหมาย / ตรา	หมายเลขปฏิบัติการ
กากตะกอนเยื่อกระดาษ	AKPA	L53/09512.1

ผลการทดสอบ

	ร้อยละของน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง
ไฮโลเซลลูโลส	39.7
อัลฟ่าเซลลูโลส	34.8
เบต้าเซลลูโลส	1.3
แกมม่าเซลลูโลส	3.6
ลิกนิน	8.0

ชื่อผู้ใช้บริการ	นางสาวทิฐิมา วงศ์ธารี
ที่อยู่ผู้ใช้บริการ	499/22 ถนนศรีอยุธยา แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพ ฯ 10400
ลักษณะตัวอย่าง	กากตะกอนเยื่อกระดาษสีเทา บรรจุในถุงพลาสติก
วันที่ทดสอบ	18 พฤศจิกายน – 13 ธันวาคม 2553
วิธีทดสอบ	1. ไฮโลเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI Section
	2. อัลฟ่าเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 203 om-93
	3. เบต้าเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 203 om-93
	4. แกมม่าเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 203 om-93
	5. ลิกนิน ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 222 om-02

ผู้รับรอง
(นายชววอ ชงไชย)
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ

ผู้รายงาน
(นายยุทธนาพงศ์ แดงเพ็ง)
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ

รายงานนี้รับรองผลเฉพาะวัตถุตัวอย่างที่ได้ทดสอบและเฉพาะรายการนั้น ไม่รับรองวัตถุหรือสินค้าที่ใช้รายงานนี้ในการโฆษณาหรืออ้างถึง ห้ามคัดสำเนารับรองหรือรายงานผลเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับอนุญาตจากกรมวิทยาศาสตร์บริการเป็นลายลักษณ์อักษร

กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ถนนพระรามที่ 6 ราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 ประเทศไทย

หน้า 2/2

ภาพที่ จ.1 ผลการวิเคราะห์ลิกนิน โฮโลเซลลูโลส อัลฟาเซลลูโลส เบต้าเซลลูโลส และแกรมมาเซลลูโลสเบื้องต้นของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล จังหวัดสมุทรสาคร

2. ผลการวิเคราะห์ลิกนินของ ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี

แบบ วศ.1

รายงานการทดสอบ

ชื่อวัตถุตัวอย่าง	เครื่องหมาย / ตรา	หมายเลขปฏิบัติการ
ตะกอนเยื่อกระดาษ	-	L52/11067.1

ผลการทดสอบ

	ร้อยละของน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง
ลิกนิน	6.0

ชื่อผู้ใช้บริการ	ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ผู้ใช้บริการ	ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
ลักษณะตัวอย่าง	ตะกอนเยื่อกระดาษสีน้ำตาล บรรจุในถุงพลาสติก
วันที่ทดสอบ	16 ธันวาคม2552 – 8 กุมภาพันธ์ 2553
วิธีทดสอบ	ลิกนิน ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 222 om-02

ผู้รับรอง
(นายจรวย ธงไชย)
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ

ผู้รายงาน
(นายยุทธนาพงศ์ แดงเพ็ง)
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ

ภาพที่ จ.2 ผลการวิเคราะห์ลิกนิน เบื้องต้นของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี

3. ผลการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีของ ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี

แบบ วศ. 1

.....2....ตัวอย่าง
.....45...รายการ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ DEPARTMENT OF SCIENCE SERVICE

รายงานการทดสอบ

ชื่อวัตถุตัวอย่าง	เครื่องหมาย / ตรา	หมายเลขปฏิบัติการ
กากตะกอนเยื่อกระดาษ	-	ZC. 468

ผลการทดสอบ

	ร้อยละของน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง
โฮโลเซลลูโลส	73.3
อัลฟ่าเซลลูโลส	67.1
เบต้าเซลลูโลส	4.7
แกรมมาเซลลูโลส	1.4

ชื่อผู้ใช้บริการ	ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ผู้ใช้บริการ	ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330
ลักษณะตัวอย่าง	ZC. 468 เป็นกากตะกอนเยื่อกระดาษ มีสีเทา-ขาว ชิ้นเล็กๆ มีขนาดประมาณ 0.2 – 05 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 200 กรัม บรรจุในถุงพลาสติก
วันที่ทดสอบ	29 มกราคม 2550 ถึง 23 กุมภาพันธ์ 2550
วิธีทดสอบ	1. โฮโลเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI Section 2. อัลฟ่าเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 203 3. แกมมาเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 203 4. เบต้าเซลลูโลส ทดสอบตามมาตรฐาน TAPPI T 203

ผู้รับรอง	ผู้รายงาน
(นายจรวย ธงไชย)	(นายยุทธนาพงศ์ แดงเพ็ง)
นักวิทยาศาสตร์ 8 ว	นักวิทยาศาสตร์ 8ว

ภาพที่ จ.3 ผลการวิเคราะห์โฮโลเซลลูโลส อัลฟาเซลลูโลส เบต้าเซลลูโลส และแกรมมาเซลลูโลสเบื้องต้นของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จังหวัดปราจีนบุรี

5.ผลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าของ ตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากโรงงานทั้งสองแห่ง

แบบ วศ.1

รายงานการทดสอบ

ชื่อวัตถุตัวอย่าง	เครื่องหมาย / ตรา	หมายเลขปฏิบัติการ
Re	-	L54/09974.1
AA	-	L54/09974.2

ผลการทดสอบ

	ร้อยละของน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง	
	L54/09974.1	L54/09974.2
ปริมาณเถ้า	50.9	26.3

ชื่อผู้ใช้บริการ	ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ผู้ใช้บริการ	ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
ลักษณะตัวอย่าง	ตัวอย่างReและ AA มีลักษณะเป็นผงสีเทา น้ำหนักประมาณตัวอย่างละ 100กรัม บรรจุในกล่องพลาสติก
วันที่ทดสอบ	23-27 ธันวาคม 2554
วิธีทดสอบ	TAPPI T 211cm-02

ผู้รับรอง
(นายธรวัฒ ธงไชย)
นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ

ผู้รายงาน
(นางสาวสุวิมล เหล็กหนึ่นไวย)
นักวิทยาศาสตร์

รายงานนี้รับรองผลเฉพาะวัตถุตัวอย่างที่ได้ทดสอบเท่านั้น ไม่รับรองวัตถุหรือสินค้าที่ใช้รายงานนี้ในการโฆษณาหรืออ้างถึงหรือคัดลอกโดยมิได้รับอนุญาตจากกรมวิทยาศาสตร์บริการเป็นลายลักษณ์อักษร

