RMUTSV
SK074074

66038

รายงานการวิจัย

การพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยจุลินทรีย์ชอบร้อน

Development of ethanol production process from cellulose of oil palm frond by anaerobic-thermophilic bacterium

662.6692
น6164
2556

นพดล โพชกำเหนิด Noppadon Podkumnerd
มนู จิตรสิงห์ Manu Jitrsing
สมพงศ์ โอทอง Sompong O-Thong

10 มหาสารคาม — กรุงเทพฯ

คณะศิลปศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. ๒๕๕๖

การพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน โดยจุลินทรีย์ชอบร้อน

นพดล โพชกำเหนิด[1] มนู จิตรสิงห์[1] และ สมพงศ์ โอทอง[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากใบทางปาล์มน้ำมันโดยจุลินทรีย์ชอบร้อน เริ่มจากการการสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยวิธีต่างๆ พบว่าวิธีเคมีโดยใช้ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการปรับสภาพทางใบปาล์มน้ำมันได้เหมาะสมที่สุดโดยได้เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 68.52±4.45 8.79±0.47 และ 22.69±1.50 ตามลำดับ วิธีทางเคมีและกายภาพโดยใช้ร้อยละ 1.0 เอทานอลร่วมกับไมโครเวฟเป็นเวลา 10 นาทีให้ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 65.40±3.69 10.33±0.32 และ 26.28±1.66 ตามลำดับ และวิธีทางกายภาพ โดยใช้การระเบิดไอน้ำที่อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ให้ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 54.11±3.53 12.91±0.63 และ 32.98±2.34 ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการนำเซลลูโลสที่ได้ไปทำการย่อยสลายให้กลายเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ CTec2 พบว่า เซลลูโลสที่ได้จากการเตรียมโดยใช้ร้อยละ 2.0 โซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด คือ 51.39±3.49 กรัมต่อลิตร และสุดท้ายนำน้ำตาลที่ได้ไปทำการผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรียทนร้อน สายพันธุ์ *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2 พบว่าปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุดได้จากน้ำหมักด้วยร้อยละ 2.0 โซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีปริมาณเอทานอลร้อยละ 1.65±0.08

คำสำคัญ: เอทานอล เซลลูโลส ทางใบปาล์มน้ำมัน จุลินทรีย์ชอบร้อน

[1] คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.เมือง จ.สงขลา

[2] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง

Development of ethanol production process from cellulose of oil palm frond by anaerobic-thermophilic bacterium

Noppadon Podkumnerd [1] Manu Jitrsing[1] and Sompong O-Thong[2]

Abstract

This report aims to developed ethanol production process from oil palm frond by anaerobic thermophilic bacterium. Cellulose from oil palm frond was extracted by various methods and found that presoaking with 2.0% NaOH for 48 hours gave the best cellulose extraction performance. The composition of extracted cellulose was composed of cellulose hemicelluloses and lignin of 68.52±4.45 8.79±0.47 and 22.69±2.65%, respectively. Pretreatment oil palm frond by chemical and physical process with 1.0% ethanol and microwave for 10 min gave the composition of extracted cellulose composing of cellulose hemicelluloses and lignin of 65.40±3.69 10.33±0.32 and 26.28±1.66%, respectively. Physical pretreatment by steam explosion at 230 °C for 2 min gave the composition of extracted cellulose composing of cellulose hemicelluloses and lignin of 54.11±3.53 12.91±0.63 and 32.98±2.34 %, respectively. Extracted cellulose was hydrolysis by cellulase enzyme (CTec2) and found that extracted cellulosed from 2.0% NaOH pretreatment gave the highest reducing sugar release of 51.39±3.49 g/l. Subsequently, sugar was fermented by anaerobic thermophilic bacterium *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2 and gave ethanol concentration of 1.65±0.08%

Keywords: ethanol; cellulose; oil palm frond; anaerobic-thermophilic mixed cultures

.....

[1] Faculty of Liberal Arts. Rajamangala University of Technology Srivijaya, Mueang, Songkhla.

[2] Faculty of Science Thaksin University Phattalung Campus, Bhapayom Phattalung.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลา ที่ได้ให้การสนับสนุนมอบทุนอุดหนุนงานวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. ๒๕๕๖ ขอขอบคุณอาจารย์ประจำหลักสูตรรายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่มีส่วนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นพดล โพชกำเหนิด
มนู จิตรสิงห์
สมพงศ์ โอทอง
สิงหาคม ๒๕๕๗

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

พลังงานนับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญในการพัฒนาประเทศในทุกๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นการผลิตในงานอุตสาหกรรมต่างๆ การขนส่ง การผลิตไฟฟ้า และงานบริการอื่นๆ อีกหลายประเภท แหล่งที่มาของพลังงานของโลกในปัจจุบันส่วนใหญ่มาจากฟอสซิล คิดเป็นร้อยละ 80 โดยประมาณ ในขณะที่ร้อยละ 14 มาจากชีวมวล ซึ่งเป็นพลังงานที่สำคัญที่สุดในขณะนี้ โดยประมาณ 1 ใน 4 ของพลังงานชีวมวลใช้ในโลกใช้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว อีก 3 ใน 4 ที่ใช้ในโลกที่กำลังพัฒนา (Parrikka, 2004) ประเทศไทยมีความต้องการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงในด้านการคมนาคมขนส่งมากที่สุดจากการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงทั้งหมดซึ่งปัจจุบันพลังงานในประเทศไทยนั้นไม่เพียงพอที่จะตอบสนองต่อความต้องการได้ทั้งหมด ต้องนำเข้าแหล่งพลังงานมาจากต่างประเทศ เช่น ผลิตภัณฑ์น้ำมันปิโตรเลียม ทำให้ต้องสูญเสียเงินตราให้กับต่างประเทศเป็นจำนวนมากในแต่ละปี (นคร, 2553) โดยในปี พ.ศ. 2552 มีการนำเข้าพลังงาน มีมูลค่ารวม 760,986 ล้านบาท (พลังงานกระทรวง, 2554)

จากการที่ราคาน้ำมันที่เพิ่มสูงขึ้นรวมทั้งวิกฤตการณ์น้ำมันทำให้ประเทศไทย และประเทศอื่นๆหันไปแสวงหาและพัฒนาพลังงานทดแทนในรูปแบบต่างๆ แทนการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ โดยพลังงานที่สามารถนำมาแทนน้ำมันเชื้อเพลิงได้คือ เอทานอล เนื่องจากเอทานอลสามารถผลิตจากวัตถุดิบที่เป็นทรัพยากรธรรมชาติ ประเภทที่สามารถสร้างขึ้นมาทดแทนได้ (renewable resource) จึงได้รับความสนใจอย่างมาก ประเทศไทยมีนโยบายสนับสนุนการผลิตพลังงานเพื่อมาทดแทนน้ำมันที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งการผลิตเอทานอลสามารถผลิตได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น มันสำปะหลัง และกากน้ำตาล ในปี 2553-2554 ราคามันสำปะหลังสูงขึ้นเป็นกิโลกรัมละประมาณ 3-4 บาท ส่วนกากน้ำตาลในต่างประเทศมีความต้องการสูงทำให้ราคากากน้ำตาลของตลาดโลกสูงขึ้น โรงงานผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลก็จะพบกับปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบ (สวลี, 2554)

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ปลูกมากในจังหวัดภาคใต้ของไทย ซึ่งจังหวัดที่ถือว่าเป็นเขตเศรษฐกิจปาล์มน้ำมัน ได้แก่ จังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูล ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ระนอง นครศรีธรรมราช สงขลา และพังงา โดยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งสิ้น ประมาณ 2.37 ล้านไร่ในปี 2549 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) และมีความสำคัญมากขึ้นเป็นลำดับ เนื่องจากรัฐบาลได้ให้ความสำคัญในเรื่องส่งเสริมพื้นที่การเพาะปลูกเพิ่มเป็น 3.5 ล้านไร่ภายในปี 2552 เพื่อเพิ่มปริมาณวัตถุดิบทะลายปาล์มที่จะป้อนเข้าสู่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เพื่อให้มีน้ำมันดิบสำหรับการแปรรูปเป็นไบโอดีเซล อุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันมีวัสดุเศษเหลือที่เป็นมวลชีวภาพประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic biomass) จำนวนมาก เช่น ต้นปาล์มที่ตัดทิ้งหลังจากต้นปาล์มมีอายุมาก (>25 ปี) และมีผลผลิตน้อย (70 ตันน้ำหนักแห้งต่อเฮกแตร์ของพื้นที่ปลูกปาล์ม (Kee, 2004) ทางใบปาล์มน้ำมันเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

ที่เกิดจากที่การเก็บเกี่ยวผลปาล์มน้ำมันทุกๆ 15 วัน ส่งผลให้มีวัสดุเหลือใช้ประเภทนี้เหลืออยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน จะพบว่ามีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลส (40-50%) เฮมิเซลลูโลส (20-35%) และลิกนิน (16-29%) งานวิจัยที่มาก่อนหน้านี้ได้มุ่งเน้นวิธีการนำส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสในวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส มาใช้ประโยชน์โดยนำวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลสมาผ่านการย่อยโดยวิธีต่างๆ เช่น การใช้กรดอ่อนร่วมกับการให้ความร้อน จากวิธีการดังกล่าว ส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส (33%) ในวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลสจะถูกย่อยสลาย และได้น้ำตาลเป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเสต ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นสับเสตรทในการผลิตพลังงานทดแทน เช่น เอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Cheng *et al*., 2008)

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอลโดยชีววิธีโดยมากแล้ว ได้แก่ ยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งส่วนมากจะใช้น้ำตาลโมเลกุลต่ำ ในการผลิตเอทานอล ไม่สามารถใช้เซลลูโลสที่มีองค์ประกอบที่ซับซ้อนได้โดยตรง ซึ่งในกระบวนการผลิตเอทานอลจึงจำเป็นจะต้องทำการย่อยสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลต่ำก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตต่อไป โดยการย่อยสลายเซลลูโลสทำได้หลายวิธี เช่น การใช้เอ็นไซม์ และสารเคมีร่วมกับความร้อน เนื่องจากวิธีการเหล่านี้มีต้นทุนสูง หรือต้องใช้ปฏิกิริยาที่รุนแรง กระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มชอบร้อนได้รับความสนใจมากในการผลิตเอทานอล เนื่องจากจุลินทรีย์ในกลุ่มชอบร้อนมีเอ็นไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี และมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่รวดเร็วกว่ายีสต์ กระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิสูง (60-70 องศาเซลเซียส) มีข้อดีกว่าการหมักที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) การหมักที่อุณหภูมิสูงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีและเอ็นไซม์ เพิ่มค่า thermodynamic favorability ของปฏิกิริยา ลดการละลายของ H_2 และ CO_2 ในน้ำหมัก ลดความหลากหลายของผลผลิตจากการหมัก ทำให้ง่ายต่อการทำให้บริสุทธิ์ เชื้อจุลินทรีย์ชอบร้อนส่วนใหญ่ผลิตเอ็นไซม์ขับออกมานอกเซลล์ในการย่อยสลายไบโอพอลิเมอร์ต่างๆ และการหมักที่อุณหภูมิสูงทำให้น้ำหมักปราศจากเชื้อก่อโรคและปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ (van Groenestijn *et al*., 2002; van Niel *et al*., 2003; O-Thong *et al*., 2008)

จากปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบจากการเกษตรเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนาการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน ซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมาก เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลสได้สูงสุด โดยจะทำการละลายเอาส่วนที่เป็นเซลลูโลสออกจากลิกนินโดยใช้กรด เบส และการระเบิดด้วยไอน้ำ หลังจากนั้นจะทำการสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์เซลลูเลส และทดลองการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันในกระบวนการหมักแบบกะ โดยใช้ยีสต์และจุลินทรีย์ในกลุ่มชอบร้อน (60-70 องศาเซลเซียส) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล ซึ่งผลที่ได้จะเป็นการเพิ่มทางเลือกในการผลิต เอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน ลดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล กระตุ้นให้เกิดการใช้ประโยชน์จากต้นปาล์มน้ำมันอย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยให้ลดการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศ ลดลดภาวะเรือนกระจก (Green house effect) อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์ปลักของโครงการวิจัย คือการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์หลัก จึงแบ่งวัตถุประสงค์ย่อยออกเป็น 4 ข้อ ดังนี้

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมัน โดยใช้วิธีการสกัดด้วย กรด เบส การใช้ไอน้ำ และการใช้คลื่นไมโครเวฟ

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการปฏิกิริยาย่อย (Hydrolysis) เซลลูโลสที่ได้จากการสกัดให้กลายเป็นน้ำตาลโดยใช้กรดและเอนไซม์

3. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมัน ในกระบวนการหมักแบบกะ โดยใช้ยีสต์และจุลินทรีย์ในกลุ่มชอบร้อนสูง (60-70 องศาเซลเซียส)

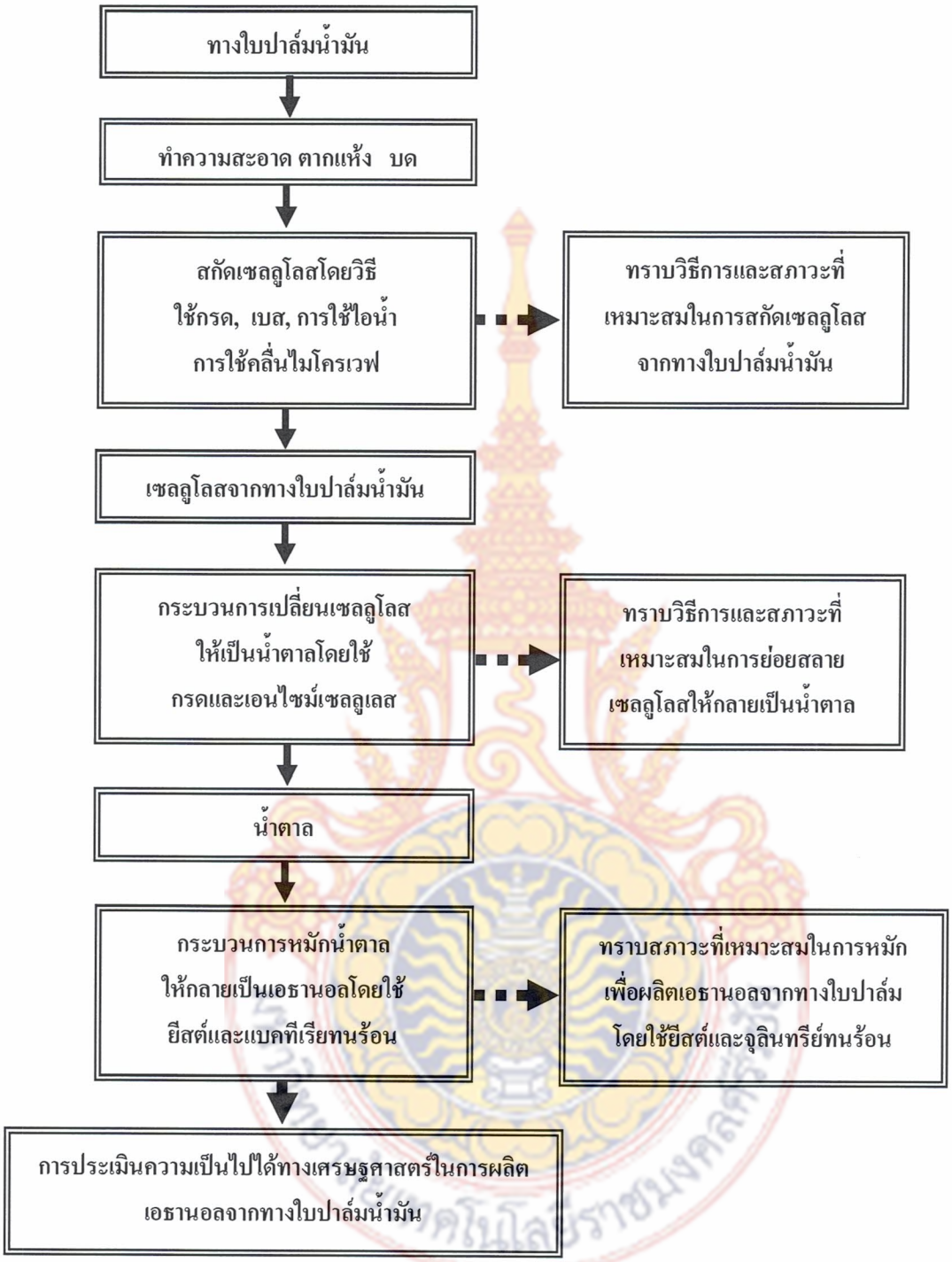
4. เพื่อประเมินความเป็นไปได้ทางด้านเศรษฐศาสตร์ในการลงทุนผลิตเอทานอลจากทางปาล์มน้ำมัน

1.3ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการ และนำองค์ความรู้ไปพัฒนาระบบผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน โดยทำการแยกเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมัน โดยใช้กรด เบส การใช้ไอน้ำ และคลื่นไมโครเวฟ หลังจากนั้นจะนำเซลลูโลสที่ได้ไปทำปฏิกิริยาย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลโดยใช้กรดและเอนไซม์ และนำน้ำตาลที่ได้ไปผลิตเอทานอลโดยยีสต์และกลุ่มจุลินทรีย์ชอบร้อนที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลโดยใช้วิธีการหมักแบบกะ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ทางใบปาล์มมีส่วนประกอบของโพลิแซคคาไรด์หลายชนิด เช่น เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเมื่อนำมาไฮโดรไลซ์จะได้น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส ที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักได้ และส่วนที่เหลือจากการย่อยสลายข้างต้นเป็นของแข็งประกอบด้วยเซลลูโลสและลิกนิน โดยที่เซลลูโลส สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วย จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ชอบร้อน ไฮโดรไลเสตที่ได้จากจากการย่อยสลายจะประกอบไปด้วยน้ำตาลโมเลกุลต่ำซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เป็นสับเสตรทในการผลิตเอทานอลได้


