

บทคัดย่อ

ในยุคปัจจุบันกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากสารชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก และอ้อยก็เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ซึ่งเมื่อเกษตรกรเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้วก็จะทิ้งส่วนที่เป็นยอดและใบอ้อยไว้เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ผู้วิจัยจึงเห็นว่าควรจะมีแนวทางในการวิจัยที่จะนำเศษยอดและใบของต้นอ้อยมาใช้ประโยชน์ โดยมีวัตถุประสงค์คือนำเศษยอดและใบอ้อยมาเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์โดยเชื้อรา *Aspergillus tubingensis* HS1-5 และผลิตไบโอเอทานอลจากเศษยอดและใบอ้อย

การศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีของเศษยอดและใบอ้อยในส่วนขององค์ประกอบประเภทลิกโนเซลลูโลสพบว่า มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบสูงถึง 49.14 % (w/w) การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์โดยการออกแบบการทดลองทางสถิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface methods) โดยวิธี Central Composite Design (CCD) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์โดยจะพิจารณาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase เป็นหลักคือใช้เศษยอดและใบอ้อยในปริมาณ 14.1 กรัม Mendel's medium ปริมาตร 33 มิลลิลิตร และ pH เป็น 6.68 ให้ค่าพยากรณ์เท่ากับ 191.33 IU/g solid และค่าจริงที่ได้มีค่าสูงถึง 190.74 IU/g solid และเมื่อขยายขนาดการผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์พบว่าการผลิตในขนาดปริมาตรรวมเท่ากับ 200 กรัม (10 เท่า) มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase CMCase และ β -glucosidase สูงใกล้เคียงกับสภาวะที่หมักในขนาดรวม 20 กรัม

การทดสอบประสิทธิภาพในการปรับสภาพเศษยอดและใบอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักเอทานอล พบว่าการใช้ 1% NaOH และตามด้วย 1% H_2SO_4 ให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ร่วมกับการใช้เซลลูโลสไลติกเอนไซม์ ที่ผลิตโดย *A. tubingensis* HS1-5 ทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดถึง 14.6 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำมาผลิตเอทานอลโดยเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Ethanol production medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หมักเอทานอลโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5339 พบว่ามีการผลิตเอทานอลสูงถึง 5.17 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 และเมื่อขยายขนาดการผลิตเอทานอลเป็นขนาด 20 เท่า ของอัตราส่วนเดิม พบว่ามีการผลิตเอทานอลสูงถึง 31.26 กรัมต่อลิตร ภายหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมักเอทานอล กรองเอทานอลที่หมักนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียดและนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบอาหารสัตว์ พบว่า กากวัสดุหมักที่ได้หลังจากการสิ้นสุดกระบวนการหมักเอทานอลมีคุณสมบัติที่จะนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ โดยนำไปปรับสูตรอาหารเพื่อใช้เป็นอาหารหยาบสำหรับโคนมได้

การทดสอบความคงทนของเซลลูโลสไลติกเอนไซม์ที่อุณหภูมิ -20, 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส โดยการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ FPase CMCase และ β -glucosidase เป็นเวลา 17 สัปดาห์, 13 สัปดาห์, 11 วัน และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าเซลลูโลสไลติกเอนไซม์มีความคงทนมากกว่า 80% เมื่อบ่มที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ดังนั้นการนำเศษยอดและใบอ้อยที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสที่สูงเมื่อถูกย่อยสลายจะได้น้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นแหล่งที่เหมาะสมในการนำไปใช้มาเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์และการผลิตไบโอเอทานอล ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญและมีมูลค่าสูงได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งกากวัสดุหมักที่ได้หลังจากการสิ้นสุดกระบวนการหมักเอทานอลมีคุณสมบัติที่จะนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของเศษยอดและใบอ้อยได้อีกทางหนึ่งได้ในอนาคต

Abstract

In the recently, lignocellulosic feedstocks are gaining great interest for bioethanol production. Sugar cane as well-known as plays an important role in Thailand crop. The agriculture residue of sugar cane which farmer always leaves after harvest production both top and sugar cane leave. So the researcher interested for value adds of the waste. The aim of this research, to enhance effectiveness of cellulolytic enzyme production from *Aspergillus tubingensis* and bioethanol by sugar cane top and leaves.

The sugar cane chemical composition was investigated for the component of lignocelluloses which reach 49.14% (w/w). In the order to the optimal condition for high effectiveness production of cellulolytic enzyme was tested by designed statistic experiment as response surface methods following Central Composite Design (CCD) and the optimal conditions for producing cellulolytic enzyme mainly based on FPase activity as 14.1 g of mixed sugar cane top and leave that blending with 33 mL of Mendel's medium and adjust pH at 6.68 which showed the forecast values at 191.33 IU/g solid and the fact value also reach 190.74 IU/g solid. Moreover, the enlargement of cellulolytic enzyme production by using total volume was 200 g (10-fold). The enzymatic activity as FPase, CMCase and Beta-glucosidase were also resemble to the ferment condition at 20g total size.

The optimal pretreatment condition was 1% of NaOH and 1% of H₂SO₄ at 121° C for 60 minutes and the reducing sugar reach 14.6 g/L. The ethanol production process also produced sugar after pretreatment and added 100 mL of ethanol production medium and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5339. From the condition that mentioned before the ethanol product reach 5.17 g/L at 24 hours after fermentation and when rise the scale of ethanol production to 20-fold, the ethanol product highest was 31.26 g/L. After ethanol fermentation, the hydrolysis of substrate was separated and dried at 80° C for 24 hours and gained. Proximate analysis was also determined. The results showed that, the fermented residues after ethanol fermentation had high efficiency for apply to improve the daily cow feed.

The stability of cellulolytic enzymes were determined for 17 weeks, 13 weeks, 11 days and 24 hours by varies temperature at -20, 4, 30 and 45°C. The stability of cellulose enzyme has more than 80%. From the result can indicate that the top and leave of sugar cane has high cellulose composition and after digested them will be the good carbon source as glucose sugar which play a vital role in cellulolytic enzyme production and bioethanol

production. Both cellulolytic enzyme and bioethanol are an important energy source and valuable. Moreover, value added of the end of fermented residues after ethanol fermentation for the daily cow feed will be improved.