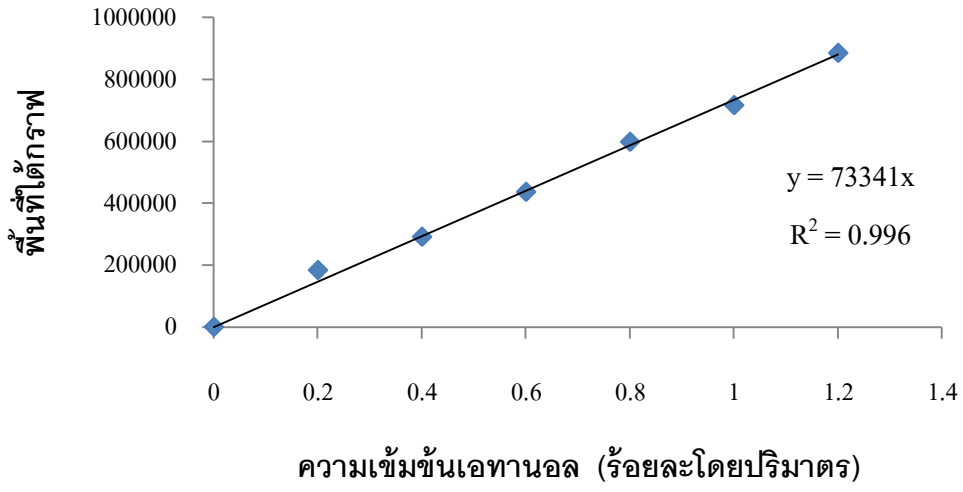
ภาพที่ จ.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลเท่ากับร้อยละ 50.9 และตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เท่ากับร้อยละ 26.3

6. กราฟมาตรฐานเอทานอลสำหรับขั้นตอนการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา (ทดลองในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร)

ทำกราฟมาตรฐานเอทานอลจำนวน 6 จุด โดยเตรียมจากสารละลายเอทานอลบริสุทธิ์จำนวน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ ร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2(%v/v) และนำไปหาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี ผลที่ได้คือ พื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลแต่ละความเข้มข้น

ตารางที่ จ. 1 พื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลมาตรฐาน

ความเข้มข้นเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	พื้นที่ใต้กราฟ
0	0
0.2	183229
0.4	290841
0.6	435847
0.8	597458
1	715824
1.2	884465



ภาพที่ จ. 5 กราฟมาตรฐานเอทานอล

7. **การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน** 1:5

ตารางที่ จ. 2 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
0	1:5	0.348	0.310	5.832
		0.293		
		0.288		
	SD	0.033	0.310±0.033	5.832±0.033
1	1:5	0.374	0.422	7.941
		0.43		
		0.461		
	SD	0.044	0.422±0.044	7.941±0.044
2	1:5	0.187	0.184	3.471
		0.161		
		0.205		
	SD	0.022	0.184±0.022	3.471±0.022
3	1:5	0.637	0.642*	1.209
		0.653		
		0.636		
	SD	0.010	0.642±0.010	1.209±0.010
4	1:5	0.699	0.692*	1.304
		0.675		
		0.703		
	SD	0.015	0.692±0.015	1.304±0.015

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
5	1:5	0.722	0.709*	1.335
		0.699		
		0.706		
	SD	0.012	0.709±0.012	1.335±0.012
6	1:5	0.745	0.741*	1.395
		0.75		
		0.727		
	SD	0.012	0.741±0.012	1.395±0.012
7	1:5	0.663	0.658*	1.239
		0.655		
		0.655		
	SD	0.005	0.658±0.005	1.239±0.005
8	1:5	1.086	0.731*	1.377
		0.566		
		0.541		
	SD	0.308	0.731±0.308	1.377±0.308
9	1:5	0.455	0.471*	0.886
		0.475		
		0.482		
	SD	0.014	0.471±0.014	0.886±0.014

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

8. การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:10

ตารางที่ จ. 3 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
0	1:10	0.527	0.555	10.446
		0.559		
		0.578		
	SD	0.026	0.555±0.026	10.446±0.026
1	1:10	0.508	0.502	9.448
		0.545		
		0.452		
	SD	0.047	0.502±0.047	9.448±0.047
2	1:10	0.335	0.334	6.290
		0.342		
		0.325		
	SD	0.009	0.334±0.009	6.290±0.009
3	1:10	0.793	0.794*	1.495
		0.795		
		0.794		
	SD	0.001	0.794±0.001	1.495±0.001
4	1:10	0.8	0.818*	1.540
		0.824		
		0.829		
	SD	0.016	0.818±0.016	1.540±0.016

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
5	1:10	0.937	0.914*	1.722
		0.924		
		0.882		
	SD	0.029	0.914±0.029	1.722±0.029
6	1:10	0.923	0.906*	1.706
		0.892		
		0.903		
	SD	0.016	0.906±0.016	1.706±0.016
7	1:10	0.96	0.979*	1.844
		0.965		
		1.013		
	SD	0.029	0.979±0.029	1.844±0.029
8	1:10	0.877	0.859*	1.617
		0.851		
		0.848		
	SD	0.016	0.859±0.016	1.617±0.016
9	1:10	0.79	0.747*	1.407
		0.692		
		0.76		
	SD	0.050	0.747±0.050	1.407±0.050

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

9. การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:15

ตารางที่ จ. 4 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
0	1:15	0.416	0.404	7.608
		0.384		
		0.412		
	SD	0.017	0.404±0.017	7.608±0.017
1	1:15	0.428	0.461	8.675
		0.492		
		0.462		
	SD	0.032	0.461±0.032	8.675±0.032
2	1:15	0.401	0.400	7.539
		0.357		
		0.443		
	SD	0.043	0.400±0.043	7.539±0.043
3	1:15	0.922	0.937*	1.765
		0.938		
		0.951		
	SD	0.015	0.937±0.015	1.765±0.015
4	1:15	0.919	0.942*	1.775
		0.94		
		0.968		
	SD	0.025	0.942±0.025	1.775±0.025

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

ตารางที่ จ.4 (ต่อ) ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
5	1:15	0.725	0.724*	1.363
		0.695		
		0.752		
	SD	0.029	0.724±0.029	1.363±0.029
6	1:15	0.779	0.781*	1.471
		0.799		
		0.765		
	SD	0.017	0.781±0.017	1.471±0.017
7	1:15	0.786	0.804*	1.513
		0.822		
		0.803		
	SD	0.018	0.804±0.018	1.513±0.018
8	1:15	0.71	0.751*	1.414
		0.717		
		0.826		
	SD	0.065	0.751±0.065	1.414±0.065
9	1:15	0.699	0.701*	1.320
		0.684		
		0.719		
	SD	0.018	0.701±0.018	1.320±0.018