ทางใบปาล์มน้ำมัน
ทำความสะอาด ตากแห้ง บด
สกัดเซลลูโลสโดยวิธี
ใช้กรด, เบส, การใช้ไอน้ำ
การใช้คลื่นไมโครเวฟ
ทราบวิธีการและสภาวะที่
เหมาะสมในการสกัดเซลลูโลส
จากทางใบปาล์มน้ำมัน
เซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมัน
กระบวนการเปลี่ยนเซลลูโลส
ให้เป็นน้ำตาลโดยใช้
กรดและเอนไซม์เซลลูเลส
ทราบวิธีการและสภาวะที่
เหมาะสมในการย่อยสลาย
เซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาล
น้ำตาล
กระบวนการหมักน้ำตาล
ให้กลายเป็นเอธานอลโดยใช้
ยีสต์และแบคทีเรียทนร้อน
ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก
เพื่อผลิตเอธานอลจากทางใบปาล์ม
โดยใช้ยีสต์และจุลินทรีย์ทนร้อน
การประเมินความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิต
เอธานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 ปาล์มน้ำมัน (Oil palm)

รูปที่ 1 ลักษณะโดยทั่วไปของปาล์มน้ำมัน

การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์ (Wikipedia, 2011a)

อาณาจักร	Plantae
ส่วน	Magnoliophyta
ชั้น	Liliopsida
อันดับ	Arecales
วงศ์	Arecaceae
สกุล	Elaeis
สปีชีส์	*E. guineensis*
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Elaeis guineensis* Jacq

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ปลูกมากในจังหวัดภาคใต้ของไทย ซึ่งจังหวัดที่ถือว่าเป็นเขตเศรษฐกิจปาล์มน้ำมัน ได้แก่ จังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูล ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ระนอง นครศรีธรรมราช สงขลา และพังงา โดยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งสิ้น ประมาณ 2.37 ล้านไร่ในปี 2549 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) และมีความสำคัญมากขึ้นเป็นลำดับ เนื่องจากรัฐบาลได้ให้ความสำคัญในเรื่องส่งเสริมพื้นที่การเพาะปลูกเพิ่มเป็น 3.5 ล้านไร่ภายในปี 2552 เพื่อเพิ่มปริมาณวัตถุดิบทะลายปาล์มที่จะป้อนเข้าสู่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เพื่อให้มีน้ำมันดิบสำหรับการแปรรูปเป็นไบโอดีเซล อุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันมีวัสดุเศษเหลือที่เป็นมวลชีวภาพประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic biomass) จำนวนมาก อย่างเช่น ต้นปาล์มที่ตัดทิ้งหลังจากต้นปาล์มมีอายุมาก (>25 ปี) และมีผลผลิตน้อย (70 ตันน้ำหนักแห้งต่อเฮกแตร์ของพื้นที่ปลูกปาล์ม (Kee, 2004) ทางใบปาล์มที่ตัดทิ้งทุกๆ 15 วันพร้อมกับการเก็บเกี่ยวผลปาล์ม นอกจากนี้สวนปาล์มโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบมีชีวมวลเศษเหลือจำนวนมากอย่างเช่น เส้นใยปาล์ม กะลาปาล์ม ทะลายปาล์มเปล่า ประมาณ 9.66, 5.20 และ 17.08 ล้านตันต่อปีตามลำดับ เมื่อพิจารณาองค์กอบของชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน (ตารางที่ 3) จะพบว่า มีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลส (40-50%) เฮมิเซลลูโลส (20-35%) และลิกนิน (16-29%) โดยเฉพาะอย่างยิ่งลำต้นปาล์มน้ำมันที่มีเฮมิเซลลูโลสสูงถึง 34% โดยเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนที่น่าสนใจ เนื่องจากมีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลเพนโตส และน้ำตาลเฮกโซส หากมีการนำมาผ่านกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสมจะสามารถนำไปใช้เป็นสับเสตรท ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตพลังงานทดแทน คือ ไฮโดรเจน ได้ ทั้งนี้งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการย่อยส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสจาก lignocellulosic materials เช่น ชานอ้อย พบว่า ได้น้ำตาลกลูโคส และไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักในไฮโดรไลเสต ซึ่งสมารถนำไปใช้เป็นสับเสตรทในการผลิตพลังงานทดแทน เช่น เอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Cheng *et al*., 2008)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน

องค์ประกอบ	องค์ประกอบชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน (wt.%)			
	ทลายเปล่า	ทางใบ	เปลือก	ลำต้น
เถ้า	1.3	2.4	5.6	NA
ลิกนิน	20.4	20.5	28.5	16.5
โฮโลเซลลูโลส	82.4	83.5	59.0	NA
เซลลูโลส	44.2	49.8	NA	41.0
เฮมิเซลลูโลส	33.5	NA	20.8	34.0
ไซโลส	31.1	NA	NA	NA
กลูโคส	66.4	NA	NA	NA
อ้างอิง	Law *et al*. (2007)	Abdul Khalil *et al*. (2006)	Koba and Ishizaki (1990)	Punsuvon *et al*. (2005)

รูปที่ 2 ต้นปาล์มน้ำมัน สวนของคุณไพรัช กังก๋ง

รูปที่ 3 การตัดทางปาล์มเพื่อแต่งต้นปาล์มน้ำมัน

รูปที่ 4 ต้นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการผ่านการตัดแต่งทางปาล์มแล้ว

รูปที่ 5 ทางปาล์มน้ำมันที่ตัดทิ้ง

2.1.2 ผนังเซลล์ของพืช

ผนังเซลล์ (Cell wall) ชั้นที่ล้อมเซลล์ซึ่งอยู่ถัดจากชั้นของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำหน้าที่เป็นตัวค้ำจุนโครงสร้าง ปกป้องเซลล์ และกลไกคัดกรองสาร ผนังเซลล์ยังมีหน้าที่ป้องกันการขยายตัวมากเกินไปหากน้ำไหลผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ มักพบอยู่ในพืช แบคทีเรีย อาร์เคีย เห็ดรา สาหร่าย แต่ไม่พบในสัตว์และโพรทิสต์ (Wikipedia, 2011b)

ผนังเซลล์ของพืชประกอบด้วยโปรตีนและพอลิแซ็กคาร์ไรด์ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และเพกติน (Pectin) ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน อาจแตกต่างกันบ้างเล็กน้อยขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อ (Darvill *et al.*, 1980) พอลิแซ็กคาร์ไรด์เหล่านี้มีอยู่ประมาณร้อยละ 90-95 โดยมีโปรตีนเพียงร้อยละ 5-10 เท่านั้น (Gross, 1990)

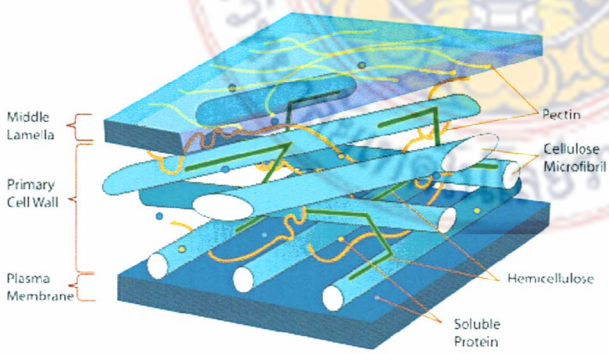
2.1.2.1 การประกอบของผนังเซลล์ของพืช

ผนังเซลล์ของพืชประกอบไปด้วย 3 ชั้น ได้แก่

1. ชั้นมิดเดิล ลาเมลลา (Middle lamella) ประกอบด้วยเพกตินที่อยู่ในรูปแคลเซียมเพกเตต และแมกนีเซียม เพกเตต อยู่ตรงกลางระหว่างผนังเซลล์ชั้นแรกของเซลล์ 2 เซลล์ มีขนาดบางมาก และมองไม่เห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ทั่วไป

2. ผนังเซลล์ชั้นแรก (Primary cell wall) เป็นผนังเซลล์ชั้นแรกที่เซลล์สร้างขึ้น ตั้งแต่ระยะที่กำลังเติบโตจนถึงโตเต็มที่ อยู่ด้านนอกสุดของเซลล์ ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน เซลล์พืชที่มีเฉพาะผนังเซลล์ชั้นนี้ เช่น เซลล์พาเรนไคมา

3. ผนังเซลล์ชั้นที่ 2 (Secondary cell wall) เป็นผนังชั้นในสุด สร้างขึ้นหลังจากที่เซลล์หยุดขยายตัว ประกอบด้วยเซลลูโลส ซูเบอริน (Suberin) คิวติน (Cutin) มีความหนาและแข็งแรงกว่าผนังเซลล์ชั้นแรก การที่มีลิกนินและซูเบอรินเป็นส่วนประกอบ ทำให้น้ำไม่สามารถผ่านผนังเซลล์ชั้นนี้ได้ เซลล์ที่สร้างผนังเซลล์ชั้นนี้สมบูรณ์แล้วมักจะตาย ตัวอย่างเซลล์ที่มีผนังเซลล์ชั้นนี้คือ ไฟเบอร์ (Fiber) เทรคีด (Tracheid) และสเคลอเรนไคมา (Sclerenchyma) (Wikipedia, 2011b)



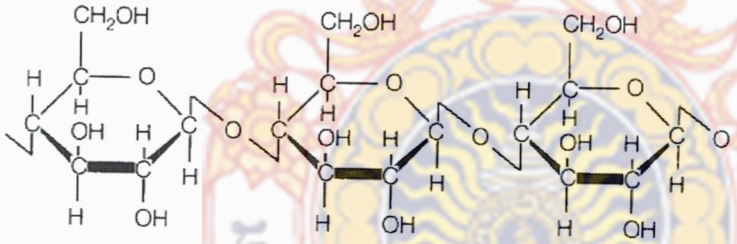
รูปที่ 6 โครงสร้างของผนังเซลล์ของพืช

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Plant_cell_wall_diagram.svg

2.1.2.2 คาร์โบไฮเดรตสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ของพืช

1. เซลลูโลส

เซลลูโลส (Cellulose) เป็นโฮโมโพลีแซคคาไรด์ของน้ำตาลกลูโกสที่เป็นสายตรงของ β-1,4-glucan โดยแต่ละสายเกาะกันเป็นคู่ด้วยพันธะไฮโดรเจนและรวมกันเป็นกลุ่มๆ ละ 40 คู่ เรียกโครงสร้างในลักษณะนี้ว่า Microfibrill (McNeil *et al.*, 1984) เซลลูโลสจะฝังอยู่ใน Matrix ของ Noncellulosic polysaccharides และโปรตีน (Fischer and Bennett, 1991) เซลลูโลสที่ได้จากแต่ละส่วนของพืชจะมีความแข็งแรง (Strength) และความเหนียว (Toughness) แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับอายุและชนิดของพืช เช่น เส้นใยไม้ ปอ ป่าน และฝ้าย ฯลฯ เป็นส่วนที่มีเซลลูโลสมาก โดยเฉพาะฝ้ายมีเซลลูโลสสูงถึงร้อยละ 90 เซลลูโลสไม่ละลายน้ำ ทนต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ กรดและด่างที่เจือจาง ถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส โดยโมเลกุลของเซลลูเลสประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส มาต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง β-(1⟶4) ซึ่งแตกต่างจากโมเลกุลของแป้ง (Strach) ที่น้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง α-(1⟶4) โมเลกุลของเซลลูโลสเป็นสายยาวไม่มีแขนง สายยาวจะมาเกาะกันตามแนวราบด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลของกลูโคส ทำให้โครงสร้างของโมเลกุลแข็งแรงและมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบในแนวขนานและเกิดเป็นโครงสร้างผลึก (Crystalline) เซลลูโลสมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 100,000-2,000,000 ดอลตัน (Roger, 2005)



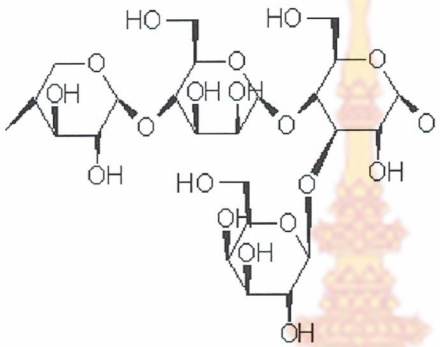
รูปที่ 7 โครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา : https://myorganicchemistry.wikispaces.com/Cellulose

2. เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) เป็นกลุ่มของเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลไซโลสที่ต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง β-(1⟶4) ดังนั้นเมื่อเฮมิเซลลูโลสถูกไฮโดรไลซ์ (Hydrolysed) จะได้น้ำตาลเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของผนังเซลล์ของพืช โดยรวมอยู่กับลิกนินและเซลลูโลส (Ebringerova and Heinze, 2000) เฮมิเซลลูโลสที่พบในผนังของเซลล์พืช ได้แก่ Xyloglucans Glucomanans และ Galactoglucomanans เป็นต้น (Tucker and Grierson, 1987) โดยเฉพาะ Xyloglucans ซึ่งมีบทบาทในการควบคุมการขยายขนาดของเซลล์ (Rose *et al.*, 2002; Fry, 2004)

พบในผนังเซลล์ชั้นแรกของพืชมีดอกทุกชนิดและเรียงตัวกันอย่างหนาแน่น ในผนังเซลล์ของพืชใบเลี้ยงคู่ส่วนใหญ่จะมี Xyloglucans เป็นองค์ประกอบหลักประมาณร้อยละ 20-25 แต่อาจจะมีบางชนิด เช่น ผักคื่นช่าย (*Apium graveolens*) จะมีอยู่เพียงร้อยละ 2 (Fry, 1989; Hayashi, 1989; Harris, 2005) ส่วนในผนังเซลล์ของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจะมี Xyloglucans เพียงเล็กน้อยประมาณร้อยละ 2-5 ได้แก่พืชใน Family Poaceae (หญ้า และธัญพืช) (Fry, 1989) ดังนั้น Xyloglucans จึงเป็นแหล่งสะสมของคาร์โบไฮเดรต และจะถูกสร้างเป็นจำนวนมากระหว่างการขยายขนาดของเซลล์พืช (Buckeridge *et al*., 2000)

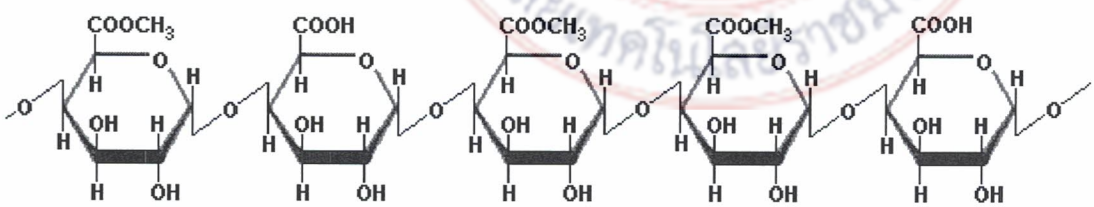


รูปที่ 8 น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา : http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/6/69/Hemicellulose.png

3. เพกทิน

เพกทิน (Pectin) ประกอบด้วย Acidic pectin คือ Rhamnogalacturonan ซึ่งเป็น chain ของ α-1,4 Galacturonic acid ที่มีน้ำตาล Rhamnose แทรกอยู่และ Neutral pectin ซึ่งเป็น Side chain ของ Rhamnogalacturonan ได้แก่ Arabinogalactan Arabinin และ Galactan เป็นต้น (Leshem *el al*., 1986) สารประกอบเพกทินพบมากบริเวณ Middle lamella ทำหน้าที่เชื่อมเซลล์ที่อยู่ติดกันและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ชั้นแรก สารประกอบเพกทินประกอบด้วย พอลิเมอร์ 3 ชนิด คือ กรดเพกทิก (Pectic acid) เพกทิน และโปรโตเพกทิน (Protopectin) (Kays, 1991)



รูปที่ 9 โครงสร้างของเพกทิน

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/vocab/word/1868

2.2.1 แอลกอฮอล์และการใช้ประโยชน์

แอลกอฮอล์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มี functional group เป็นหมู่ไฮดรอกซิล(-OH) มีหลายชนิด มีการเรียกชื่อในกลุ่มตามขนาด จำนวนคาร์บอนและโครงสร้างของโมเลกุลแอลกอฮอล์ ตัวอย่างดังตารางที่ 2

ถึงแม้ว่าจะมีแอลกอฮอล์หลายชนิด แต่ในแง่ของเชื้อเพลิงทดแทนจะใช้เอทานอล เนื่องจากว่า เอทานอลเป็นสารไม่มีพิษและไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม และสามารถผลิตได้โดยการหมักจากจุลินทรีย์ซึ่งโดยทฤษฎีจะได้เอทานอล 51% (กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคสที่ใช้) และได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 49 % (กรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อกรัมกลูโคส) ดังสมการที่ 1

$$C_6H_{12}O_6(aq) \longrightarrow 2C_2H_5OH(l) + 2CO_2(g) \qquad (1)$$

Glucose	Ethanol	Carbondioxide
180 g	92 g	88 g
100 %	51 %	49 %

ตารางที่ 2 แสดงการเรียกชื่อสารบางตัวในกลุ่มแอลกอฮอล์

จำนวนคาร์บอนในหมู่ R	สูตรโครงสร้าง	ชื่อเรียกระบบ IUPAC
1	CH_3OH	methanol
2	CH_3CH_2OH	ethanol
3	$CH_3CH_2CH_2OH$	propanol
3	$CH_3CH_2OHCH_3$	2-propanol หรือ isopropyl alcohol

2.2.1.1 เอทานอล (Ethanol)

เอทานอล (Ethanol) หรือที่เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า "เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)" หรือที่เรียกเป็นอย่างอื่น แต่มีสูตรโครงสร้างอย่างเดียวกันนี้ หมายถึง แอลกอฮอล์ มีสูตรเคมี C_2H_5OH น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 46.07 จุดเดือดประมาณ 78 องศาเซลเซียส ติดไฟง่าย ให้เปลวไฟสีน้ำเงินที่ไม่มีควัน และปกติสามารถรวมตัวกับน้ำ อีเทอร์ หรือคลอโรฟอร์มได้ทุกส่วนเอทานอลเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH - group) จุดหลอมเหลว -115 องศาเซลเซียส ความหนาแน่นที่ 20 องศาเซลเซียส (g/cm^3) = 0.789 (ฒาลิศา และคณะ 2548)

