

ของเสียจากอุตสาหกรรมกระดาษส่วนใหญ่มีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลสในปริมาณร้อยละ 35-50 ของน้ำหนักแห้ง และมีคุณสมบัติที่ดีในการนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทน ในการย่อยสลายของเสียในสภาวะไร้อากาศเป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อนประกอบด้วยการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่มทำงานร่วมกัน เมื่อทำการพิจารณาถึงการย่อยสลายเซลลูโลสโดยทั่วไปพบว่าปฏิกิริยาเป็น rate-limiting step เนื่องจากการย่อยสลายเซลลูโลสเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ซึ่งโดยส่วนใหญ่ใช้เวลานานและเป็นกระบวนการที่ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นการย่อยสลายเซลลูโลสจึงขึ้นอยู่กับอัตราการผลิตและกิจกรรมของเซลล์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มอัตราเร็วในขั้นตอนไฮโดรไลซิสโดยการเพิ่มการผลิตเอนไซม์อื่นจะส่งผลให้การผลิตก๊าซชีวภาพมีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยมีสมมุติฐานคืออัตราการผลิตเซลลูโลสขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเซลลูโลส pH และกรดอะซิติก โดยทำการศึกษากับ *Bacillus coagulans* ซึ่ง *B. coagulans* เป็นจุลินทรีย์หลักที่พบในถังหมักก๊าซชีวภาพจากเปลือกสับปะรดที่อุณหภูมิปานกลาง การศึกษานี้เป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เพื่อส่งเสริมให้เกิดการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสโดยแบ่งการศึกษาดังกล่าวออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาถึงคุณสมบัติของเอนไซม์เพื่อผลิตเซลลูโลสให้ได้ปริมาณสูงที่สุด ทั้งนี้พบว่า *B. coagulans* ผลิตเซลลูโลสสูงที่สุดได้ 6.0 IU/l ที่ pH 7 และทำงานได้ดีในช่วง pH ที่แคบ เมื่อทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสและมีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ถึงร้อยละ 18.6 ส่วนที่สองเป็นการทดลองศึกษาเพื่อหาตัวแปรทางเคมีศาสตร์ของระบบของการย่อยสลายเซลลูโลสโดยเซลลูโลส โดยศึกษาถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของเซลลูโลสและกรดอะซิติก พบว่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาเอนไซม์ขึ้นกับความเข้มข้นของเอนไซม์และสับเสตรา อัตราการผลิตเซลลูโลสสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเซลลูโลสสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเซลลูโลสมากกว่า 4 กรัม/ลิตร พบว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการผลิตเอนไซม์ ในกรณีศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0, 10, 30, 40 และ 60 มิลลิโมลลาร์ พบว่าอัตราการผลิตเซลลูโลส และการย่อยสลายเซลลูโลสลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะซิติก จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเซลลูโลสที่มากเกินไปไม่มีผลต่อการผลิตเซลลูโลส แต่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้การผลิตเซลลูโลสลดลง โดยพบว่าได้กรดแลคติก กรดอะซิติก และเอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ส่วนที่ 3 เนื่องจากแบบจำลองจลศาสตร์ของการหมักเป็นเครื่องมือสำคัญ ที่สามารถนำไปประยุกต์เพื่อใช้ในการออกแบบและควบคุมระบบการย่อยสลายเซลลูโลสได้ ในการศึกษานี้ได้สร้างแบบจำลองของการย่อยสลายเซลลูโลสโคส โดยอ้างอิงกับผลที่ได้จากการศึกษาทดลองในส่วนที่ 1 และ 2 โดยการเพิ่มพจน์การยับยั้งของผลิตภัณฑ์ (กรดอะซิติก) และ pH เข้าไปในแบบจำลอง แบบจำลองที่ได้สามารถทำนายการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสโดยเซลลูโลสเอมัลชันเป็นกลูโคส และการเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดอินทรีย์ได้ ซึ่งผลจากการศึกษาพบว่ากรดอะซิติกที่พบในสารอาหารมีผลต่อการผลิตเซลลูโลสโดยมีค่าคงที่ในการยับยั้งการผลิตเซลลูโลส ( $K_{a2}$ ) ที่ 25.50 มิลลิโมลลาร์ และมีดีกรีของการยับยั้ง( $n_2$ ) เท่ากับ 7.65 มากกว่ามีผลต่อปฏิกิริยาของเซลลูโลสโดยพบว่าค่าคงที่ในการยับยั้งการผลิตเซลลูโลส ( $K_{a1}$ ) ที่ 30.28 มิลลิโมลลาร์ และมีดีกรีของการยับยั้ง( $n_1$ ) เท่ากับ 4.65 และ pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสคือ pH 5.3 ถึง 8.3 ในขณะที่ pH ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเซลล์คืออยู่ระหว่าง pH 2.6 ถึง 7.2 นั่นคือในการส่งเสริมให้เกิดการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสควรควบคุมไม่ให้มีกรดอะซิติกมากกว่า 25 มิลลิโมลลาร์ และรักษา pH ไว้ที่ pH 7