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

10. การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:20

ตารางที่ จ. 5 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
0	1:20	0.437	0.431	8.117
		0.452		
		0.404		
	SD	0.025	0.431±0.025	8.117±0.025
1	1:20	0.43	0.420	7.903
		0.424		
		0.405		
	SD	0.013	0.420±0.013	7.903±0.013
2	1:20	0.108	0.106	1.996
		0.103		
		0.107		
	SD	0.003	0.106±0.003	1.996±0.003
3	1:20	0.066	0.057	1.067
		0.066		
		0.038		
	SD	0.016	0.057±0.016	1.067±0.016
4	1:20	0.993	1.012*	1.905
		1.018		
		1.024		
	SD	0.016	1.012±0.016	1.905±0.016

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

ตารางที่ จ.5 (ต่อ) ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
5	1:20	0.049	0.048	0.910
		0.044		
		0.052		
	SD	0.004	0.048±0.004	0.910±0.004
6	1:20	0.043	0.040	0.753
		0.042		
		0.035		
	SD	0.004	0.040±0.004	0.753±0.004
7	1:20	0.995	0.954*	1.796
		0.884		
		0.982		
	SD	0.061	0.954±0.061	1.796±0.061
8	1:20	0.565	0.646*	1.217
		0.591		
		0.782		
	SD	0.118	0.646±0.118	1.217±0.118
9	1:20	0.669	0.673*	1.267
		0.666		
		0.683		
	SD	0.009	0.673±0.009	1.267±0.009

หมายเหตุ * ไม่มีค่าความเจือจาง= 10

11. การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:5

ตารางที่ จ. 6 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
0	1:5	0.471	0.472	8.889
		0.468		
		0.477		
	SD	0.004	0.472 ± 0.004	8.89 ± 0.004
1	1:5	0.425	0.45	8.480
		0.439		
		0.487		
	SD	0.02	0.45± 0.02	8.48± 0.02
2	1:5	0.364	0.388	7.219
		0.356		
		0.43		
	SD	0.04	0.388± 0.04	7.219± 0.04
3	1:5	0.379	0.38	7.131
		0.38		
		0.377		
	SD	0.001	0.38± 0.001	7.131± 0.001
4	1:5	0.254	0.26	4.877
		0.266		
		0.257		
	SD	0.006	0.26± 0.006	4.877± 0.006

ตารางที่ จ.6 (ต่อ) ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
5	1:5	0.197	0.19	3.647
		0.19		
		0.194		
	SD	0.003	0.19± 0.003	3.647± 0.003
6	1:5	0.116	0.119	2.247
		0.124		
		0.118		
	SD	0.004	0.119± 0.004	2.247± 0.004
7	1:5	0.082	0.079	1.488
		0.078		
		0.077		
	SD	0.002	0.079± 0.002	1.488± 0.004
8	1:5	0.808	0.816*	0.018
		0.814		
		0.827		
	SD	0.009	0.816± 0.009	0.018± 0.009
9	1:5	0.044	0.042	0.803
		0.043		
		0.041		
	SD	0.001	0.042± 0.001	0.803± 0.003

หมายเหตุ * ไม่มี ค่าความเจือจาง= 10

12. การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:10

ตารางที่ จ. 7 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
0	1:10	0.431	0.409	7.709
		0.414		
		0.383		
	SD	0.024	0.409±0.024	7.709±0.024
1	1:10	0.492	0.464	8.732
		0.484		
		0.415		
	SD	0.042	0.464±0.042	8.732±0.042
2	1:10	0.425	0.422	7.941
		0.422		
		0.418		
	SD	0.004	0.422±0.004	7.941±0.004
3	1:10	0.483	0.447	8.412
		0.455		
		0.402		
	SD	0.041	0.447±0.041	8.412±0.041
4	1:10	0.127	0.128	2.417
		0.129		
		0.129		
	SD	0.001	0.128±0.001	2.417±0.001

ตารางที่ จ.7 (ต่อ) ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

วัน	อัตราส่วน	ค่าการดูดกลืนแสง	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณกลูโคส (ก./ล.)
5	1:10	0.068	0.070	1.312
		0.071		
		0.07		
	SD	0.002	0.070±0.002	1.312±0.002
6	1:10	0.05	0.049	0.929
		0.051		
		0.047		
	SD	0.002	0.049±0.002	0.929±0.002
7	1:10	0.037	0.039	0.734
		0.04		
		0.04		
	SD	0.002	0.039±0.002	0.734±0.002
8	1:10	0.028	0.026	0.496
		0.025		
		0.026		
	SD	0.002	0.026±0.002	0.496±0.002
9	1:10	0.032	0.032	0.609
		0.034		
		0.031		
	SD	0.002	0.032±0.002	0.609±0.002

13.การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:15 (0.5:7.5)

ตารางที่ จ. 8 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

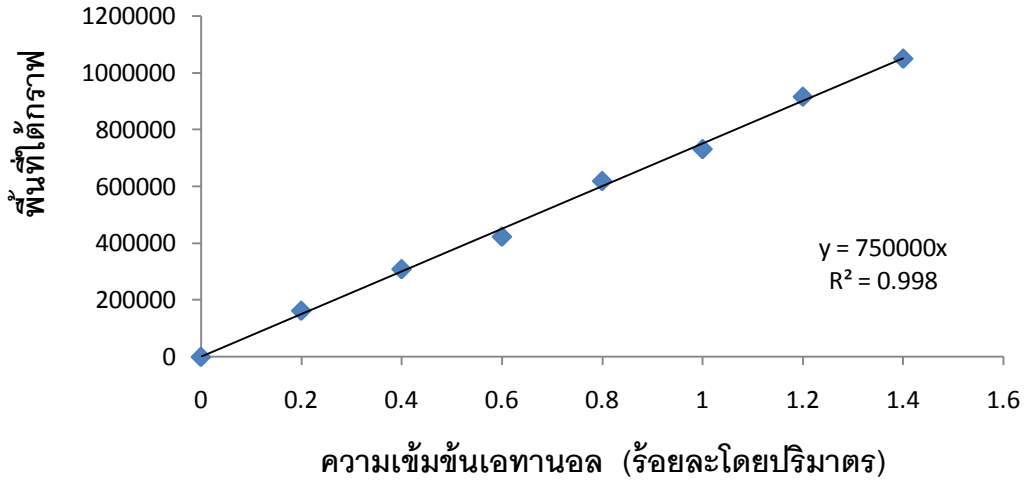
วันในการทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสง		ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)	SD
	1	2			
0	0.392	0.42	0.406	7.617	0.020
1	0.412	0.412	0.412	7.730	0.000
2	0.356	0.381	0.369	6.914	0.018
3	0.413	0.436	0.425	7.964	0.016
4	0.343	0.352	0.348	6.520	0.006
5	0.384	0.448	0.416	7.805	0.045

14.การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:20 (0.5:10)