แอลกอฮอล์ เป็นของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยง่าย จุดไฟติด ละลายในน้ำและสารอินทรีย์อื่นๆ ได้ดี ประโยชน์ใช้สอยของเอทานอลมีหลายประการ เช่น ใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ใช้ในการผลิตยา ใช้เป็นตัวทำละลายในการผลิตผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมหลายชนิด ใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์สารเคมีและสารชีวเคมี ใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อ ขับเคลื่อนเครื่องยนต์ และใช้เป็นสารเพิ่มออกเทนให้แก่น้ำมัน

เบนซินสำหรับรถยนต์ แก๊สโซฮอล์ (gasohol) คือน้ำมันเบนซินไร้สารตะกั่วที่มีส่วนผสมของเอทานอล ซึ่งเป็นสารออกซิเจเนต (oxygenate) ชนิดหนึ่งที่ช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำมันทำให้การเผาไหม้สะอาดขึ้นและช่วยเพิ่มค่าออกเทน (ธีรภัทร, 2543)

2.2.1.2 คุณสมบัติทั่วไปของเอทานอล

ในสภาวะปกติ เอทานอลจะอยู่ในสภาวะของเหลวใส ระเหยง่ายมีรสขม และมีกลิ่นเฉพาะตัว ติดไฟและให้เปลวไฟที่มีความร้อนประมาณ 7,100 แคลลอรี่ต่อกรัม ละลายได้ในตัวทำละลายที่เป็นน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ มีจุดเดือดที่ความดันบรรยากาศ 78 องศาเซลเซียส และมีจุดเยือกแข็งที่ -117.3 องศาเซลเซียส มีค่าความถ่วงจำเพาะ 0.749 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ฐิติมา, 2542)

2.2.1.3 ประโยชน์ของแอลกอฮอล์

เอทานอลได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น ใช้เป็นตัวทำละลายทางเคมี ตัวทำละลายยาและเป็นสารเสริมการออกฤทธิ์ในยา ใช้เป็นสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยาเคมี เช่น การผลิตน้ำหอม และ ใช้เป็นสารทำความสะอาด เป็นต้น และที่น่าสนใจก็คือ เอทานอลสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงให้พลังงานและความร้อนได้ บราซิลเป็นประเทศแรกที่มีการศึกษาวิจัยและเริ่มใช้เอทานอลเป็นน้ำมันน้ำมันเชื้อเพลิงตั้งแต่ปี 2516 โดยเอทานอลเป็นแอลกอฮอล์ที่นำไปใช้ผสมน้ำมัน (Fuel Alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์ตั้งแต่ 92 % โดยปริมาตร ซึ่งสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ใน 3 รูปแบบคือ แบบแรกเป็นเอทานอล 95 % เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซิน และน้ำมันดีเซล ใช้ได้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนอัดสูง โดยผลิตเอทานอลจากอ้อย และกากน้ำตาล ยานพาหนะที่ใช้ในเอทานอลเป็นเชื้อเพลิงมีมากถึงประมาณร้อยละ 41 สำหรับในเครื่องยนต์ดีเซลสามารถใช้เอทานอล บริสุทธิ์ 95 % ผสมในน้ำมันดีเซลเรียกว่า ดีโซฮอล์ (Diesohol) ในอัตราส่วนร้อยละ 15 และเพิ่มสารปรับปรุงคุณสมบัติบางตัวในปริมาณร้อยละ 1-2 (พิชิต, 2546) ใช้เป็นสารเพิ่มออกเทนให้แก่น้ำมันเบนซินสำหรับรถยนต์ แก๊สโซฮอล์ (gasohol) คือน้ำมันเบนซินไร้สารตะกั่วที่มีส่วนผสมของเอทานอล ซึ่งเป็นสารออกซิเจเนต (oxygenate) ชนิดหนึ่งที่ช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำมันทำให้การเผาไหม้สะอาดขึ้นและช่วยเพิ่มค่าออกเทน น้ำมันเบนซินไร้สารตะกั่วที่ใช้กันทั่วไปใช้ MTBE (methyl tertiary butyl ether) ซึ่งเป็นสารออกซิเจเนตเช่นเดียวกันเป็นส่วนผสม แต่ข้อเสียของ MTBE คือย่อยสลายยาก และมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สหรัฐอเมริกากำหนดให้เลิกใช้ในปี 2545 (ธีรภัทร, 2543)

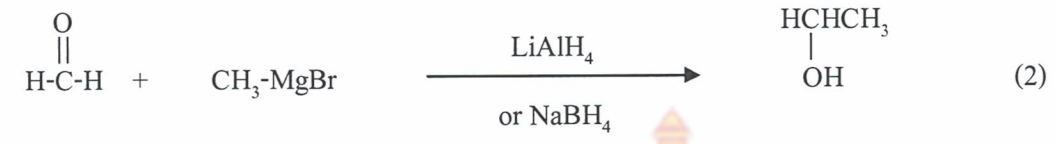
2.2.2 การผลิตเอทานอล

การผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม สามารถทำได้ 2 วิธี (ฐิติมา, 2542) คือ การสังเคราะห์เอทานอลทางเคมี และการผลิตโดยวิธีทางชีวภาพผ่านกระบวนการหมัก

2.2.2.1 การสังเคราะห์เอทานอลทางเคมี

ในทางกฎหมายเอทานอลที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (สมการการเกิดปฏิกิริยาที่ 2) ไม่อนุญาตให้ใช้เป็นเครื่องดื่ม การสังเคราะห์จากปฏิกิริยาระหว่างเมทานาลกับกรีญาร์รีเอเจนต์ ซึ่ง

กรีญาร์รีเอเจนต์เกิดจากอัลคิลเฮไลด์ ทำปฏิกิริยากับแมกนีเซียมใน anhydrous diethyl ether จะได้อัลคิลแมกนีเซียม เฮไลด์ (alkylmagnesium halide) ซึ่งเป็นกรีญาร์รีเอเจนต์ โดยอัลคิลแมกนีเซียม เฮไลด์ จะทำปฏิกิริยากับเมทานาล แล้วกลายไปเป็นเอทานอล



methanal bromomagnesium methane ethanol

การสังเคราะห์เอทานอลด้วยวิธีทางเคมีมีข้อดี คือ ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้รวดเร็ว และให้ความถูกต้องที่สามารถคำนวณได้อย่างใกล้เคียงหรือแน่นอนผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง ภายหลังปฏิกิริยา ใช้เวลาไม่นานเหมือนการหมักเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ ที่ต้องรักษาสภาวะให้เหมาะสมในระหว่างกระบวนการหมัก ส่วนข้อเสีย คือต้องใช้สารเคมีที่จำเพาะมากเป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์เอทานอล สารเคมีที่จำเพาะค่อนข้างมีราคาสูงเมื่อเทียบกับวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรม เอทานอลที่ได้มีสารตัวอื่นปนมาในระหว่างการสังเคราะห์ ซึ่งสารเหล่านั้นมีอันตราย กฎหมายจึงไม่อนุญาตให้ใช้เอทานอลที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีไว้ใช้รับประทาน หรือใช้กับสิ่งมีชีวิต สภาวะในการเกิดปฏิกิริยาค่อนข้างสูงหรือจำเพาะ

2.2.2.2 การผลิตเอทานอลทางชีวภาพ

การผลิตเอทานอลทางชีวภาพ โดยการใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการใช้คาร์โบไฮเดรตในการเจริญ แล้วให้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ เมื่อน้ำตาลถูกใช้โดยยีสต์ น้ำตาลจะถูกนำเข้าสู่เซลล์ แล้วถูกย่อยสลายโดยวิถีไกลโคไลซีส (Glycolysis pathway) หรือ ผ่านวิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) จะไม่มีการใช้อากาศในปฏิกิริยา แล้วให้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไพรูวิก 2 โมเลกุล ซึ่งกรดไพรูวิกนี้ในแต่ละสิ่งมีชีวิตจะถูกนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในหลายๆเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ (Intermediate) โดยในยีสต์และแบคทีเรียจะเปลี่ยนไพรูวิกไปเป็นเอทานอล (มนตรี, 2542)

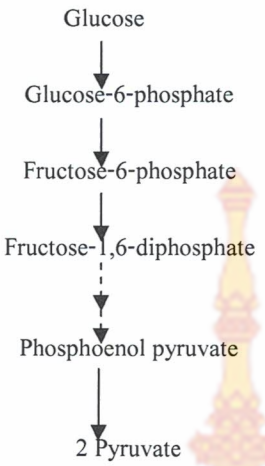
กลไกการสังเคราะห์เอทานอลจากน้ำตาลโดยจุลินทรีย์ แบ่งได้ 2 ขั้นตอน

1) วิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pahtway) หรือ Embden-Meyerhof-parnas (EMP) pathway ในสภาวะที่ไม่ใช้อากาศ ระบบมีความเป็นกรดเล็กน้อย และมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน น้ำตาลจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไพรูวิก ซึ่งเป็นสารตั้งต้น ในการผลิตเอทานอลได้

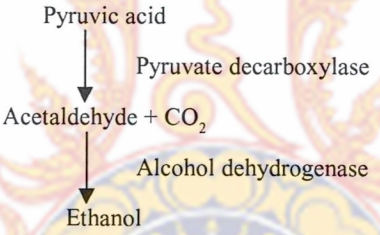
2) วิถีการเปลี่ยนไพรูเวทไปเป็นเอทานอล

หลังจากที่กลูโคสผ่านวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pathway) แล้วจะได้กรดไพรูวิก 2 โมเลกุล โดยกรดไพรูวิกนี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารต่างๆ ขึ้นอยู่กับกลไกของจุลินทรีย์แต่ละชนิด ในกรณีที่ไม่มีอากาศจุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอลได้กรดไพรูวิกจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล กรดไพรูวิกที่ได้จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ทำให้ได้เอทานอลสูงขึ้น แต่ในจุลินทรีย์ที่ผลิตเอทานอล จะมีกระบวนการการใช้

สารต่างๆ แตกต่างกันออกไป ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นๆ ออกมาร่วมกับเอทานอล หรือจุลินทรีย์นั้นอาจสามารถใช้เอทานอลนั้นในการเจริญต่อไปได้อีกทำให้ได้เอทานอลลดลงจากทฤษฎี



รูปที่ 10 วิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pathway)
ที่มา ; มนตรี (2542)



รูปที่ 11 การเปลี่ยนแปลงของไพรูวิกไปเป็นเอทานอลในสภาวะที่ไม่มีอากาศ
ที่มา ; มนตรี (2542)

การผลิตเอทานอลโดยธีการทางชีวภาพมีข้อดี คือ ลดต้นทุนทางวัตถุดิบ วัตถุดิบส่วนมากเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีอยู่มากและมีราคาต่ำ สามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่พืชผลทางการเกษตร ได้ลดขยะรักษาสิ่งแวดล้อม และผลิตภัณฑ์ที่เป็นผลพลอยได้ตัวอื่นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ส่วนข้อเสีย คือ กระบวนการผลิตค่อนข้างช้า ใช้คนงานในการดูและระบบมาก การผลิตปริมาณมากจำเป็นต้องใช้ขนาดของระบบขนาดที่ใหญ่ขึ้น ของเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิดจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้ได้ทันทีต้องมีการปรับเปลี่ยนรูป เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ของจุลินทรีย์ ของเหลือทิ้งทางการเกษตรส่วนใหญ่มีคุณภาพไม่คงตัว ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของผลิตภัณฑ์

การหมัก (Fermentation)

การหมัก ตามความหมายทางชีวเคมีหมายถึง การสร้างพลังงานจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นตัวให้และรับอิเล็กตรอน ส่วนการหมักในทางจุลชีววิทยา

อุตสาหกรรมหมายถึงกระบวนการผลิตผลผลิตใดๆ ก็ตาม ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จำนวนมากซึ่งจะครอบคลุมทั้งระบบการแบบใช้และไม่ใช้ออกซิเจน ในขณะที่การหมักทางชีวเคมีจะหมายถึงเฉพาะกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจนเท่านั้น (สมใจ, 2537) ผลผลิตจากกระบวนการหมักมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์บางชนิดจะให้ผลผลิตชนิดเดียวล้วนๆ บางชนิดให้ผลผลิตหลายชนิดปะปนกัน (นงลักษณ์ และปรีชา, 2539)

การหมักแบ่งออกเป็น 2 แบบ ตามชนิดของผลผลิตที่เกิดขึ้น คือ

-โฮโมเฟอร์เมนเตชัน (Homofermentation) เป็นการหมักที่ได้ผลผลิตเพียงชนิดเดียวเป็นส่วนใหญ่ และเรียกแบคทีเรียที่ให้ผลผลิตนั้นว่า โฮโมเฟอร์เมนเตตีฟแบคทีเรีย (Homofermentative bacteria) เช่น *Steptococus lactis* ให้ผลผลิตส่วนใหญ่ คือ กรดแล็กติกจากการหมักกลูโคส นอกจากแบคทีเรียสกุล *Steptococus* แล้ว ยังมีแบคทีเรียสกุลอื่นอีก เช่น *Lactobacilli Pediococcus Enterococci Lactococci Pediococci Tetragenococci Vagococci* ที่หมักน้ำตาลเฮกโซสโดยกระบวนการ Embden-Meyerhof (E-M) pathway ที่ให้ผลผลิตกรดแล็กติกได้ (Todar, 2011)

-เฮเทอโรเฟอร์เนเตชัน (Heterofermentation) หรือมิกซ์แอซิดเฟอร์เนเตชัน (Mixed acid fermentation) เป็นการหมักที่ได้ผลผลิตหลายชนิด เช่น เอทิลแอลกอฮอล์ กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก และกรดแล็กติก เป็นต้น และเรียกแบคทีเรียที่ให้ผลผลิตหลายชนิดนั้นว่า เฮเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟแบคทีเรีย (Heterofermentative bacteria) เช่น แบคทีเรีย *Escherichia coli Leuconostocs Lactobacilli Oenococci* ให้ผลผลิต คือ เอทานอล และกรดอะซิติก (Todar, 2011)

2.2.2.3 การผลิตเอทานอลจากของเหลือใช้ทางการเกษตร

มีการนำเอาของเหลือใช้ทางการเกษตรมาใช้ในการผลิตเอทานอล เช่นนำกากน้ำตาลอ้อยมาใช้ในการผลิตเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048 ด้วยการหมักแบบกะ และกึ่งกะ พบว่าในการหมักแบบกะที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 5.0 และ 5.5 ได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดคือ 53.30 กรัมต่อลิตร และการหมักแบบกึ่งกะโดยการเติมน้ำหมัก 2 ครั้ง คือที่ปริมาตรเริ่มต้น 375 มิลลิลิตร และเติมครั้งที่สอง ให้มีปริมาตรรวม 1,500 มิลลิลิตร ได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดในระยะเวลาที่สั้นที่สุดคือ 62.72 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 53 ชั่วโมงคิดเป็นผลผลิต(productivity) 1.183 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนการหมักแบบกะได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 58.43 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 50 ชั่วโมง คิดเป็นผลิต 1.169 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งพบว่าการหมักแบบกึ่งกะให้ผลผลิตสูงกว่าการหมักแบบกะเล็กน้อย (พัฒนา และลักขณา, 2540)

นอกจากการน้ำตาลแล้วยังมีการนำเอาแป้งมันมาใช้ในการผลิตเอทานอลโดยนำ มาย่อยเป็นน้ำเชื่อมก่อนการหมักโดยใช้เอนไซม์กลุ่มอัลฟ่าอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* จากศูนย์ไบโอเทค โดยทำการศึกษาปริมาณเอนไซม์อัลฟ่าอะไมเลสที่ใช้ในการย่อยแป้งมันสำปะหลังพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การใช้ปริมาณเอนไซม์ 0.8% โดยปริมาตรต่อน้ำหนักแป้ง ใช้เวลา 120 นาที ขั้นที่สองทำการศึกษาปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ใช้ในการย่อยแป้งมันสำปะหลังพบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ

การใช้ปริมาณเอนไซม์ 0.35% โดยปริมาตรต่อน้ำหนักแป้ง ใช้เวลา 48 ชั่วโมง ขั้นสุดท้ายทำการศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังพบว่า เมื่อใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.05 % โดยปริมาตรต่อน้ำหนักแป้งในการย่อยแล้วหมักต่อด้วยเชื้อ *S. Cerevisiae* จะได้ผลได้ของเอทานอลสูงสุด คือ 6.24 % ที่เวลา 60 ชั่วโมง (นิรันดร และคณะ, 2545)

2.2.2.4 การผลิตเอทานอลจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอลโดยชีววิธีโดยมากแล้ว ได้แก่ ยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งส่วนมากจะใช้น้ำตาลโมเลกุลต่ำ ในการผลิตเอทานอล ไม่สามารถใช้เซลลูโลสที่มีองค์ประกอบที่ซับซ้อนได้โดยตรง ซึ่งในกระบวนการผลิตเอทานอลจึงจำเป็นจะต้องทำการย่อยสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลต่ำก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตต่อไป โดยการย่อยสลายเซลลูโลสทำได้หลายวิธี เช่น การใช้เอ็นไซม์ และสารเคมีร่วมกับความร้อน เนื่องจากวิธีการเหล่านี้มีต้นทุนสูง หรือต้องใช้ปฏิกิริยาที่รุนแรง จึงมีงานวิจัยที่สนใจจะคัดแยกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส เพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส

กระบวนผลิตเอทานอลโดยจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิสูง (60-70 องศาเซลเซียส) มีข้อดีกว่าการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) แต่การศึกษาการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูงยังมีน้อย การผลิตเอทานอลที่อุณภูมิสูงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีและเอ็นไซม์ เพิ่มค่า thermodynamic favorability ของปฏิกิริยา ลดการละลายของ H_2 และ CO_2 ในน้ำหมัก ลดความหลากหลายของผลผลิตจากการหมักทำให้ง่ายต่อการทำให้บริสุทธิ์ เชื้อจุลินทรีย์ชอบร้อนส่วนใหญ่ผลิตเอ็นไซม์ขับออกมานอกเซลล์ในการย่อยสลายไบโอพอลิเมอร์ต่างๆ และ เหมาะสมที่จะใช้จุลินทรีย์ชอบร้อนในการผลิตพลังงานชีวมวลจากน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมการเกษตรที่มีอุณหภูมิสูง การผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูงทำให้น้ำเสียที่ผ่านการหมักปราศจากเชื้อก่อโรค (Van Groenestijn *et al*., 2002; Van Niel *et al*., 2003; O-Thong *et al*., 2008) จุลินทรีย์ชอบร้อนเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถใช้น้ำตาล เฮกโซส และ เพนโตส ได้ดี ซึ่งน้ำตาลสองขนิดนี้เป็นองค์ประกอบหลักของมวลชีวภาพประเภทเซลลูโลส จุลินทรีย์ชอบร้อนสามารถผลิตเอทานอลจากมวลชีวภาพประเภทเซลลูโลสได้ดี ซึ่งกระบวนการผลิตเอทนอลในปัจจุบันโดยยีสต์ไม่สามาถผลิตได้ (Dien *et al*., 2003) การใช้มวลชีวภาพประเภทเซลลูโลส อย่างเช่น วัสดุเศษเหลือจากป่าไม้ เศษเหลือจากการเกษตร หญ้า ชีวมวลต่างๆ มาผลิตเอทานอล สามารถลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักเอทานอลด้วยยีสต์จากน้ำตาลหรือกากน้ำตาล (Lin and Guarente 2006) จากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้การประยุกต์ใช้เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มชอบร้อนในการผลิตเอทานอลมีความคุ้มค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์ และเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเตรียมชีวมวลเพื่อผลิตเอทานอล

2.3.1 การไฮโดรไลซิสโดยใช้กรด

Iranmahboob *et al*. (2002) ได้ศึกษาการย่อยสลายด้วยกรดของเศษไม้เพื่อการผลิตเอทานอล โดยผสมไม้เนื้ออ่อนร้อยละ 50 เข้ากับไม้เนื้อแข็งร้อยละ 50 ทำการไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดซัลฟูริคร้อยละ

26 โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลเดกโทรส (dextrose) ร้อยละ 32.51 โดยน้ำหนัก การไฮโดรไลซิสเศษไม้นั้นความเข้มข้นของกรด และเวลาที่ให้ความร้อนเป็นปัจจัยหลัก ซึ่งการไฮโดรไลซิสอย่างมีประสิทธิภาพ จะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของเศษไม้ด้วย เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน เถ้า เพคติน

Esteghlalian *et al.* (1997) ได้ศึกษาการใช้กรดซัลฟูริคเจือจางในการ pretreatment เศษข้าวโพด เศษไม้และเศษหญ้า โดยการใช้กรดซัลฟูริคความเข้มข้นร้อยละ 0.6 , 0.9 และ 1.2 โดยน้ำหนัก ใช้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ในสารละลายตั้งต้น 30 กรัม ให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 140, 160 และ 180 องศาเซลเซียส ใน Parr batch reactor พบว่า การไฮโดรไลซิสเศษไม้และเศษหญ้าที่ความเข้มข้นของกรดร้อยละ 0.9 อุณหภูมิ 170 – 180 องศาเซลเซียส เวลา 1-2 นาที จะได้น้ำตาลไซโลสมากกว่าร้อยละ 80 ส่วนเศษข้าวโพดนั้นจะให้ความเข้มข้นน้ำตาลร้อยละ 80 เมื่อใช้กรดความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 1.0 ที่อุณหภูมิ 170 – 180 องศาเซลเซียส

2.3.2 การไฮโดรไลซิสโดยใช้ด่าง

Beukes and Pletschke (2011) ได้ศึกษาผลของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ต่อกการย่อยสลายกากชานอ้อยเบื้องต้น พบว่าแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์สามารถขจัดลิกนินออกได้เป็นจำนวนมาก และมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยกากชานอ้อยเพิ่มขึ้นถึง 13.13 เท่า

Hamilton *et al.* (1984) ได้ศึกษาผลของตัวทำละลาย เฟอร์ริคทาร์เทรด/โซเดียม ไฮดรอกไซด์ ในการไฮโดรไลซ์เศษชีวมวลข้าวโพดเบื้องต้น พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่มีส่วนผสมของเฟอร์ริคทาร์เทรดกับ สารละลาย 1.5N โซเดียมไฮดรอกไซด์ อัตราส่วนตั้งแต่ 4:1 ถึง 12:1 และการใช้ สารละลาย1.5N โซเดียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวตามด้วยการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสพบว่าสามารถให้เซลลูโลสได้สูงกว่ากว่าการไม่ใช้สารใดในการไฮโดรไลซ์เบื้องต้นร้อยละ 30 และหากเพิ่มเวลาการย่อยเป็น 24 ชั่วโมงพบว่าสามารถให้เซลลูโลสได้เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 90

2.3.3 การใช้ไอน้ำ

Angle *et al.* (2001) พบว่า การใช้ไอน้ำเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถทำลายโครงสร้างของวัสดุทางธรรมชาติได้ ซึ่งวิธีการนี้จะเป็นการใช้ไอน้ำที่ความดันสูงจึงทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงทำให้วัตถุเกิดการแตกหัก โดยบางส่วนจะถูกไฮโดรไลซ์ เช่น เฮมิเซลลูโลส ซึ่งสามารถล้างออกได้ด้วยน้ำ และยังคงเหลือส่วนที่ไม่ละลายน้ำที่ประกอบด้วย เซลลูโลสและลิกนิน ปัจจัยที่สำคัญในการใช้ไอน้ำ โดยทั่วไปแล้วสภาวะที่เหมาะสมคือ การใช้ไอน้ำที่ความดันและอุณหภูมิสูง และใช้ระยะเวลาสั้น

Moniruzzaman (1996) พบว่า การใช้ไอน้ำ เพื่อแยกองค์ประกอบต่างๆ ที่มีอยู่ในชีวมวลโดยการสกัดเพื่อแยกเอาเซลลูโลสที่เราต้องการออกมา เนื่องจากองค์ประกอบที่มีอยู่ในชีวมวล ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และอื่นๆ ในระหว่างขั้นตอนการใช้ไอน้ำ เฮมิเซลลูโลสจะถูกไฮโดรไลซ์ หลังจากนั้นต้องมีการใช้สารละลายด่างเพื่อสกัดเอาลิกนินออกมา และหลังจากสกัดแล้วจะเหลือกากที่จะเป็นส่วนของเซลลูโลส ในการใช้ไอน้ำนั้นจะต้องเลือกความดัน อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้ได้เซลลูโลสที่ดี

Sun *et al.* (2005) รายงานว่าการแยกองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสด้วยวิธีการใช้ไอน้ำนั้นเป็นวิธีที่รู้จักกันดี เนื่องจากการใช้ไอน้ำจะสามารถไฮโดรไลซ์เฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลที่สามารถละลายในน้ำได้และยังคงเหลือส่วนของลิกนินอยู่จึงต้องใช้ตัวทำละลายเช่น สารละลายด่าง เอทานอล เพื่อแยกเอาลิกนินออกมาได้เพราะลิกนินสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์

2.3.4 การใช้คลื่นไมโครเวฟ

Ha *et al.* (2011) พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟจะทำให้เซลลูโลสสามารถละลายในสารละลายอินทรีย์ได้น้อยลงและยังช่วยลดความยาวของเซลลูโลสได้ โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลล์ฝ้ายจะเพิ่มขึ้น 12 เท่า หลังจากย่อยด้วยสารละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสและเพิ่มขึ้นถึง 50 เท่า หลังจากละลายด้วยสารละลายอินทรีย์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ

Keshwani and Cheng (2010) รายงานว่าการย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสของ Switchgrass และ Bermudagrass โดยใช้สารละลายด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟเป็นเวลา 5 ถึง 20 นาที Switchgrass สามารถสลายให้กลูโคส และไซโลส ร้อยละ 82 และ 63 ตามลำดับ Bermudagrass สามารถสลายให้กลูโคส และไซโลส ร้อยละ 87 และ 59 ตามลำดับ

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักเพื่อผลิตเอทานอล

2.4.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลวัตถุดิบประเภทน้ำตาลโดยใช้ยีสต์

Nigam (1999) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลแบบต่อเนื่องจากของเสียโรงงานสับปะรดกระป๋อง โดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 24553 ทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ pH 4.5 ในถัง Continuous stirred tank reactor โดยถังปฏิกิริยามี cool condenser เพื่อป้องกันการระเหยของผลิตภัณฑ์ และในถังปฏิกิริยามีการกวน 450 rpm พบว่าผลผลิตของเอทานอลที่ได้เท่ากับ 0.466 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และ Percentage theoretical yield 92.50%

Phowchinda and Strehaiano (1996) ได้ศึกษาการหมักเอทานอลโดยใช้ complex medium ซึ่งมีน้ำตาลหลายชนิดได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส และแซคคาโรส (saccharose) ที่ได้จากข้าวฟ่างหวาน พบว่าพฤติกรรมการใช้น้ำตาลของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะใช้น้ำตาลกลูโคสก่อนเสมอ และใช้ฟรุคโตส และแซคคาโรส ตามลำดับ และการไฮโดรไลซิสจะเกิดขึ้นเร็วในช่วงแรกของปฏิกิริยาและจะช้าลงเมื่อใกล้สิ้นสุดปฏิกิริยา

พันธ์ณรงค์ (2539) ได้ศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลโดย *Saccharomycescerevisiae* TISTR 5017 ในเจลแคลเซียมอัลจิเนตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยใช้เซลล์อายุ 20 ชั่วโมงซึ่งมีปริมาณเซลล์สูงสุด เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปมีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 5.5 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณสับสเตรท (ซูโครส) ที่ใช้ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณแอลกอฮอล์ที่เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปผลิตได้ จึงใช้สารแขวนลอยเซลล์เข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร และใช้สับสเตรทเข้มข้นร้อยละ 12.5 โดยน้ำหนัก ทดลองผลิตอย่างไม่ต่อเนื่อง เมื่อเปรียบเทียบการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลระหว่างเซลล์

อิสระกับเซลล์ตรึงรูป เซลล์ตรึงรูปผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 6.98 โดยปริมาตร ซึ่งสูงกว่าเซลล์อิสระภายใต้ช่วงเวลาการหมัก 7 วัน

2.4.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลวัตถุดิบประเภทแป้งโดยใช้ยีสต์

Verma *et al.* (2000) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งโดยกระบวนการ coculture ระหว่าง amylolytic yeasts และ *Saccharomyces cerevisiae* 21 พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของแป้ง 60 กรัม/ลิตร ผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการ coculture ระหว่าง *Saccharomyces diastaticus* และ *Saccharomyces cerevisiae* 21 สูงที่สุดเท่ากับ 24.8 กรัม/ลิตร ซึ่งให้ผลผลิตมากกว่าการใช้วิธี monoculture แต่ถึงอย่างไรการใช้เอนไซม์ α-amylase และ glucoamylase ไฮโดรไลซ์แป้งก่อนทำการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* 21 จะให้ปริมาณเอทานอลสูงถึง 37.6 กรัม/ลิตร

Shigechi *et al.* (2002) ได้ศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง โดยการหมักแบบกึ่งกะ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH 5.0 และมีการเพิ่มเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและแอลฟา-อะไมเลสเข้าไปที่ผิวเซลล์ของยีสต์โดย cell-surface-engineered flocculent พบว่า ความสามารถในการย่อยสลายแป้งโดยเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นโดยเอทานอลที่ผลิตได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 60 g/l ในเวลาประมาณ 100 ชั่วโมง

2.4.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรียชอบร้อน

Sudha *et al.* (1998) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากชีวมวลพวกเซลลูโลสในธรรมชาติ โดย *Clostridium thermocellum* สายพันธุ์ SS21 and SS22 พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 0.37 และ 0.35 กรัมต่อกรัมสับสเตรท ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของสับสเตรท 8 กรัมต่อลิตร สายพันธุ์ SS21 เปลี่ยนกระดาษกรองจาก 71 กรัม ไปเป็น เอทนอล 18.46 กรัมต่อลิตร และ สายพันธุ์ SS22 หมักกระดาษกรอง 75.4 กรัม ได้เอทานอล 20.36 กรัมต่อลิตร ทั้ง 2 สายพันธุ์มีการเจริญเติบโตต่ำในสารพวกพอลิเมอร์แต่ทำการหมักได้ง่ายเมื่อ ย่อยด้วยด่าง

Lynd *et al.* (2001) ได้ศึกษาการสะสมเกลือที่มีผลจากการเติมเบสสำหรับการควบคุม pH และการไม่มีเอทานอลในการเจริญของ *T. thermosaccharolyticum* HG-8 ที่มีความเข้มข้นของไซโลสในการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง พบว่า *T. Thermosaccharolyticum* HG-8 เจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ในสภาพที่มีข้อจำกัดในการเจริญที่มีความเข้มข้นของสับสเตรทสูงและความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ การหมักแบบต่อเนื่องของไซโลสที่ 50 และ 73 กรัมต่อลิตร พบว่า มีอัตราการเจือจางของอาหาร (D_f = 0.0053 ต่อชั่วโมง) และพีเอชเท่ากับ 7 โดยเติม KOH มีผลทำให้ใช้ประโยชน์ไซโลสในสภาวะคงตัวมากกว่า 99 % และผลผลิตเอทานอลที่ได้ต่อกรดอะซิติกเท่ากับ 2:1 การหมักแบบต่อเนื่องของ *T. thermosaccharolyticum* HG-8 เจริญที่ ค่า D_f = 0.0053 ต่อชั่วโมง มีการใช้ไซโลส 75 กรัมต่อลิตรของความเข้มข้นของไซโลสที่มีอยู่ 0.49 M และเอทานอลที่ได้เข้มข้น 22.4 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเริ่มต้นให้อาหารที่สภาวะคงตัวที่มีไซโลส 75 กรัมต่อลิตร และค่า D_f = .0053 ต่อชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้น

ของไซโลสเพิ่มเป็น 87.5 กรัมต่อลิตร จึงเป็นข้อจำกัดของการเจริญของเชื้อที่ใช้ประโยชน์จากไซโลส โดยสังเกตได้

Sommer *et al.* (2003) ได้ศึกษาความสามารถในการใช้เชื้อแบคทีเรียที่ทนร้อน และไม่ชอบออกซิเจนสำหรับการผลิตเอทานอลจากเฮมิเซลลูโลส พบว่า มีข้อจำกัดในด้านจำนวนของแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา ที่สามารถเปลี่ยนแปลงเฮมิเซลลูโลสหรือพวกน้ำตาลไซโลสไปเป็นเอทานอลและผลิตผลอื่นๆ ในปัจจุบันมีการศึกษาทดสอบจำนวนของเชื้อที่ทนต่ออุณหภูมิสูง และทำการแยกเชื้อพวกแบคทีเรียที่ทนร้อนในสภาพที่ไร้ออกซิเจน ซึ่งสามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส ที่ใช้สำหรับผลิตเอทานอลจาก D-xylose โดยเชื้อที่แยกได้มาจากบริเวณที่ต่างกัน เช่น บ่อน้ำพุร้อน น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ และน้ำทิ้งจากโรงงานต้มเบียร์ โดยทำการทดสอบเชื้อดังนี้ (1) ทดสอบการเปลี่ยนแปลงของ D-xylose ไปเป็นเอทานอล (2) ทดสอบความเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของเชื้อ (3) ทดสอบความต้านทานต่อความเข้มข้นของไซโลส ซึ่งจากการทดลองพบว่า มีทั้งหมด 86 สายพันธุ์ที่เจริญในสภาวะที่ดี และ 58 สายพันธุ์ เป็นเชื้อเดี่ยว ๆ และจากการเลือกมา 5 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถใช้เชื้อได้อย่างดีสำหรับเชื้อที่คัดเลือกได้ ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

Avci and Donmez (2006) ได้ศึกษาผลของสังกะสีต่อการผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรียทนร้อน *Thermoanaerobacter* 2 สายพันธุ์ พบว่า อัตราส่วนของผลผลิตเอทานอลของ Thermoanaerobacter ethanolicus (JW200) *Thermoanaerobacter* (65-2) และ *Thermoanaerobacter thermohydrosulfuricus* (70-1) เมื่อกำหนดความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่างกัน คือ 15, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และความเข้มข้นของกากน้ำตาล 30, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยงแบบ batch ผลที่ได้คือแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลในอัตราส่วนที่เหมาะสม ดังนั้นผลของ $ZnSO_4.7H_2O$ ต่อการผลิตเอทานอล โดยเติม $ZnSO_4.7H_2O$ 0.17 กรัมต่อลิตร ในอาหารที่มี *T. ethanolicus* (JW200) ทำให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น 39% และ 23% สำหรับThermoanaerobacter strain 65-2. เมื่อเติม $ZnSO_4.7H_2O$ 0.22 กรัมต่อลิตร ทำให้อัตราส่วนของผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 80% จาก *T. thermohydrosulfuricus* (70-1). อัตราส่วนผลผลิตที่สูงขึ้นได้มาจากความเข้มข้นของซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของกากน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตรโดยผลิตจากแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่ทำการศึกษา โดยที่ *T. ethanolicus* (JW200) ผลิตเอทานอล 5.04 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นของซูโครส 20 กรัมต่อลิตรและ *Thermoanaerobacter* strain (65-2) ผลิตเอทานอล 6.50 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นของกากต้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร *T. ethanolicus* (JW200) ให้ผลผลิตเอทานอล ($Y_{x/s}$) สูงขึ้นเป็น 0.47 ที่ความเข้มข้นของซูโครส 15 กรัมต่อลิตร

Miyazaki *et al.* (2008) ได้ศึกษาการทดลองแบคที่เรียทนร้อนที่แยกได้จากกากเต้าหู้ พบว่า มีแบคทีเรียทนร้อนที่ผลิตเอทานอลได้ 2 จีนัส คือ *Clostridium* and *Thermoanaerobacterium* ทั้งคู่สามารถย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้ แต่ไม่ย่อยเซลลูโลส เมื่อทำการเลี้ยงแบบ Co-culture ของทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าได้ผลผลิตเอทานอล 27 มิลลิโมลต่อลิตร จาก 1% (w/v) ของกากเต้าหู้ แต่เมื่อใช้กากเต้าหู้ 10 กรัม ได้ผลผลิตเอทานอล 1.24 กรัม เมื่อใช้กลูโคสอย่างเดียว 9 กรัม ได้ผลผลิตเอทานอลถึง 4.6 กรัม