Cellulose is a main polymer of these biodegradable organic wastes, in the order of 35-50% and a good source for renewable energy. These anaerobic processes are complex, with a consortium of microorganisms responsible for the production of specific enzyme mixture necessary for effective breakdown of the polymeric substrates. Hydrolysis of cellulose, however, is generally considered as the rate-limiting step in the overall anaerobic degradation. In addition, enzymatic cellulose hydrolysis is generally a slow and incomplete process. One very successful approach has been to increase the productivity of cellulase production by optimizing culture conditions. This study aims to increase the rate of hydrolysis step in order to increase the efficiency of biogas production by increased cellulolytic enzyme production. Based on the hypothesis, the rates of cellulase production are relied on cellulose concentration, pH and acetic acid. *B. coagulans* used in this study is the dominant of hydrolytic fermentative bacteria in mesophilic digester treated pineapple peel. The experiments were carried out to evaluate and determine the suitable working condition for enhancement of cellulose hydrolysis by cellulolytic enzyme. Part I of this study, the effect of initial pH for an optimized cellulase activity from *B.coagulans* was pH 7, there is a pH at which its activity is greatest, and works within quite a small pH range. the optimum time of cellulase production of cellulose have been obtained. Under the optimal time, the content of cellulase can reach to 6.0 IU/l at 8<sup>th</sup> hr, the percentage of cellulose conversion is about 18.6% based on the amount of consumed sugar. Part II, experiments were carried out to determine kinetic parameters of a cellulose-cellulase system. The effect of cellulose and acetic acid concentration was investigated. For a given concentration, the rate of reaction increases with increasing substrate concentration up to 4 g/l of cellulose. When increased cellulose concentration higher than 4 g/l, cellulose productivity was no significant changed. In case of acetic acid concentration variation (0, 10, 30, 40 and 60 mM) experiment, the rate of cellulase production decreased while acetic acid concentration was increased from 0 to 60 mM. At lower acetic acid concentration, the cellulase productivity was higher than high concentration of acetic acid. Therefore cellulose removal had decreased when acetic acid concentration increased. The results illustrated that the cellulase production was affected by acetic acid concentration in solution. In both set of experiments, three main products namely, lactic acid, acetic acid and ethanol were found.

Part III, the kinetic modeling was considered as a tool to design and control anaerobic cellulose hydrolysis process. In this study, the kinetic model of this process was developed based on experimental data from part I and II. The inhibition effects of the product (acetic acid) and pH were taken into account. The model algorithm included a simultaneous cellulose hydrolysis by the enzyme cellulase to glucose, and a fermentation of glucose to VFAs. The best results was observed that acetic acid in the culture medium had effect to cellulase production ( $K_{ai2} = 25.50$  mM, and  $n2 = 7.65$ ) more than cellulase reaction ( $K_{ai1} = 30.28$  mM, and  $n1 = 4.65$ ). The suitable pH for cellulase production was pH 5.3-8.3, and range of pH on cellulase reaction was 2.6-7.2. To enhance the cellulose hydrolysis rate, accumulated acetic acid could control not over 25 mM and pH should maintained at 7.