ตารางที่ จ. 9 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

วันในการทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสง		ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)	SD
	1	2			
0	0.389	0.386	0.388	7.270	0.002
1	0.446	0.414	0.430	8.068	0.023
2	0.335	0.36	0.348	6.520	0.018
3	0.317	0.367	0.342	6.417	0.035
4	0.352	0.364	0.358	6.717	0.008
5	0.469	0.464	0.467	8.752	0.004

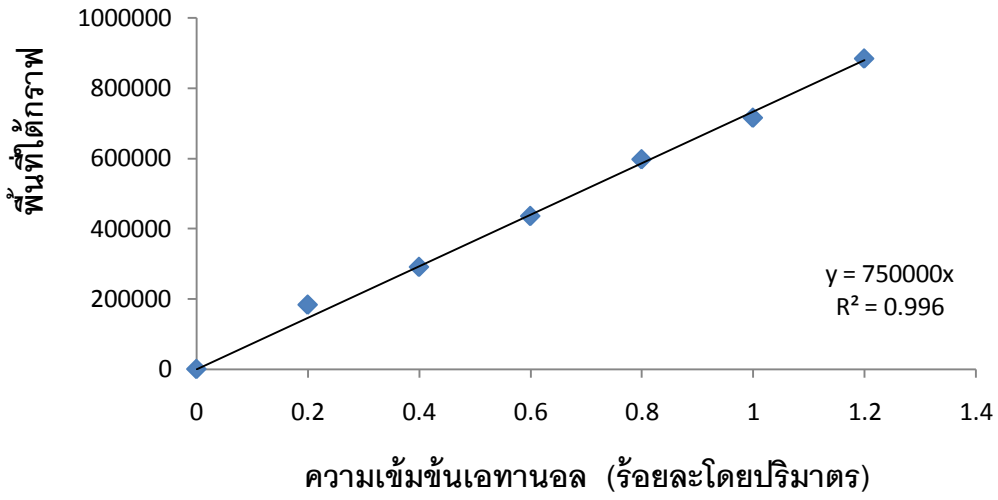
15. ผลการทดลองในขั้นตอนการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา (ทดลองในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร)



ภาพที่ จ. 6 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1

ตารางที่ จ.10 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1

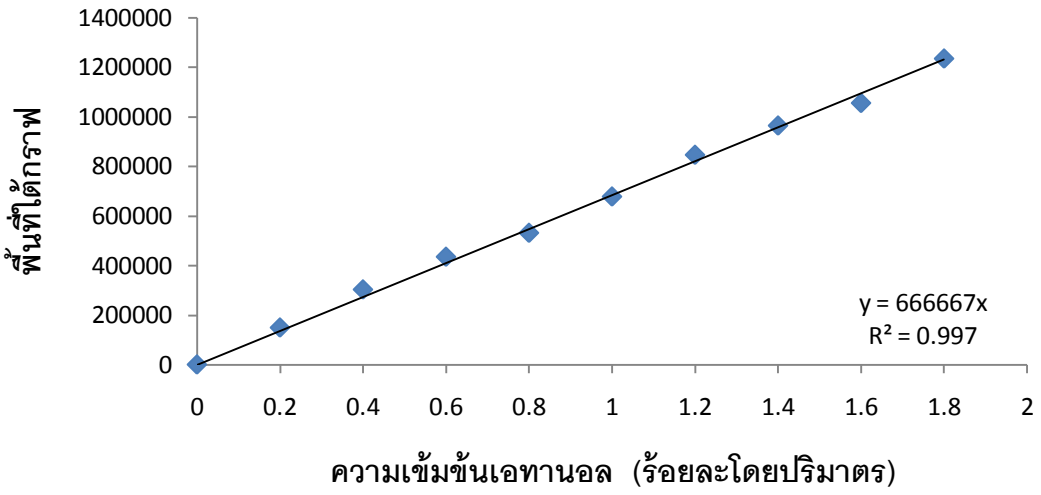
เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)
1	256527	2.70	410910	4.32
2	199991	2.10	488159	5.14
3	185733	1.95	413397	4.35
4	49435	0.52	456484	4.80
5	-	-	-	-
6	11067	0.12	435036	4.58
7	22111	0.23	401288	4.22



ภาพที่ จ. 7 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2

ตารางที่ จ.11 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)
1	326725	3.44	401032	4.22
2	232431	2.45	410023	4.31
3	82609	0.87	443688	4.67
4	20260	0.21	492424	5.18
5	4521	0.05	416461	4.38
6	11134	0.12	469053	4.93
7	6730	0.07	370404	3.90

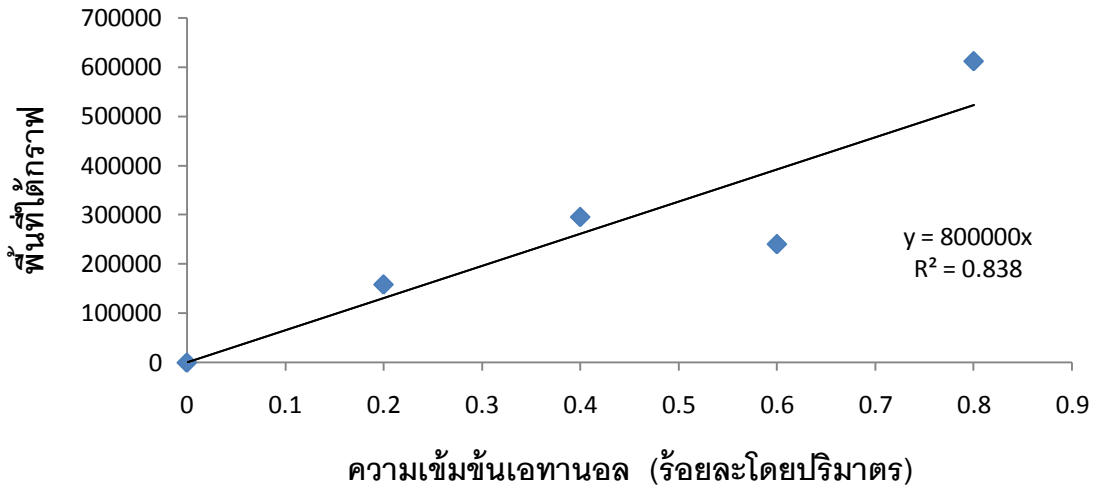


ภาพที่ จ. 8 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3

ตารางที่ จ.12 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)
1	56380	0.67	432022	6.48
2	22253	0.26	447622	6.71
3	119728	1.42	443660	6.65
4	8519	0.10	535335	8.03
5	4889	0.06	624208	9.36