O-thong *et al*. (2008) ได้ศึกษาการทดลองแบคทีเรียทนร้อนที่แยกได้จากระบบ Anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) สายพันธุ์ *T. thermosaccharolyticum* PSU-2 พบว่า มีความสามารถการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์ม และสามารถผลิตเอทานอล 2.0 มิลลิโมลลาร์ต่อโมลซูโครส (8 กรัมต่อลิตร) ในอาหารที่ขาดแหล่งสารอินทรีย์ไนโตรเจน

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

3.1 ศึกษาวิธีการเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอล

3.1.1 การเตรียมทางใบปาล์มน้ำมัน

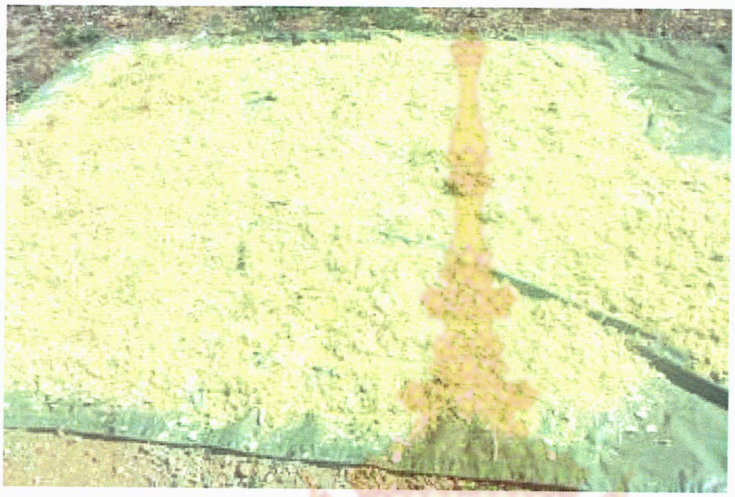
ทางปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการทดลองนี้ ใช้ทางปาล์มน้ำมันจากสวนปาล์มพันธุ์ดีของคุณไพรัช กังก๋ง บ้านเลขที่ 32/28 หมู่ 5 ต.วัดประดู่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยเริ่มจาก

1. การนำทางปาล์มน้ำมันมาริดก้านใบออก และนำทางปาล์มน้ำมันมาย่อยด้วยเครื่องย่อยกิ่งไม้ (รูปที่ 12-13)

รูปที่ 12 ทางปาล์มน้ำมันที่นำมาย่อย

รูปที่ 13 การย่อยทางปาล์มน้ำมันด้วยเครื่องย่อยกิ่งไม้

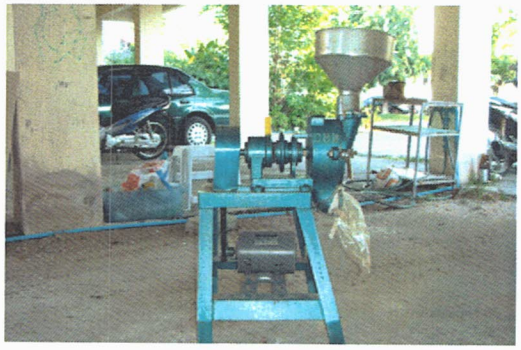
2. นำทางปาล์มน้ำมันที่ย่อยได้ไปตากแดดให้แห้งเป็นเวลา 2-3 วัน หลังจากนั้นนำมาอบด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



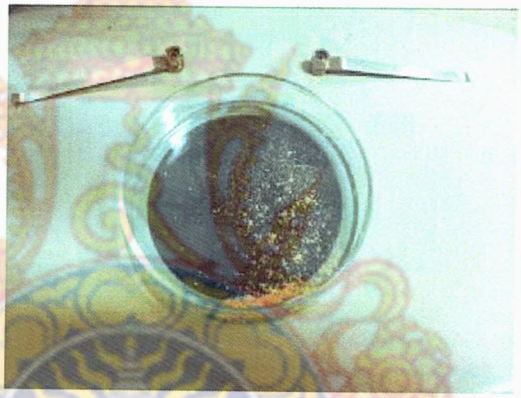
รูปที่ 14 การตากแดดทางปาล์มน้ำมันที่ย่อยได้เพื่อลดความชื้น

รูปที่ 15 การอบแห้งทางปาล์มที่ย่อยแล้วด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3. นำทางปาล์มที่ผ่านการอบไปบดด้วยเครื่องโม่แป้งจนมีขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร



รูปที่ 16 การบดทางปาล์มด้วยเครื่องโม่แป้ง



รูปที่ 17 ลักษณะทางปาล์มที่บดละเอียดขนาด 1-2 มิลลิเมตร

4. เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกเพื่อป้องกันการเกิดความชื้น

5. นำตัวอย่างไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้ Scanning electron microscope (SEM)

3.1.2 การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมัน

3.1.2.1 การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยใช้กรดซัลฟิวริค

1. นำตัวอย่างมาบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ และชั่งตัวอย่างประมาณ 20 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มิลลิลิตร

2. นำตัวอย่างมาแช่ลงในกรดซัลฟิวริค (0.5% 1.0% 1.5% และ 2.0%) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3. นำตัวอย่างไปคั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากของแข็งออกจากส่วนที่เป็นของเหลวแล้ว โดยของเหลวนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ส่วนของแข็งนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

3.1.2.2 การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์

1. นำตัวอย่างมาบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ และชั่งตัวอย่างประมาณ 20 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มิลลิลิตร

2. นำตัวอย่างมาแช่ลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีความเข้มข้น (0.5% 1.0% 1.5% และ 2.0%) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3. นำตัวอย่างไปคั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากของแข็ง ออกจากส่วนที่เป็นของเหลวแล้วโดยของเหลวนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ส่วนของแข็งนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

3.1.2.3 การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยใช้สารละลายอินทรีย์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ 800 W

1. นำตัวอย่างมาปั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ และชั่งตัวอย่างประมาณ 20 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มิลลิลิตร

2. นำตัวอย่างมาแช่ลงในสารละลายอินทรีย์ ได้แก่ เมทานอล เอธานอล และคลอโรฟอร์ม (0.5% 1.0% 1.5% และ 2.0%) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปผ่านคลื่นไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 5 และ 10 นาที

3. นำตัวอย่างไปคั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากของแข็งออกจากส่วนที่เป็นของเหลวแล้ว โดยของเหลวนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ส่วนของแข็งนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

3.1.2.4 การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยใช้การใช้ไอน้ำ

1. นำตัวอย่าง มาบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ และชั่งตัวอย่างประมาณ 20 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มิลลิลิตร

2. นำตัวอย่างใส่ลงในเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ โดยใช้อุณหภูมิ 210 230 และ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที

3. เก็บตัวอย่าง และนำตัวอย่างไปคั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากของแข็งออกจากส่วนที่เป็นของเหลวแล้ว โดยของเหลวนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ส่วนของแข็งนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

3.2 ศึกษาปัจจัยในการทำปฏิกิริยาการย่อยเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันให้กลายเป็นน้ำตาล

เซลลูโลสที่ได้จากตอนที่ 3.1 จะนำมาทำปฏิกิริยาย่อย (Hydrolysis) ให้กลายเป็นน้ำตาลโดยใช้กรดและเอนไซม์เซลลูเลส

การเตรียมน้ำตาลโดยการย่อยเซลลูโลสจากทางปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์

การเตรียมน้ำตาลโดยการย่อยเซลลูโลสจากทางปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์คัดเลือกตัวอย่างทางปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพจากตอนที่ 1การย่อยด้วยเอนไซม์โดยการใส่ตัวอย่างเซลลูโลสที่เตรียมไว้ 6 % ในขวดรูปชมพู่ จากนั้นเติมสารละลาย 0.05 M Citrate Buffer pH 4.8 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 93 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเอนไซม์ CTec2 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร(FPU) ลงในตัวอย่าง แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่าโดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบ/นาที เพื่อให้ตัวอย่างผสมเข้าด้วยกันและทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 96 ชั่วโมง

เริ่มเก็บที่เวลา 0 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นโดยวิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยการใช้ 3, 5-Dinitrosalicylic acid (DNS)

3.3 การศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมันในกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้ยีสต์และจุลินทรีย์ชอบร้อน

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะเหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยเซลลูโลส (ตอนที่ 3.2) เป็นสับเสตรท โดยยีสต์ และจุลินทรีย์ชอบร้อนที่มีประสิทธิภาพในการหมักแอลกอฮอล์ สายพันธุ์ PSU-2 (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.สมพงศ์ โอทอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง)

3.3.1 การศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมันในกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้ยีสต์

3.3.1.1 ในกระบวนการหมักแบบกะ เลี้ยงเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (TISTR 5048) (จากศูนย์ไบโอเทค) ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Yeast Peptone Dextrose (YPD) ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 20 กรัมต่อลิตรเพปโทน 20 กรัมต่อลิตรและยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตรใส่ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที

3.3.1.2 เติมน้ำตาลที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อย จากตอนที่ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน และ yeast extract 1.0 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจนนำกล้าเชื้อที่เตรียมไว้ มีค่า OD_{620} เท่ากับ 1.0 มาร้อยละ 10 ไปเติมลงในตัวอย่าง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเขย่า 150 รอบ/นาทีเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 96 ชั่วโมงและทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ระหว่างการทดลองคือ ความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักโดยปริมาณโดยใช้เครื่องวัดแอลกอฮอล์ (Ebulliometer)

3.3.2 การศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันในกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้จุลินทรีย์ชอบร้อน

3.3.2.1 ในกระบวนการหมักแบบกะ จุลินทรีย์ชอบร้อนสายพันธุ์ *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2 (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.สมพงศ์ โอทอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง) ดำเนินการทดลองในขวดซีรั่มขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาตรทำการ 70 มิลลิลิตร ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเกลือพื้นฐาน (Angelidaki *et al*., 1990) ที่เติมน้ำตาลที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยจากตอนที่ 3.2 เป็นแหล่งคาร์บอน และ yeast extract 1 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน

3.3.2.2 บ่มที่ 60 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 96 ชั่วโมงและทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ระหว่างการทดลองคือ ความเข้มข้นของเอทานอลในน้ำหมักโดยปริมาณโดยใช้เครื่องวัดแอลกอฮอล์ (Ebulliometer) และวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลโดยรวมในน้ำหมัก

3.4 การประเมินความเป็นไปได้ทางด้านเศรษฐศาสตร์การลงทุนผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน

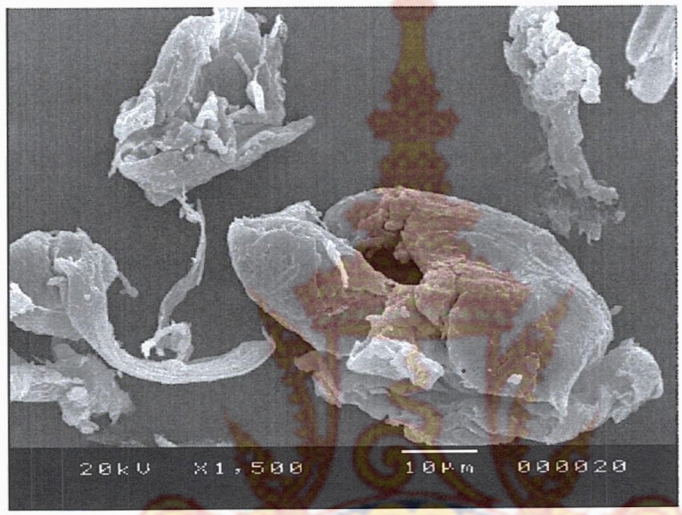
การศึกษานำจะนำค่าผลได้เอทานอลที่ได้จากการทดลองมาประเมินความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน โดยคำนวณค่าพลังงานที่จะผลิตได้เทียบกับปริมาณพลังงานที่ใช้ไปในการดำเนินระบบการผลิต ทั้งนี้ไม่คิดค่าต้นทุนวัตถุดิบเนื่องจากเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

บทที่ 4
ผลการทดลอง

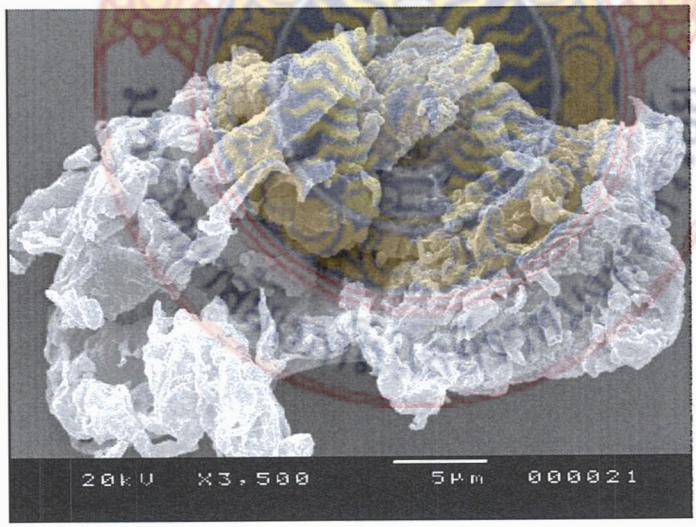
4.1 ผลเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอล

4.1.1 การเตรียมทางใบปาล์มน้ำมัน

ลักษณะของทางปาล์มน้ำมันบดละเอียดจากการการถ่ายด้วย Scanning electron microscope แสดงดังรูปที่ 18



(A)



(B)

รูปที่ 18 ภาพทางปาล์มบดละเอียดจาก Scanning electron microscope
(A) กำลังขยาย 1,500 เท่า (B) กำลังขยาย 3,500 เท่า

4.2 ผลการศึกษาวิธีการเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอล

4.2.1 ผลการศึกษาวิธีการเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอลโดยใช้วิธีทางเคมี

จากการปรับสภาพทางใบปาล์มน้ำมันทางเคมี โดยใช้กรดซัลฟิวริคและโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นและเวลาที่ต่างกัน แสดงผลดังตารางที่ 3 และรูปที่ 29

ตารางที่ 3 แสดงองค์ประกอบจากการปรับสภาพเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมี

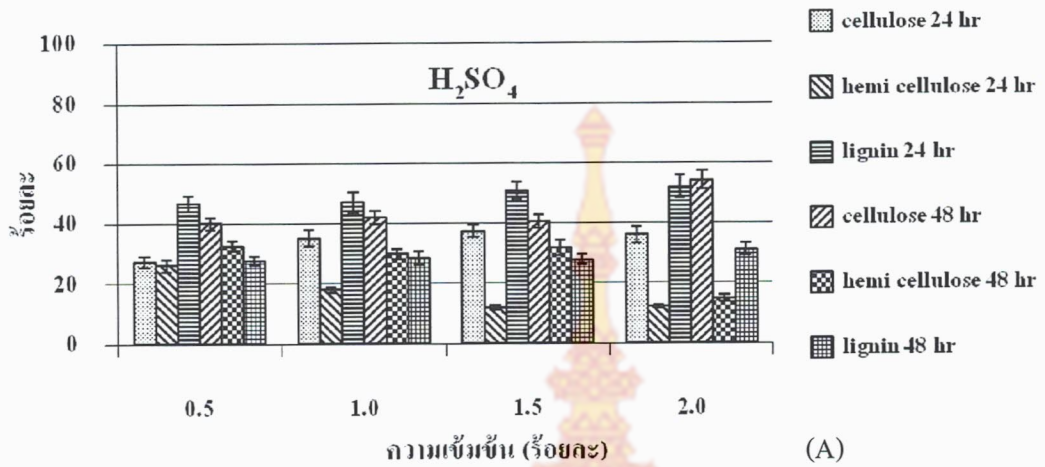
ชุดที่	ความเข้มข้น (ร้อยละ)		องค์ประกอบ (ร้อยละ)					
			24 ชั่วโมง			48 ชั่วโมง		
			cellulose	hemi cellulose	lignin	cellulose	hemi cellulose	lignin
1	0.5	H_2SO_4	27.20±1.77b	26.09±1.96ab	46.71±2.48abc	39.91±2.0e	32.55±1.69a	27.54±1.43b
2	1.0		35.07±2.74a	17.95±0.97d	46.98±3.52abc	41.87±2.22e	29.69±1.69b	28.44±2.10ab
3	1.5		37.33±1.87a	12.04±0.76e	50.63±2.84ab	40.52±2.17e	31.74±2.59a	27.74±1.55b
4	2.0		35.91±2.62a	12.12±0.64e	51.97±3.74a	54.13±3.03c	14.81±0.98d	31.06±1.89a
5	0.5	NaOH	29.77±1.49b	24.36±1.22bc	45.88±2.34bc	50.13±2.56cd	25.8±1.52c	24.07±1.47cd
6	1.0		28.86±1.44b	26.74±2.06ab	44.39±2.44c	62.31±3.24b	11.25±0.81e	26.45±1.43bc
7	1.5		28.06±1.40b	27.47±1.43a	44.47±2.49c	64.29±3.21ab	11.29±0.69e	24.42±1.27bc
8	2.0		38.47±2.81a	18.03±1.41d	43.51±2.83c	68.52±4.45a	8.79±0.47e	22.69±1.50d
control		H_2O	20.71±1.78c	23.34±1.47c	45.95±3.26bc	27.65±2.72f	26.23±1.6c	46.12±1.41bc