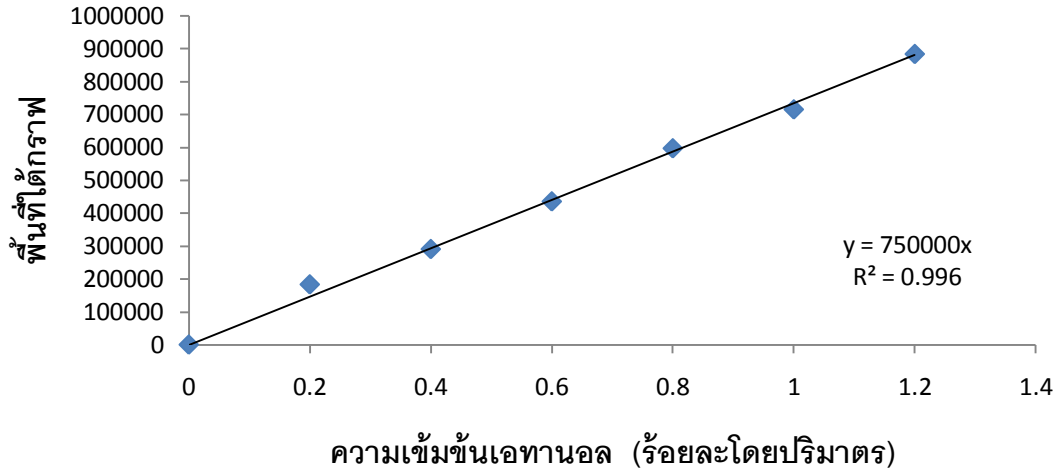
16. ผลการทดลองในขั้นตอนการผลิตเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา (ทดลองในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร)



ภาพที่ จ. 9 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1

ตารางที่ จ.13 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 1

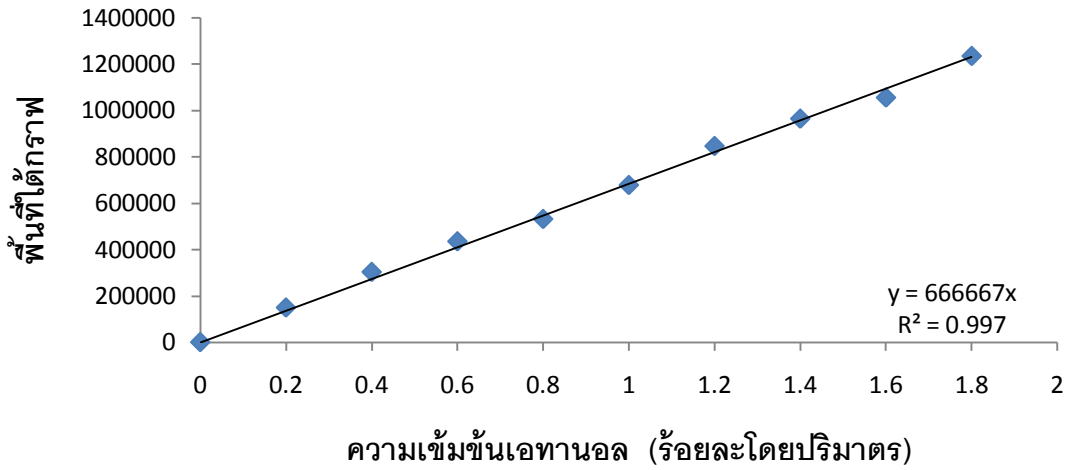
เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)
1	131384	1.30	250126	2.47
2	177688	1.75	423494	4.18
3	5186	0.05	304446	3.00
4	101203	1.00	437044	4.31
5	91344	0.90	174721	1.72
6	80270	0.79	535023	5.28
7	27709	0.27	483482	4.77



ภาพที่ จ. 10 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2

ตารางที่ จ.14 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 2

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)
1	226418	2.38	185126	1.95
2	32830	0.35	388592	4.09
3	38097	0.40	457709	4.82
4	48488	0.51	346046	3.64
5	2428	0.03	436747	4.59
6	49848	0.52	463856	4.88
7	119921	1.26	280540	2.95