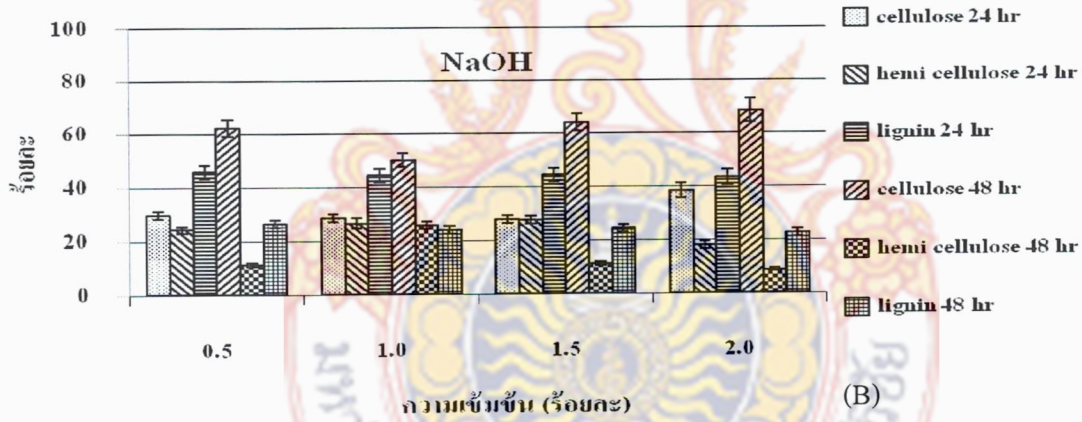
*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามลำดับ

การปรับสภาพและการวิเคราะห์องค์ประกอบซึ่งจากการทดลองในการปรับสภาพทางเคมีที่ความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกัน พบว่า การใช้กรดซัลฟิวริคและโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เป็นเวลา 24 ชั่วโมงได้เซลลูโลสในปริมาณค่อนข้างน้อย เฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 27.20-38.47 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับชุดควบคุมที่ใช้น้ำเป็นตัวปรับสภาพ ซึ่งพบว่าเตรียมเซลลูโลสได้เพียงร้อยละ 20.71±1.78 แสดงว่าการใช้กรดซัลฟิวริคและโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถนำมาใช้ในการปรับสภาพเพื่อเตรียมเซลลูโลสได้

เมื่อทำการเพิ่มระยะเวลาในการปรับสภาพเป็น 48 ชั่วโมง พบว่าสามารถเตรียมเซลลูโลสได้สูงขึ้น ซึ่งการใช้กรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดคือร้อยละ 54.13±3.0 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับชุดทดลองที่มีความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริคร้อยละ 0.5 1.0 และ 1.5 ซึ่งได้เซลลูโลสร้อยละ 39.91±2.0 41.87±2.22 และ 40.52±2.17 ตามลำดับ สอดคล้องกับการงานวิจัยของ Esteghlian *et al.*(1997) ซึ่งพบว่าการใช้กรดซัลฟิวริคเจือจางในการเตรียมเศษข้าวโพด เศษไม้ และเศษหญ้า โดยเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริคให้สูงขึ้นส่งผลให้เกิดการไฮโดรไลซิสได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนั้นการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 พบว่าให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดเช่นเดียวกันคือร้อยละ 68.52±4.45_ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับชุดทดลองที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 1.0 และ 1.5 ซึ่งได้เซลลูโลสร้อยละ 50.13±2.56 62.31±3.24 และ 64.29±3.21 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องงานวิจัยของ Hamiton *et al.* (1984) การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในอัตราส่วนที่สูงสุดสามารถให้ไฮโดรไลซ์เศษชีวมวลข้าวโพดได้สูงขึ้น และเมื่อเพิ่มเวลาการย่อยให้นานขึ้นสามารถให้เซลลูโลสได้เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 90 และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเตรียมเซลลูโลสโดยใช้กรดซัลฟิวริคและโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 พบว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้ปริมาณเซลลูโลสแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Beukes and Pletschke (2011) ซึ่งใช้ศึกษาผลของเบสแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อการย่อยสลายกากชานอ้อยเบื้องต้น พบว่า การใช้เบสสามารถขจัดลิกนินออกได้เป็นจำนวนมาก และมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยกากชานอ้อยได้เพิ่มขึ้นถึง 13.3 เท่า

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย





รูปที่ 19 แสดงองค์ประกอบของทางใบปาล์มน้ำมันที่ผ่านปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริก (A) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (B) ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

4.2.2 ผลการศึกษาวิธีการเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอลโดยใช้วิธีทางเคมีร่วมกับวิธีทางกายภาพ

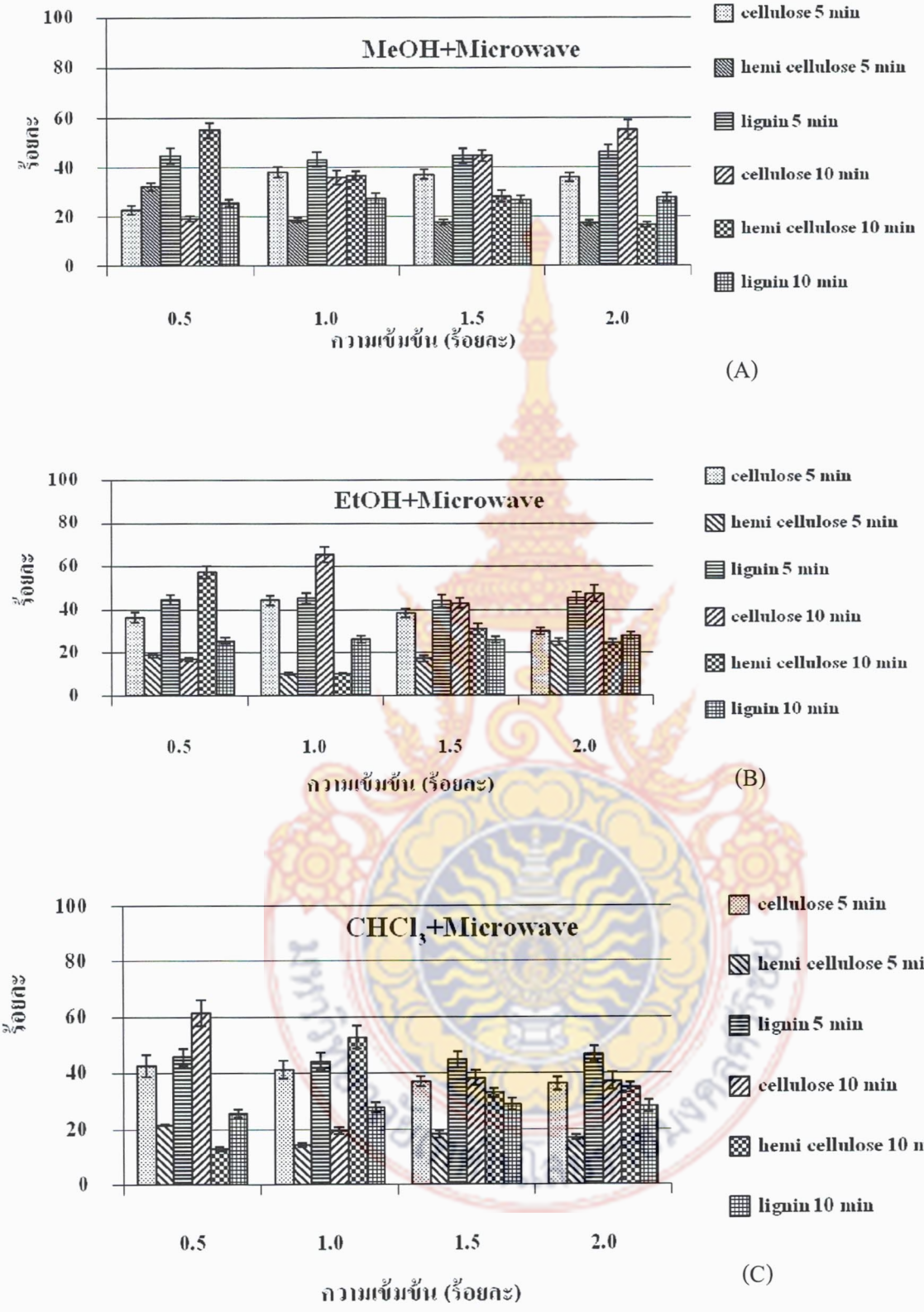
การเตรียมเซลลูโลสด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารอินทรีย์ได้แก่เมทานอล (MeOH) เอทานอล (EtOH) และคลอโรฟอร์ม (CH_3Cl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับวิธีทางกายภาพโดยใช้ไมโครเวฟ ที่ 800 W ที่เวลา 5 และ 10 นาที แสดงผลดังตารางที่ 4 และรูปที่ 20

สามารถเก็บเกี่ยวของแข็งได้สูงกว่า 5 นาที การใช้ร้อยละ 2.0 เมทานอลร่วมกับไมโครเวฟเป็นเวลา 10 นาทีให้ปริมาณร้อยละเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้ถึง 55.30±3.98 16.88±1.03 และ 27.82±1.72 ตามลำดับ การใช้ร้อยละ 1.0 เอทานอลร่วมกับไมโครเวฟให้ปริมาณร้อยละเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน เท่ากับ 65.40±3.69 10.33±0.32 และ 26.28±166 ตามลำดับ และส่วนการใช้ร้อยละ 0.5 คลอโรฟอร์มร่วมกับไมโครเวฟให้ปริมาณร้อยละเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน เท่ากับ 61.55±4.62 12.82±0.64 และ 25.63±1.36 ตามลำดับ ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ที่เตรียมได้โดยวิธีทางเคมีร่วมกับไมโครเวฟที่เวลาต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4 และรูปที่ 20

ตารางที่ 4 แสดงองค์ประกอบจากการปรับสภาพเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมีร่วมกับไมโครเวฟ

ชุดที่	สารอินทรีย์ (ร้อยละ)		องค์ประกอบ (%)					
			คลื่นไมโครเวฟ 5 นาที			คลื่นไมโครเวฟ 10 นาที		
			cellulose	hemi cellulose	Lignin	cellulose	hemi cellulose	lignin
1	0.5	MeOH	22.73±1.73f	32.38±1.62a	44.89±3.32a	19.28±0.96f	55.14±3.09bc	25.58±1.38a
2	1.0		38.08±2.06cd	18.69±1.01c	43.22±3.07a	35.96±2.88e	36.61±1.83d	27.42±2.14a
3	1.5		37.21±1.86cd	17.92±1.09c	44.87±2.96a	44.79±2.24d	28.32±2.27fg	26.89±1.64a
4	2.0		36.08±1.80d	17.46±1.13c	46.46±2.83a	55.30±3.98c	16.88±1.03h	27.82±1.72a
5	0.5	EtOH	36.55±2.41d	18.89±0.94c	44.56±2.32a	17.15±0.86fg	57.24±2.86ab	25.61±1.36a
6	1.0		44.38±2.22b	10.38±0.52e	45.24±2.26a	65.40±3.69a	10.33±0.32j	26.28±1.66a
7	1.5		38.40±1.92cd	17.44±1.40c	44.15±2.87a	42.97±2.15d	30.98±2.48ef	26.06±1.38a
8	2.0		29.88±1.73e	25.03±1.50b	45.08±2.79a	47.34±3.79d	24.78±1.46g	27.89±1.62a
9	0.5	$CHCl_3$	52.74±3.96a	1.52±0.12f	45.75±3.16a	61.55±4.62b	12.82±0.64i	25.63±1.36a
10	1.0		41.31±3.30bc	14.42±0.72d	44.27±3.14a	19.43±1.17f	52.81±4.07c	27.77±1.75a
11	1.5		37.00±1.85d	18.19±1.24c	44.81±2.91a	38.21±2.75e	32.98±1.71de	28.81±2.05a
12	2.0		36.25±2.28d	16.95±0.85c	46.8±2.76a	37.10±2.97e	34.79±1.74de	28.11±2.00a
ชุดควบคุม		H_2O	24.69±1.28f	31.04±1.55a	44.27±2.35a	13.06±1.04g	60.96±3.29a	25.98±1.35a

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามลำดับ



รูปที่ 20 แสดงองค์ประกอบของทางใบปาล์มน้ำมันที่ผ่านปรับสภาพด้วยเมทานอล (A) เอธานอล (B) และคลอโรฟอร์ม (C) ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ 800 W ที่เวลา 5 และ 10 นาที

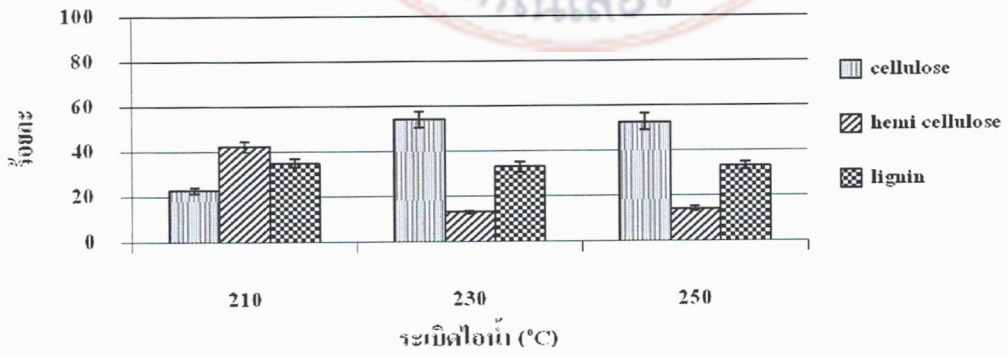
4.2.3 ผลการศึกษาวิธีการเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอลโดยใช้วิธีทางกายภาพ

ผลการศึกษาวิธีการเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอลโดยใช้วิธีทางกายภาพโดยใช้การระเบิดไอน้ำที่อุณหภูมิ 210 230 และ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที พบว่าการใช้เพิ่มอุณหภูมิของไอน้ำทำให้สามารถเตรียมเซลลูโลสได้มากขึ้น โดยการใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียสจะได้เซลลูโลสเพียงร้อยละ 22.87±1.26 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับการใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิ 230 และ 250 องศาเซลเซียส ซึ่งได้เซลลูโลสถึงร้อยละ 54.11±3.53 และ 52.75±3.65 ตามลำดับ แต่ที่การใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิทั้งสองระดับคือ 230 และ 250 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Angle *et al.* (2001) ที่กล่าวว่า การใช้ไอน้ำเป็นวิธีการที่สามารถทำลายโครงสร้างของวัสดุธรรมชาติได้ ซึ่งวิธีการใช้ไอน้ำที่ความดันสูงนี้จะทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงทำให้วัตถุเกิดการแตกหัก โดยบางส่วนจะถูกไฮโดรไลซ์ เช่น เฮมิเซลลูโลส ซึ่งสามารถล้างออกได้ด้วยน้ำ ส่งผลให้ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในชีวมวลลดลง ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ที่เตรียมได้โดยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ ในเวลา 2 นาที แสดงดังตารางที่ 5 และรูปที่ 21

ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบจากการปรับสภาพเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ

ระเบิดไอน้ำ (°C)	องค์ประกอบ		
	cellulose	hemi cellulose	lignin
210	22.87±1.26b	42.2±2.49a	34.93±2.03a
230	54.11±3.53a	12.91±0.63b	32.98±2.34a
250	52.75±3.65a	14.07±0.95b	33.17±1.69a

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามลำดับ



รูปที่ 21 องค์ประกอบของทางใบปาล์มน้ำมันที่ผ่านปรับสภาพด้วยการระเบิดไอน้ำ

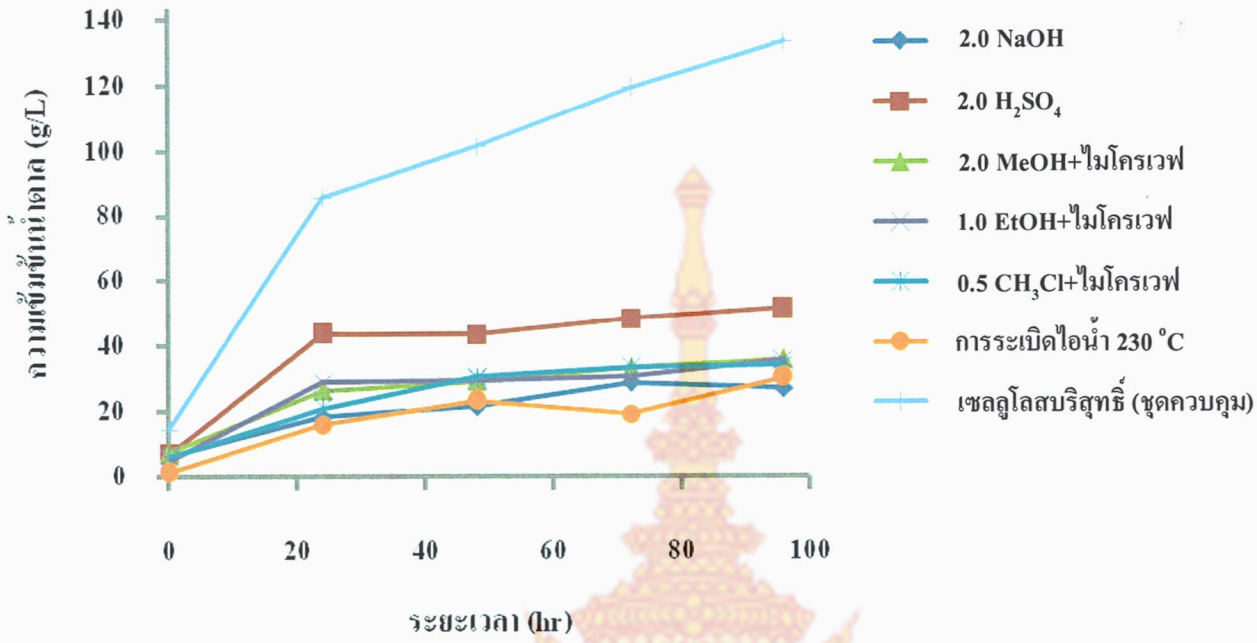
4.3 ผลการศึกษาปัจจัยในการทำปฏิกิริยาการย่อยเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลและสภาวะที่เหมาะสม

เซลลูโลสที่ได้จากการเตรียมโดยวิธีทางเคมี วิธีเคมีและกายภาพ และวิธีทางกายภาพ จากข้อ 4.2 จะนำมาทำปฏิกิริยาย่อย (Hydrolysis) ให้กลายเป็นน้ำตาลโดยการย่อยเซลลูโลสจากทางปาล์มน้ำมันที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์ CTec2 จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2.0 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุด เท่ากับ 51.39±3.34 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2.0 ของเมทานอล ร้อยละ1.0 เอทานอล และ 0.5 คลอโรฟอร์มร่วมกับไมโครเวฟใกล้เคียงกัน มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 35.89±1.87 35.72±2.04 และ 34.20±2.43 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และรองลงมาคือพบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยน้ำ ระเบิดไอน้ำที่ 230 องศาเซลเซียส และร้อยละ 2.0 ซัลฟิวริก มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาล เท่ากับ 32.01±0.00 30.41±0.00 และ 27.04±0.02 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งปริมาณน้ำตาลที่ย่อยได้จากชุดทดลองทั้ง 6 ชุด จะต่ำกว่าการใช้เซลลูโลสบริสุทธิ์ (control) ที่ได้น้ำตาลถึง 133.28±0.02 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้เนื่องจากเซลลูโลสที่เตรียมจากการใช้วิธีทางเคมี วิธีเคมีร่วมกับกายภาพ และวิธีทางกายภาพยังคงมีปริมาณเฮมิเซลลูโลส และลิกนินหลงเหลืออยู่ในปริมาณมาก ส่งผลให้เมื่อนำไปย่อยด้วยเอนไซม์จึงได้ปริมาณน้ำตาลต่ำกว่าการใช้เซลลูโลสบริสุทธิ์ ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จากเซลลูโลสที่ได้จากวิธีการต่างๆ ตั้งแต่ 0-96 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 6 และ รูปที่ 22 และ 23

ตารางที่ 6 แสดงความเข้มข้นของน้ำตาลที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ชุดทดลอง	ความเข้มข้นน้ำตาล กรัมต่อลิตร (g/L)				
	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
2.0 H_2SO_4	6.29±0.44c	18.45±1.01ab	21.57±1.32a	28.81±1.58b	27.04±1.7a
2.0 NaOH	6.81±0.41cd	43.81±2.72d	43.64±2.27c	48.27±2.99c	51.39±3.49c
2.0 MeOH+ไมโครเวฟ	7.46±0.41d	26.54±1.54c	29.15±1.84b	33.28±1.93b	35.89±1.87b
1.0 EtOH+ไมโครเวฟ	4.79±0.30b	29.06±2.06c	29.57±2.19b	30.58±2.17b	35.72±2.04b
0.5 $CHCl_3$+ไมโครเวฟ	6.02±0.41c	20.98±1.62b	30.67±1.87b	33.28±1.73b	34.2±2.43b
ระเบิดไอน้ำ 230°C	1.33±0.07a	16.09±0.80a	23.34±1.26a	19.21±1.21a	30.41±2.34ab
เซลลูโลสบริสุทธิ์ (ชุดควบคุม)	14.44±0.82e	85.76±5.23e	101.52±6.19d	119.38±8.83d	133.28±6.66d

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามลำดับ



รูปที่ 22 แสดงปริมาณน้ำตาลจากทางใบปาล์มน้ำมันที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ผ่านปรับสภาพวิธีการทางเคมี วิธีทางเคมีกับกายภาพ และวิธีทางกายภาพ

4.4 การผลิตเอทานอลโดยยีสต์และจุลินทรีย์ชอบร้อนจากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมัน

4.4.1 การผลิตเอทานอลโดยยีสต์จากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมัน

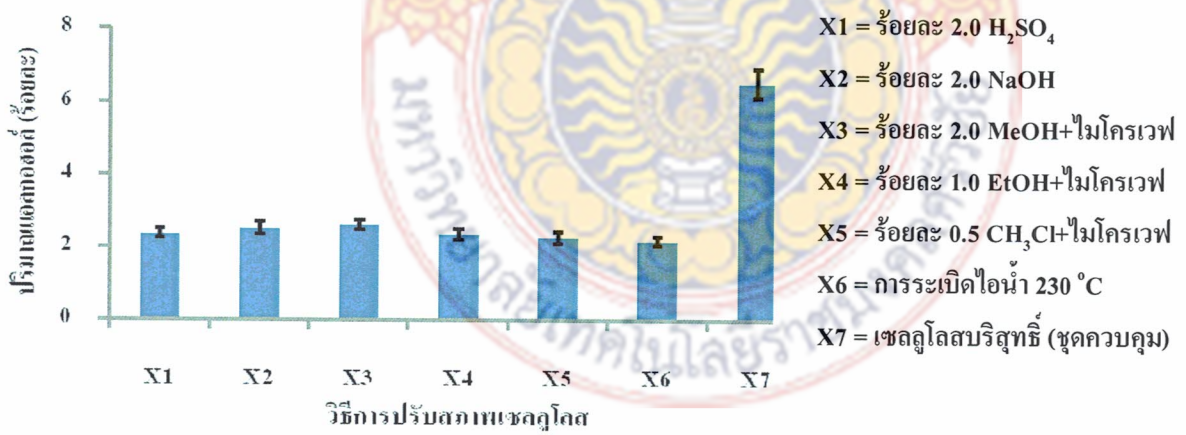
ในกระบวนการหมักแบบกะ โดยการใช้น้ำตาลที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยจากข้อ 4.3 เป็นแหล่งคาร์บอน และ yeast extract 1.0 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเอทานอลสูงสุดได้จากน้ำหมักด้วยร้อยละ 2.0 ของเมทานอล (MeOH) ร่วมกับไมโครเวฟ 800 W และร้อยละ 2.0 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ซึ่งมีปริมาณเอทานอลเท่ากับร้อยละ 2.60±0.13 และ 2.50±0.18 ตามลำดับ รองลงมาคือน้ำหมักด้วยร้อยละ 1.0 ของเอทานอล (EtOH) ร่วมกับไมโครเวฟ 800 W และร้อยละ 2.0 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) และ 0.5 คลอโรฟอร์ม (CH_3Cl) ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ 800 W ซึ่งมีปริมาณเอทานอลเท่ากับร้อยละ 2.35±0.15 2.35±0.16 และ 2.25±0.16 ตามลำดับ และการระเบิดไอน้ำซึ่งมีปริมาณเอทานอลต่ำสุดคือร้อยละ 2.15±0.12 จะเห็นได้ว่าการนำน้ำตาลที่ย่อยได้จากวิธีการต่างๆ มาหมักด้วยยีสต์จะได้ปริมาณของเอทานอลต่ำกว่าชุดควบคุมที่ใช้น้ำตาลที่ย่อยจากเซลลูโลสบริสุทธิ์ เนื่องจากน้ำตาลที่ผ่านการย่อยจากการใช้วิธีทางเคมี วิธีทางเคมีกับกายภาพ และวิธีทางกายภาพ นั้นยังคงมีสิ่งปนเปื้อนหลงเหลืออยู่ โดยเฉพาะลิกนินอยู่ใน

ปริมาณมาก ซึ่งมีผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ ปริมาณของเอทานอลที่พลิตได้จากการหมักด้วยยีสต์แสดงดังตารางที่ 7 และรูปที่ 23

ตารางที่ 7 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ของทางใบปาล์มน้ำมันจากน้ำตาลที่ได้จากการปรับสภาพโดยวิธีทางเคมี วิธีทางเคมีกับกายภาพ และวิธีทางกายภาพ

วิธีการปรับสภาพ	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)
2.0 H_2SO_4	2.35±0.14ab
2.0 NaOH	2.50±0.18b
2.0 MeOH+ไมโครเวฟ	2.60±0.13b
1.0 EtOH+ไมโครเวฟ	2.35±0.15ab
0.5 CH_3Cl+ไมโครเวฟ	2.25±0.16ab
การระเบิดไอน้ำ 230 °C	2.15±0.12a
เซลลูโลสบริสุทธิ์ (ชุดควบคุม)	6.5±0.4c

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามลำดับ



รูปที่ 23 แสดงปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ของทางใบปาล์มน้ำมันจากน้ำตาลที่ได้จากการปรับสภาพโดยวิธีทางเคมี วิธีทางเคมีกับกายภาพ และวิธีทางกายภาพ

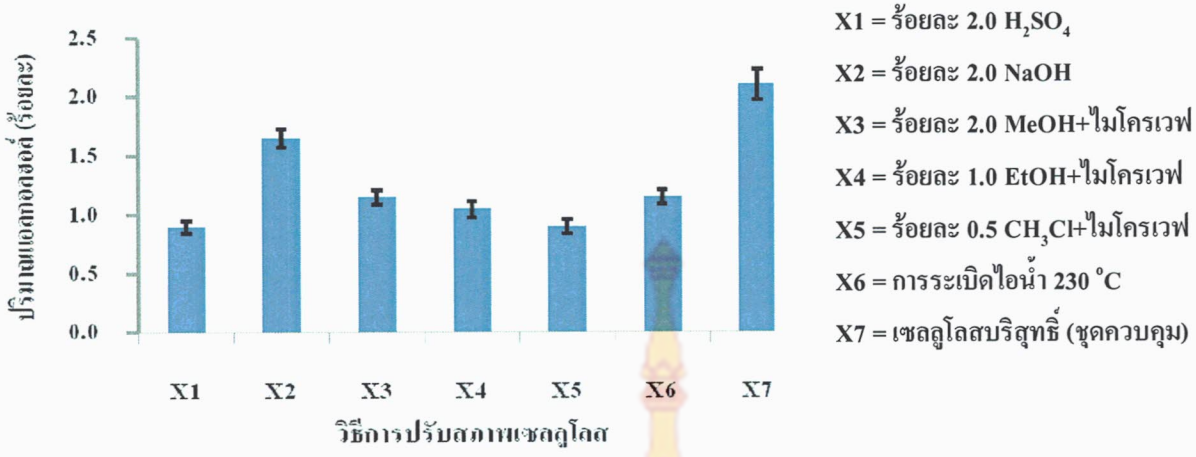
4.4.2 การผลิตเอทานอลโดยจุลินทรีย์ชอบร้อนจากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสจากทางปาล์มน้ำมัน

จากการทดลองการผลิตเอทานอล โดยใช้จุลินทรีย์ชอบร้อนสายพันธุ์ *T. thermosaccharolyticum* PSU-2 ช่วยในกระบวนการหมัก ซึ่งทำการทดลองต่อจากการย่อยด้วยเอนไซม์จากข้อ 4.3 ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง พบว่าปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุดได้จากน้ำหมักด้วยร้อยละ 2.0 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ร้อยละ 2.0 เมทานอล (MeOH) ร่วมกับไมโครเวฟ 800 W และ ร้อยละ 1.0 เอทานอล (EtOH) ร่วมกับไมโครเวฟ 800 W ซึ่งมีปริมาณเอทานอลร้อยละ 1.15±0.08 1.15±0.06 และ 1.05±0.07 ตามลำดับ ส่วนการใช้น้ำหมักด้วยร้อยละ 2.0 H_2SO_4 และการระเบิดไอน้ำ ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำสุดคือร้อยละ 0.9±0.05 และ 1.05±0.06 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ชอบร้อนสายพันธุ์ *T. thermosaccharolyticum* PSU-2 สามารถย่อยน้ำตาลที่ได้จากเซลลูโลสที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้สูงสุดซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sudha *et al.* (1998) ซึ่งพบว่าแบคทีเรียทนร้อนสายพันธุ์ *Clostridium thermocellum* สายพันธุ์ SS1 และ SS2 ทั้งสองสายพันธุ์สามารถหมักได้ผลผลิตของเอทานอลสูงเมื่อย่อยเซลลูโลสด้วยด่าง ปริมาณของเอทานอลที่พลิตได้จากการหมักด้วยยีสต์ แสดงดังตารางที่ 8 และรูปที่ 24

ตารางที่ 8 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยจุลินทรีย์ชอบร้อนของทางใบปาล์มน้ำมันจากน้ำตาลที่ได้จากการปรับสภาพโดยวิธีทางเคมี วิธีทางเคมีกับกายภาพ และวิธีทางกายภาพ

วิธีการปรับสภาพ	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)
2.0 H_2SO_4	0.9±0.05a
2.0 NaOH	1.65±0.08c
2.0 MeOH+Microwave	1.15±0.06b
1.0 EtOH+Microwave	1.05±0.07b
0.5 CH_3Cl+Microwave	0.9±0.06a
การระเบิดไอน้ำ 230 °C	1.05±0.06b
เซลลูโลสบริสุทธิ์ (ชุดควบคุม)	2.1±0.13d

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามลำดับ



รูปที่ 24 แสดงปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยจุลินทรีย์ชอบร้อนของทางใบปาล์มน้ำมันจากน้ำตาลที่ได้จากการปรับสภาพโดยวิธีทางเคมี วิธีทางเคมีกับกายภาพ และวิธีทางกายภาพ

4.5 การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส ไฮโดรไลเสตทางปาล์มน้ำมัน

การประเมินมูลค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์ของงานวิจัย

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลโดยยีสต์และแบคทีเรียชอบร้อนจากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสจากทางปาล์มน้ำมัน ซึ่งพบว่าการใช้ยีสต์ผลิตเอทานอลจะได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการใช้แบคทีเรียชอบร้อน จึงทำการศึกษาการผลิตเอทานอลในระดับขยายขนาดเป็น 1.5 ลิตรในการหมักโดยใช้สภาวะจากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลเสตทางปาล์มน้ำมันที่ย่อยด้วย ร้อยละ 2.0 NaOH และร้อยละ 2.0 MeOH ร่วมกับไมโครเวฟ 800W เป็นเวลา 10 นาที ด้วยยีสต์ในระบบการหมักแบบกะ เมื่อนำคิดค่าต้นทุนการผลิตมาเปรียบเทียบกับผลผลิตเอทานอลพบว่า ในระบบขยายขนาดเอทานอลจากน้ำหมักด้วยร้อยละ 2.0 NaOHให้ผลตอบแทนสุทธิมากที่สุดคือ 15,922.26 บาท รองลงมาคือเซลลูโลสสกัดด้วยเมทานอลร่วมกับไมโครเวฟ ให้ผลตอบแทนสุทธิเท่ากับ 3,141.70 บาท และน้ำหมักของตัวอย่างก่อนปรับสภาพอบร้อนลตอบแทนสุทธิเท่ากับ -466.20 บาท ซึ่งในส่วนของตัวอย่างก่อนปรับสภาพมีค่าติดลบแสดงว่าให้ผลผลิตไม่คุ้มค่ากับการลงทุน ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ผลตอบแทนของการผลิตเอทานอลจากทางปาล์มน้ำมัน

รายการ	ปรับสภาพด้วย 2.0 MeOH+ไมโครเวฟ	ปรับสภาพด้วย ร้อยละ 2 NaOH	ตัวอย่างก่อน ปรับสภาพ
ผลได้น้ำตาล (กรัมน้ำตาลต่อกรัมของแข็ง)	0.70	0.85	0.10
ของแข็งเหลือจากการปรับสภาพ (ร้อยละ)	84.00	86.00	100.00
ผลได้เอทานอล (กรัมต่อกิโลกรัม)	502.00	577.00	44.00
ผลได้เอทานอล (กรัมต่อกรัม)	0.21	0.24	0.02
เอทานอลที่จะผลิตได้ (ลิตรต่อตัน)	212.08	731.31	55.77
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมด (บาท/ตัน)	2,160.37	2,360.37	1,860.37
ผลตอบแทน (บาท/ตัน)	5,302.07	18,282.64	1,394.17
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการจัดการวัตุดิบ (บาท)	1,000.00	1000.00	1,000.00
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการผลิต (บาท)	560.37	560.37	560.37
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการเตรียม (บาท)	600.00	800.00	300.00
ผลตอบแทนสุทธิ (บาท)	3,141.70	15,922.26	-466.20

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ผลการศึกษาวิธีการเตรียมเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันสำหรับผลิตเอทานอล

การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยใช้ทางใบปาล์มน้ำมันเริ่มต้น 20 กรัม จากนั้นใช้การปรับสภาพที่ความเข้มข้นแตกต่างกันได้แก่ วิธีทางเคมีโดยใช้กรดและเบส วิธีทางเคมีและกายภาพโดยใช้สารอินทรีย์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และวิธีทางกายภาพโดยใช้การระเบิดไอน้ำ พบว่าจากการเตรียมเซลลูโลสด้วยวิธีทางเคมีด้วยกรดซัลฟิวริกนั้นโดยกรดจะไปทำลาย Polysaccharides โดยเฉพาะเฮมิเซลลูโลสที่ง่ายต่อการย่อยสลายเซลลูโลสได้ (Sarkar *et al*., 2012) โดยการใช้กรดซัลฟิวริกร้อยละ 2.0 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถย่อยสลายได้เซลลูโลสสูงสุด คือร้อยละ 54.13±3.03 และในการปรับสภาพด้วยด่างวิธีนี้สามารถไฮโดรไลซ์เฮมิเซลลูโลสและลดระดับลิกนินได้เซลลูโลสที่เอนไซม์สามารถไฮโดรไลซ์ได้ง่าย กลไกของการไฮโดรไลซ์ด้วยด่าง คือ การเกิดแซพอนิฟิเคชัน (Saponification) ของพันธะเอสเทอร์ระหว่างโมเลกุลของไซแลน และเฮมิเซลลูโลส ทำให้ช่องว่างของลิกโนเซลลูโลสเพิ่มขึ้น การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง (NaOH) เพื่อไฮโดรไลซ์ลิกโนเซลลูโลสทำให้เกิดการบวมน้ำเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวภายใน ลดระดับการเกิพอลิเมอร์ ลดความสามารถของการสร้างผลึกมีการแยกโครงสร้างที่เชื่อมกันระหว่างลิกนินกับคาร์โบไฮเดรต และทำลายโครงลิกนิน กระบวนการปรับสภาพด้วยด่างจะใช้อุณหภูมิและความดันต่ำกว่าเทคโนโลยีอื่น ๆ (Sarkar *et al*., 2012) ซึ่งในการทดลองนี้พบว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.0 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถย่อยสลายได้เซลลูโลสสูงสุดคือ ร้อยละ 68.52±4.45

การเตรียมเซลลูโลสโดยใช้สารละลายอินทรีย์ร่วมกับไมโครเวฟ ที่ 800 W ที่ 10 นาที สามารถเก็บเกี่ยวของแข็งได้สูง การใช้ร้อยละ 2.0 เมทานอลร่วมกับไมโครเวฟให้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 55.30±3.98 การใช้ร้อยละ 1.0 เอทานอลร่วมกับไมโครเวฟให้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 64.40±3.69 และส่วนการใช้ร้อยละ 0.5 คลอโรฟอร์มร่วมกับไมโครเวฟให้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน เท่ากับ 61.55±4.62 จะเห็นได้ว่าการเตรียมเซลลูโลสโดยการปรับสภาพโยใช้สารอินทรีย์ และให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ ซึ่งเป็นวิธีการอาศัยการส่งผ่านคลื่นไมโครเวฟไปยังเซลล์พืชโดยทำให้โมเลกุลของน้ำหรือความชื้นที่มีอยู่ในเซลล์พืชสั่นสะเทือนเกิดแรงดันขึ้นภายในเซลล์ทำให้เซลล์แตก เป็นการทำลายโครงสร้างของเซลล์ ส่งผลให้สามารถแยกเซลลูโลสออกมาได้