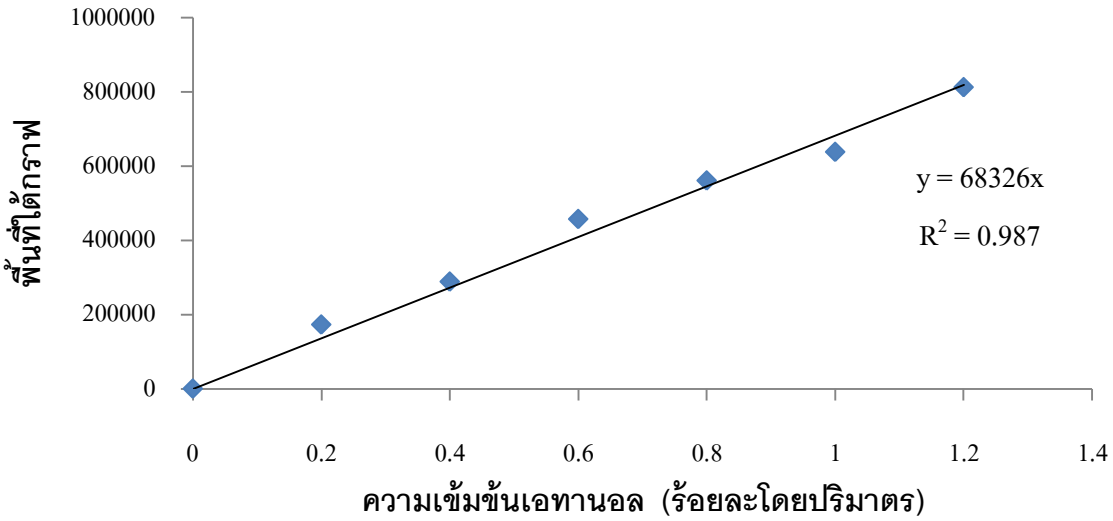


ภาพที่ จ. 11 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3

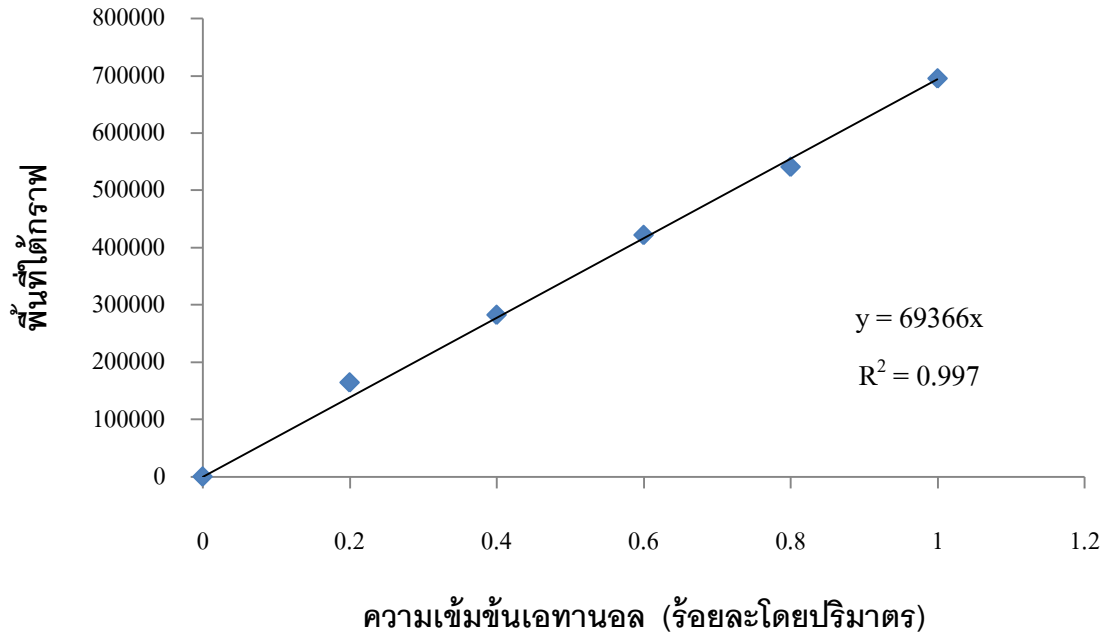
ตารางที่ จ.15 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา การทดลองครั้งที่ 3

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	เอทานอล(ก./ล.)
1	43140	0.51	385328	4.56
2	13159	0.16	456452	5.40
3	12366	0.15	259460	3.07
4	61535	0.73	488340	5.78
5	6667	0.08	317584	3.76

17. ผลการทดลองในขั้นตอนการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร



ภาพที่ จ. 12 กราฟมาตรฐานเอทานอลของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล



ภาพที่ จ. 13 กราฟมาตรฐานเอทานอลของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

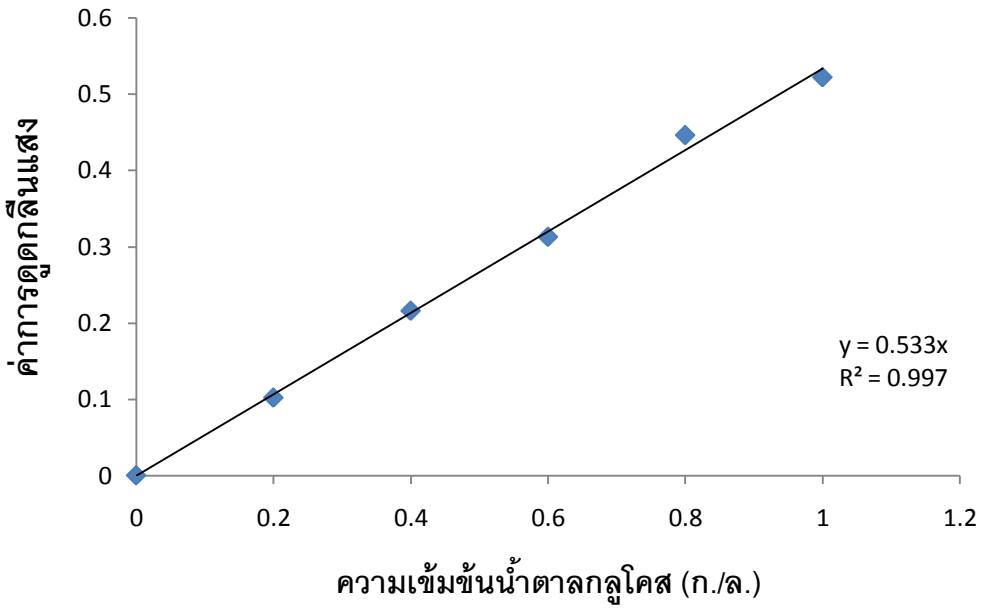
ตารางที่ จ.16 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)
1	337988	3.95	436444	4.92
2	290355	3.39	568041	6.40
3	344781	4.03	607783	6.85
4	430497	5.03	636750	7.18
5	397874	4.65	608728	6.86
6	280736	3.28	650956	7.34
7	313903	3.67	644826	7.27

ตารางที่ จ.17 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก./ก.)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก./ก.)
1	3.95	0.97	4.92	0.83
2	3.39	0.69	6.40	0.87
3	4.03	0.82	6.85	0.91
4	5.03	0.97	7.18	0.98
5	4.65	0.92	6.86	0.93
6	3.28	0.65	7.34	0.99
7	3.67	0.74	7.27	0.98

18. ผลการทดลองอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อการผลิตน้ำตาล ที่อัตราส่วน 1:10 โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ



ภาพที่ จ. 14 กราฟมาตรฐานกลูโคส โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

ตารางที่ จ. 18 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบไม่บีบน้ำออกจากตะกอน

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง *			ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)
	1	2	3		
1	0.413	0.456	0.454	0.441	8.274
2	0.4	0.334	0.368	0.367	6.892
3	0.036	0.04	0.038	0.038	0.713
4	0.059	0.059	0.061	0.060	1.119
5	0.028	0.031	0.027	0.029	0.538

หมายเหตุ * มีค่าความเจือจาง= 10

ตารางที่ จ. 19 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล แบบบีบน้ำออกจากตะกอน

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง *			ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)
	1	2	3		
1	0.438	0.406	0.447	0.430	8.074
2	0.370	0.336	0.363	0.356	6.685
3	0.041	0.041	0.038	0.040	0.750
4	0.057	0.062	0.061	0.060	1.126
5	0.026	0.025	0.026	0.026	0.482

หมายเหตุ * มีค่าความเจือจาง= 10

ตารางที่ จ. 20 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แบบไม่บีบน้ำออกจากตะกอน

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง *			ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)
	1	2	3		
1	0.504	0.515	0.488	0.502	9.425
2	0.463	0.5	0.496	0.486	9.124
3	0.457	0.428	0.432	0.439	8.236
4	0.455	0.445	0.45	0.450	8.443
5	0.467	0.45	0.402	0.440	8.249