ส่วนการระเบิดไอน้ำที่อุณหภูมิ 230 องศาเซลซียส ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดคือร้อยละ 54.11±3.53 ซึ่งการเตรียมเซลลูโลสโดยให้ความร้อนด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำนี้มวลชีวภาพจะถูกให้ความร้อนโดยใช้ความดันของไอน้ำในระยะเวลาสั้นๆ ทำให้ไอน้ำเกิดการขยายตัวภายในเซลล์ส่งผลให้มวลชีวภาพแยกเป็นเส้นสาย (Sarkar *et al*., 2012)

2. ผลการศึกษาปัจจัยในการทำปฏิกิริยาการย่อยเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาล

การย่อยเซลลูโลสจากทางปาล์มน้ำมันให้เปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ CTec2 พบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2.0 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 96 ชั่วโมง มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุดเท่ากับ 51.39±3.49 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการแช่ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด เนื่องจากโซเดียมไฮดรอกไซด์เกิดปฏิกิริยาที่รุนแรง สามารถย่อยเซลลูโลสได้ดี จึงส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลที่สูงซึ่งปัจจัยที่ผลต่อการย่อยสลายเซลลูโลส คือ ความพรุน (porosity) ของชิ้นส่วนวัตถุดิบและปริมาณของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสที่มีอยู่ ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์เซลลูเลสลดลง ส่งผลให้ได้ปริมาณซับสเตรตต่ำ ดังนั้น การกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส การลดขนาดผลึกของเซลลูโลส และการเพิ่มช่องว่าง (ความพรุน) ระหว่างโมเลกุลของวัตถุดิบในกระบวนการเตรียมตัวอย่างโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำให้เซลลูโลสตอบสนองต่อการย่อยของเอนไซม์ได้ดีขึ้น (Sarkar *et al*., 2012)

3. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมันในกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้ยีสต์

จากการทดลองการผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ช่วยในกระบวนการหมักน้ำตาลที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ CTec2 พบว่า หลังจากการหมักเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ปริมาณเอทานอลสูงสุดได้จากน้ำหมักด้วยร้อยละ 2.0 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ ร้อยละ 2.0 เมทานอลร่วมกับไมโครเวฟ โดยมีปริมาณเอทานอลเท่ากับร้อยละ 2.6±0.13 และ 2.5±0.18 ตามลำดับซึ่งปริมาณเอทานอลที่ได้ต่ำกว่าชุดควบคุมที่เซลลูโลสบริสุทธิ์มาก เนื่องจากน้ำตาลที่ได้จากการปรับสภาพเซลลูโลสจากทางปาล์มน้ำมันยังคงมีสิ่งปนเปื้อนหลงเหลืออยู่มากโดยเฉพาะลิกนิน ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำให้ได้ปริมาณของเอทานอลต่ำกว่าชุดควบคุม

4. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมันในกระบวนการหมักแบบกะโดยใช้จุลินทรีย์ชอบร้อน

ในกระบวนการหมักน้ำหมักจากตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพโดยวิธีต่างๆ โดยใช้จุลินทรีย์ชอบร้อนสายพันธุ์ *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2 พบว่า นั้นให้ผลิตเอทานอลได้ แต่ยังคงได้ปริมาณเอทานอลค่อนข้างต่ำอยู่ในช่วงร้อยละ 0.9-1.65 โดยร้อยละ 2.0 โซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดคือร้อยละ 1.65±0.08 ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ชอบร้อนมีการเจริญเติบโตต่ำในสารพวกพอลิเมอร์ แต่ทำการหมักได้ง่ายขึ้นเมื่อย่อยพอลิเมอร์ด้วยด่าง (Sudha et al., 1998)

5. การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส ไฮโดรไลเสตทางปาล์มน้ำมัน

จากการวิเคราะห์ผลตอบแทนของการผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน พบว่าการนำทางปาล์มน้ำมันมาปรับสภาพก่อนนำไปผลิตเอทานอลให้ผลตอบแทนสูงกว่าการใช้ทางปาล์มน้ำมันที่ไม่ผ่านการปรับสภาพมาผลิตเอทานอล ซึ่งควรจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในส่วนชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ใน

การผลิตเอทานอลจากทางใบปาล์มน้ำมัน และสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการผลิตแอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยต่อไป

1. ควรทดลองใช้เชื้อจุลินทรีย์หลายๆชนิด เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลในปริมาณสูง
2. ควรศึกษาผลพลอยได้อื่นหลังจากการผลิตเอทานอลเพื่อสามารถเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ฐิติมา วงค์ชมพู พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และสามารถ มูลอามาตย์. 2542. การเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อยโดยการหมักแบบกะและกึ่งต่อเนื่องโดยใช้*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ สุมลวรรณ ชุ่มเชื้อ ศุภชัย สมัปปิโต โสภิษฐ์ เวทยสุภรณ์ บุษบา ธระเสนา และรำไพ เกณฑ์สาคู. 2548. การผลิตเอทานอลจากวัสดุการเกษตร. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ธีรภัทร ศรีนรคุตร. 2543. จากอดีตถึงปัจจุบัน : โครงการการผลิตเอธานอล. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 15(3): 89 – 94.

นคร ทิพย์ยาวงศ์. 2553. เทคโนโลยีการแปลงสภาพชีวมวล. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2539. จุลชีววิทยาทั่วไป. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

พลังงาน, กระทรวง. 2554. สถานการณ์พลังงาน ปี พ.ศ. 2552. [ออนไลน์] สืบค้นจาก http://new.energy.go.th/sites/all/files/situation52.pdf (15 มิถุนายน 2554)

พิชิต เดชนีรนาท. 2546. เอทานอล แหล่งพลังงานสะอาดของไทยในอนาคต. [ออนไลน์] สืบค้นจาก http://blog.eduzones.com/physicszone/14861 (1 สิงหาคม 2557).

พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และลักขณา เหล่าไพบูลย์. 2540. การศึกษาการหมักแอลกอฮอล์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร โดยวิธีแบบ Batch และ Fed Batch. รายงานการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี. 2539. การใช้ประโยชน์ของเสีย ตอนที่1 :การผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลโดย*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5017 ตรึงรูป. มกค. 16: 14 – 23.

มนตรี จุฬาวัฒนทล. 2542. เมตาบอลิสมของคาร์โบไฮเดรท. ชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ

สมใจ ศิริโชค. 2544. การผลิตเอทานอล. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ: บริษัท พิมพ์ดี จำกัด.

สวลี ดีประเสริฐ. 2554. การประมาณการผลิตเอทานอลจากของเสียในกระบวนการผลิตสัปปะรดกระป๋องในประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการระดับชาติและเครือข่ายวิจัยสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ ประจำปี 2554.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. ตัวชี้วัดทางเศรษฐกิจการเกษตรของประเทศไทย. เอกสารสถิติการเกษตรเลขที่ 412. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. สืบค้นจาก http://www.oae.go.th/pdffile/indicator.pdf

Abdul Khalil H.P.S., Siti Alwani M. and Mohd Omar A.K. 2006. Chemical composition, anatomy, lignin distribution, and cell wall structure of Malaysian plant waste fibers. Bioresources. 1(2): 220-232.

Angle, M.N., Ferrando, F., Farriol X. and Salvado, J. 2001. Suitability of steam exploded residual softwood for the production of binderless panels. Effect to the pre-treatment severity and lignin addition.Biomass and bioenergy. 21:211-224.

Avci A and Donmez S. 2006. Effect of zinc on ethanol production by two *Thermoanaerobacter* strains.Process Biochem. 41: 984–989.

Beukes, N and Pletschke, BI. 2011. Effect of alkaline pre-treatment on enzyme synergy for efficient hemicellulose hydrolysis in sugarcane bagasse. Bioresour technol. 102(8):5207-13.

Buckeridge M.S., dos Santos H.P. and Tine M.A.S. 2000. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. Plant physiol. Biochem. 38:141-156.

Cheng K.K., Cai B.Y., Zhang J.A., Ling H.Z., Zhou Y.J., Ge J.P. and Xu J.M. 2008. Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process.Biochem.Engineer. J. 38: 105–109.

Darvill, A., M. McNeil, P. Albersheim and D.P. Delmer. 1980. The primary cell walls of flowering plants, p.160. In P.K. Stumpf and E.C. Com (eds). The Biochemistry of plants : A comprehensive treatise. Vol. 1.Acadamiv press. New York.

Dien, B.S., Cotta, M.A, and Jeffries, T.W. 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status, Appl. Microbiol. Biotechnol.63: 258–266.

Ebringerova, A. and Heinze, T. 2000. Xylan and xylan derivatives-biopolymers with valuable properties, natural occurring xylan structures, isolation procedures and properties.Macromol.Rapid commun. 21:542-556.

Esteghlalian, A., Hashimoto, A.G., Fenske, J.J. and Penner, M.H. 1997. Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass", Bioresource technology. 59:129-136.

Fry, S.C.1989. The structure and functions of xyloglucan. J. Exp. Bot ;40:1-11.

Gross, K.C. 1990. Recent developments on tomato fruit softening.Postharves news and frormation. 1: 109-112.

Hamilton, T.J., Dale, B.E., Ladisch. M.R.and Tsao, G.T. 1984. Effect of ferric tartrate/sodium hydroxide solvent pretreatment on enzyme hydrolysis of cellulose in corn residue. Biotechnol Bioeng. 26(7):781-7.

Ha S.H., Mai, N.L., An, G. and Koo, Y-M. 2011. Microwave-assited pretreatment of cellulose in ionic liquid for accelerated. Bioresour technol; 102(2): 1214-1219.

Harris P.J. 2005. Diversity in plant cell walls. In: Henry RJ, editor. Plant Diversity and Evolution: Genotypic and Phenotypic Variation in Higher Plants. Wallingford, Oxon, UK: CAB International Publishing; p. 201-227.

Hayashi T. 1989. Xyloglucans in the primary cell wall.Annu.Rev. Plant Physiol. Plant Mol. 40:139-168.

Iranmahboob, J., Nadim, F. and Monemi, S., 2002, "Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips", Biomass & Bioenergy, Vol 22, pp. 401-404.

Kays, S.J. 1991. Postharvest physiology of perishable plant products. Van Nostrand Reinhold. New York. 532p.

Kee , K.K. 2004. Nutrient reserves and recycling from oil palm trunks at replanting. In: Proceedings of the Fourth International Crop Science Congress on New Direction For a Diverse Planet, Brisbane, www.cropscience.org.au, 25/5/06.

Keshwani, D.R. and Cheng, J.J. 2010. Microwave-based alkali pretreatment of switchgrass and coastal bermudagrass for bioethanol production. Bioethanol prog. 26(3):644-652.

Koba Y. and Ishizaki A. 1990. Chemical composition of palm fiber and its feasibility ascellulosic raw material for sugar production. Agric. Biol. Chem. 54 (5): 1183–1187.

Law, K.N., Wan Rosli, W.D. and Arniza, G. 2007. Oil palm empty-fruit bunch. Biol. Res. 2(3): 351–362.

Lin, S.J., Guarente, L. 2006. Increased life span due to calorie restriction in respiratory-deficient yeast. PLoS Genet. 2006;2:e33.

Lynd, L.R., Baskaran, R, and Casten, S. 2001. Salt accumulation resulting from base added for pH control, and not ethanol, limits growth of *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* HG-8 at elevated feed xylose concentrations in continuous culture. Biotechnol Prog. 17: 118-125.

McNeil, M., Darvill, A.G., Fry. S.C. and Albersheim, P. 1984. Structure and function of the primary cell wall of plants. Ann. Rev. Biochem. 53: 625-663.

Miyazaki. K., Irbis, C., Takada, J.and Matsuura, A. 2008. An ability of isolated strains to efficientlycooperate in ethanolic fermentation of agricultural plant refuse under initially aerobic thermophilic conditions: Oxygen deletion process appended to consolidated bioprocessing (CBP). Bioresour Technol. 99: 1768-1775.

Moniruzzaman, M. 1996. Saccharification and alcohol fermentation of steam-exploded rice straw. Bioresource technol. 55:111-117.

Nigam, J.N. 1999. Continuous ethanol production from pineapple cannery waste. Journal of biotechnology. 72(3): 197-202.

O-Thong, S., Prasertsan, P., Karakashev, D. and Angelidaki, I. 2008. Thermophilic fermentative hydrogen production by the newly isolated *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2. Int J Hydrogen Energy. 33:1204-1214.

Parika, M. 2004. Global biomass fuel resources.Biomass and bioenergy. 27: 613-620.

Phowchinda, O. and Strehaiano, P. 2539. Alcoholic Fermentation : use of complex medium by *Saccharomyces cerevisiae*. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 6(2):29-36.

Punsuvon, V., Anpanurak, W., Vaithanomsat, P. and Tungkananuruk, N. 2005. Fractional of chemical components of oil palm trunk by steam explosin. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 - 20 October 2005.

Roger M., Rowell. 2005. Hand book of wood chemistry and wood composite. CRC press. USA. pp.35-71.

Rose, J.K.C., Braam, J., Fry, S.C. and Nishitani, K. 2002. The XTH family of enzymes involved in xyloglucan endotransglucosylation and endohydrolysis: current perspectives and a new unifying nomenclature. Plant cell physiol; 43:1421-1435

Sakar, N., Ghosh, S.K., Bennerjee, S. and Aikat, K. 2012. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. Renewable Energy. 37(1): 19-27.

Shigechi, H., Uyama, K., Fujita, Y., Matsumoto, T., Ueda, M., Tanaka, A., Fukuda, H. and Kondo, A., 2002. Efficient ethanol production from starch through development of novel flocculent yeast strains displaying glucoamylase and co-displaying or secreting α- amylase. Journal of Molecular Catalysis. 17: 179-187.

Sommer, P, Georgieva, T and Ahring, BK. 2003. Potential for using thermophilic anaerobic bacteria for bioethanol production from hemicellulose. Biochem Soc Transact. 32: 283-289.

Sudha Rani, K., Swamy, M.V. and Seenayya, G. 1998. Production of ethanol from various pure and natural cellulosic biomass by *Clostridium thermocellum* strains SS21 and SS22. Process Biochem. 33:435-440.

Sun, X.F., Xu, F., Sun, R.C., Geng, Z.C., Fowler, P. and Baird, M.S. 2005. Characteristics of degrade hemicellulosic polymers obtained from steam-expolded wheat straw. Carbohydrate polymers. 60:15-26.

Todar, K. 2011. Lactic acid bacteria.[online]. Available from:http://textbookofbacteriology.net/

lactics_2.html

Tucker, G.A. and Grierson, D. 1987. Fruit ripening. 265-318. In D.D. Davis (ed.) The biochemistry of plants. Vol. 12.Acadedmic press. New York.

Van Groenestijn, J.W., Hazewinkel, J.H.O., Nienoord M. and Bussmann, P.J.T. 2002. Energy aspects of biological hydrogen production in high rate bioreactors operated in thermophilic temperature range. International Journal of Hydrogen Energy.27(11-12): 1141-1147

Van Niel, E.W.J., Claassen, P.A.M. and Stams, A.J.M. 2003. Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile. Caldicellulosiruptor saccharolyticus, Biotechnol Bioeng 81: 255–262.

Verma, G., Nigam, P., Singh, D. and Chaudhary, K. 2000. Bioconversion of starch to ethanol in a single – step process by coculture of amylolytic yeasts and *Saccharomyces cerevisiae* 21. Bioresource Technology. 72: 261 – 266.

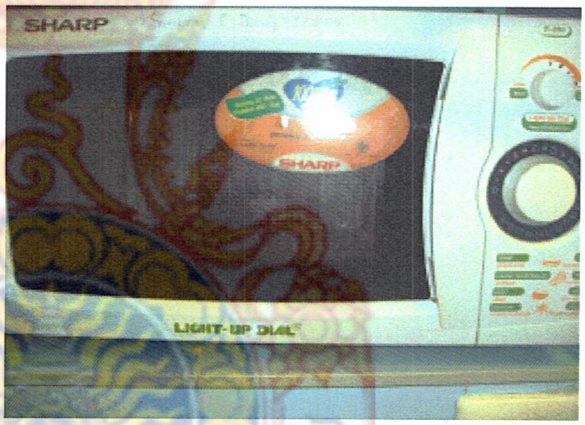
Wikipedia. Oil palm. [online]. 2011a. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Oil_palm

Wikipedia. Cell wall. [online]. 2011b. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Cell_wall

ภาคผนวก ก

ภาพประกอบการทดลอง

การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยใช้กรดซัลฟิวริคและโซเดียมไฮดรอกไซด์

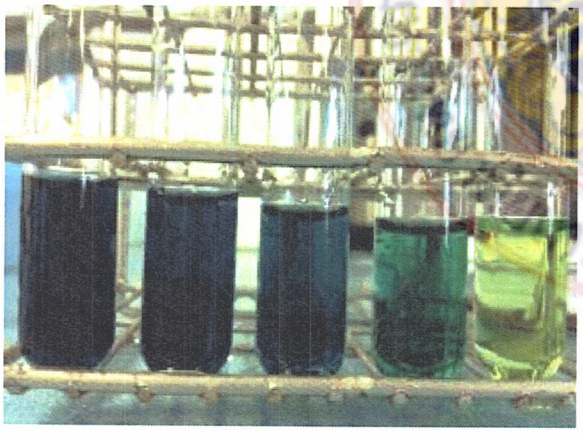


การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์มน้ำมันโดยใช้สารละลายอินทรีย์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ800 W

ตัวอย่างวิเคราะห์องค์ประกอบ

ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ

เติมเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเขย่า 150 รอบ/นาที



ตัวอย่างวิเคราะห์เอทานอลและน้ำตาล