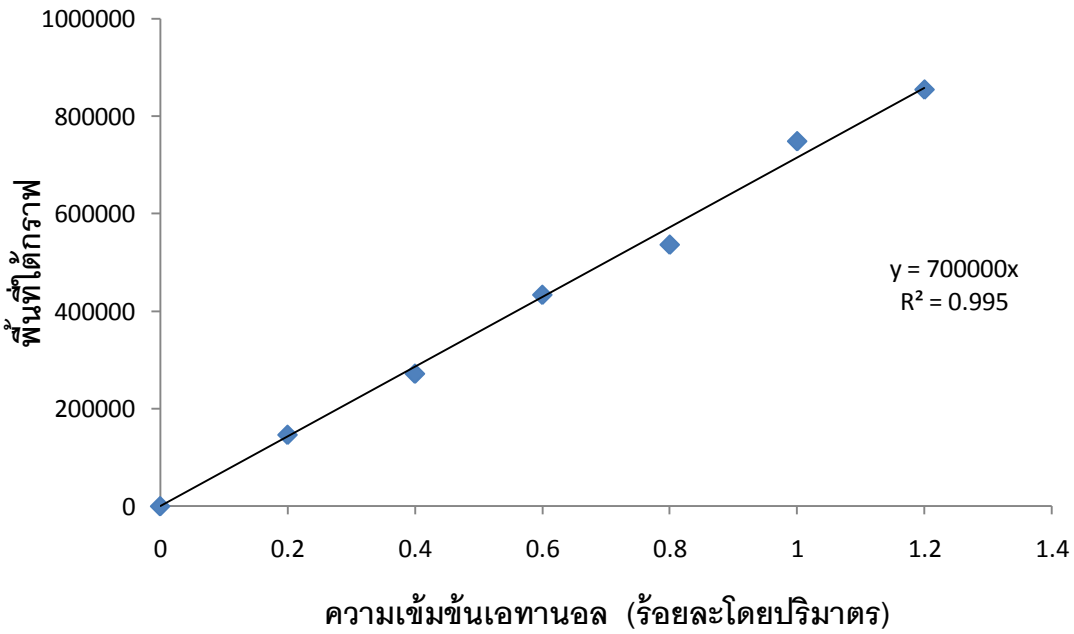
หมายเหตุ * มีค่าความเจือจาง= 10

ตารางที่ จ. 21 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสต่อตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ แบบบีบน้ำออกจากตะกอน

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง *			ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)
	1	2	3		
1	0.507	0.472	0.516	0.498	9.350
2	0.478	0.476	0.456	0.470	8.818
3	0.361	0.455	0.492	0.436	8.180
4	0.455	0.415	0.445	0.438	8.224
5	0.435	0.43	0.423	0.429	8.055

หมายเหตุ * มีค่าความเจือจาง= 10

19. ผลการทดลองการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา (ทดลองในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร) โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ



ภาพที่ จ. 15 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา

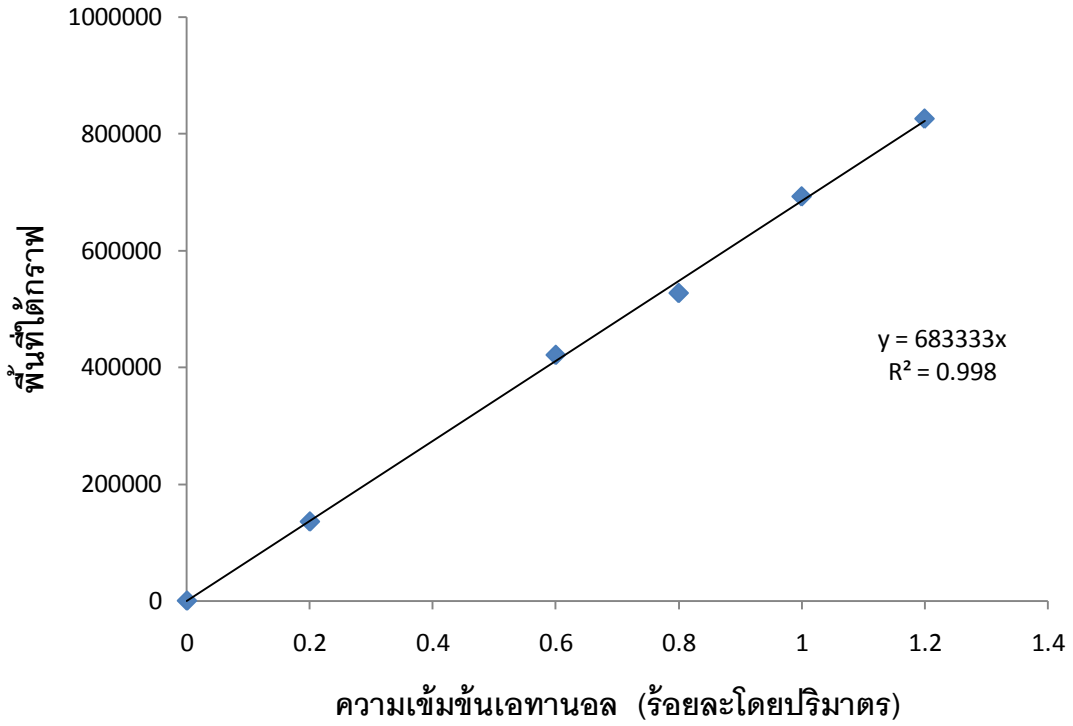
ตารางที่ จ . 22 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)	ปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย (ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย (ก./ล.)
1	1.144	1.03	217053	2.66
	0.813		233210	
	1.144		257333	
2	1.163	1.02	118899	1.27
	1.007		164362	
	0.876		55590	
3	0.944	0.73	80398	0.90
	0.857		74449	
	0.375		83920	
4	0.313	0.27	107692	1.07
	0.250		89660	
	0.250		86449	
5	0.300	0.36	63916	0.71
	0.413		62062	

ตารางที่ จ . 23 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)	ปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย (ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย (ก./ล.)
1	3.615	3.51	263007	3.36
	3.415		332400	
2	1.507	1.40	515559	6.21
	1.338		527940	
	1.363		609321	
3	2.158	2.21	129909	3.78
	2.383		349391	
	2.095		526253	
4	1.839	1.68	293547	4.51
	1.926		554892	
	1.276		351616	
5	1.588	1.54	298443	4.34
	1.445		390670	
	1.595		466961	

20. ผลการทดลองการผลิตเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา (ทดลองในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร) โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ



ภาพที่ จ. 16 กราฟมาตรฐานเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา

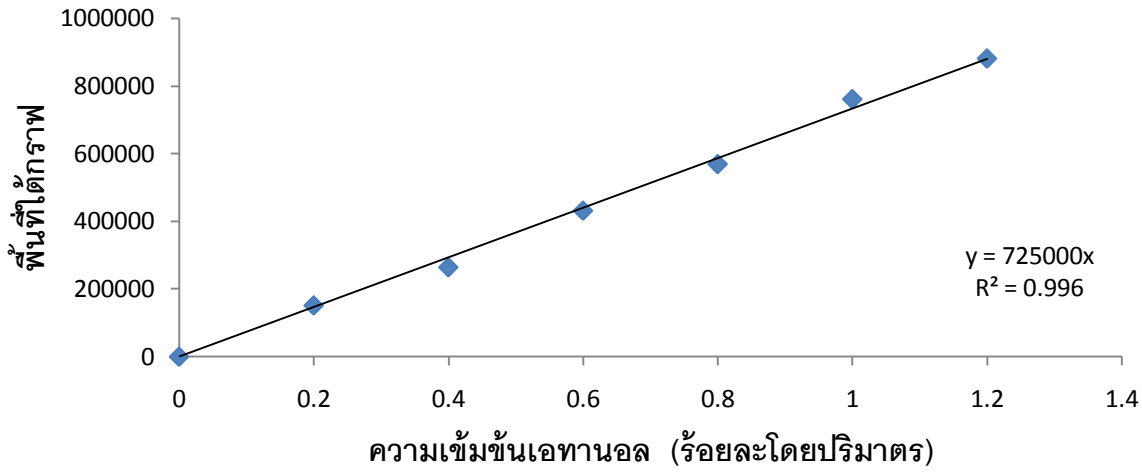
ตารางที่ จ . 24 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ จากกระดาษรีไซเคิล

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)	ปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย (ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย (ก./ล.)
1	0.569	0.54	266657	1.75
	0.663		11945	
	0.381		174885	
2	0.469	0.43	160398	1.76
	0.463		172852	
	0.356		123608	
3	0.394	0.40	127752	1.26
	0.388		4948	
	0.407		194464	
4	0.325	0.29	3138	0.77
	0.281		74294	
	0.250		122489	
5	0.325	0.29	155821	1.02
	0.281		3828	
	0.256		104778	

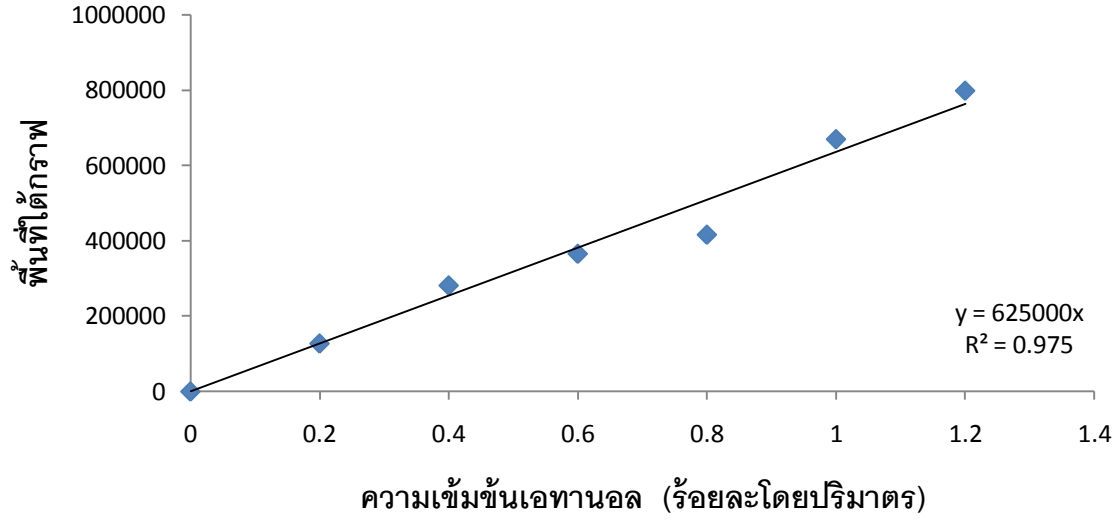
ตารางที่ จ . 25 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบแยกปฏิกิริยา ของตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาล (ก./ล.)	ปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย (ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย (ก./ล.)
1	4.359	3.21	340927	3.59
	1.970		323997	
	3.296		268688	
2	1.445	2.05	229299	6.00
	2.427		686116	
	2.276		642512	
3	2.070	1.97	505073	4.56
	1.932		432194	
	1.901		248683	
4	1.914	1.71	645145	5.65
	1.676		554053	
	1.545		269931	
5	1.107	1.73	592106	4.40
	2.295		335893	
	1.795		215655	

21. ผลการทดลองการผลิตเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ



ภาพที่ จ. 17 กราฟมาตรฐานเอทานอลตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิลโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ



ภาพที่ จ. 18 กราฟมาตรฐานเอทานอลตะกอนน้ำเสียโรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ โดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

ตารางที่ จ.26 พื้นที่ใต้กราฟและปริมาณเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	พื้นที่ใต้กราฟ	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)
1	528409	5.75	447182	5.65
2	383974	4.18	550666	6.95
3	298961	3.25	523782	6.61
4	230728	2.51	522414	6.59
5	294090	3.20	518377	6.54

ตารางที่ จ.27 ผลได้ผลิตภัณฑ์แบบรวมปฏิกิริยาในถังหมักขนาด 5 ลิตรโดยทำให้ตะกอนชุ่มด้วยน้ำ

เวลา (วัน)	ตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย			
	โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษจากกระดาษรีไซเคิล		โรงงานผลิตเยื่อกระดาษและกระดาษ	
	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก./ก.)	ปริมาณเอทานอล (ก./ล.)	ผลได้ผลิตภัณฑ์ (ก./ก.)
1	5.75	0.84	5.65	0.96
2	4.18	0.62	6.95	0.98
3	3.25	0.49	6.61	0.94
4	2.51	0.38	6.59	0.97
5	3.20	0.47	6.54	0.96

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวทิฐิมา วงศ์อารี อายุ 24 ปี เกิดวันที่ 26 พฤศจิกายน พ.ศ. 2530 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนศรีอยุธยา ในพระอุปถัมภ์ฯ กรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2548 สำเร็จการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2552 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปี 2553

การเผยแพร่วิทยานิพนธ์

[1] Titima Wongaree and Petchporn Chawakitchareon. “Ethanol Production from Pulp Mill Wastewater Sludge using Cellulase Enzyme and *Saccharomyces cerivisiae* TISTR 5339”. Thai Environmental Engineering Journal Special Edition on Global Environment. Vol. 1, January – April, 2012. Page 51-55.

[2] Titima Wongaree and Petchporn Chawakitchareon. “Ethanol Production from Pulp Mill Wastewater Sludge using Cellulase Enzyme and *Saccharomyces cerivisiae* TISTR 5339 by Separate Hydrolysis and Fermentation”. The Proceedings of 4th AUN/SEED-Net Regional Conference on Biotechnology: Emerging Biotechnology for Green Engineering, The Montien Hotel, Bangkok, Thailand. 26-27 January, 2012: “MS35”. Page 161-171.

[3] Petchporn Chawakitchareon and Titima Wongaree. “Ethanol Production from Pulp Mill Wastewater Sludge”. The Proceedings of 1st International Conference on Environmental Science, Engineering and Management, Organized by Environmental Engineering Association of Thailand (EEAT), Phowadol Resort & Spa, Chiangrai, Thailand. 21-23 March, 2012. “21R6-10”.