



ที่ สวก ๐๗๐๐/ว๓๘๖



๒๗ มกราคม ๒๕๖๕

เรื่อง ขอมอบผลงานวิจัยเชิงนโยบายและเชิงสาธารณะ กลุ่มเรื่องพืชสวน

เรียน อธิการบดีมหาวิทยาลัยทักษิณ

ด้วยสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) หรือ สวก. เป็นผู้สนับสนุนทุนวิจัยด้านการเกษตร และบริหารทุนมุ่งเป้าเพื่อตอบสนองความต้องการในการพัฒนาประเทศโดยเร่งด่วน : กลุ่มเรื่องพืชสวน ตั้งแต่ปี ๒๕๕๘ – ปัจจุบัน เพื่อสนับสนุนงานวิจัยที่สอดคล้องกับกรอบยุทธศาสตร์งานวิจัยของประเทศ โดยมุ่งเน้นการลดต้นทุนการผลิต การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต การพัฒนาสินค้าเกษตรที่มีคุณภาพดี เพื่อสนองความต้องการของตลาด รวมถึงการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันของสินค้าเกษตรในตลาดโลก ปัจจุบันมีโครงการวิจัยที่สิ้นสุดแล้ว และได้องค์ความรู้ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทั้งทางตรงและทางอ้อมในเชิงนโยบายและเชิงสาธารณะ

ในการนี้ สวก. ขอมอบผลงานวิจัยดังกล่าวให้แก่ท่านในรูปแบบไฟล์ที่สามารถดาวน์โหลดได้ตาม QR code ที่ปรากฏท้ายหนังสือนี้ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งนี้ หากมีการใช้ประโยชน์ผลงานวิจัยแล้ว โปรดแจ้งให้ สวก. ทราบด้วย เพื่อดำเนินการติดตามผลกระทบ (Impact) หลังการใช้ประโยชน์จากผลงานวิจัยต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

(นายสุวิทย์ ชัยเกียรติยศ)

ผู้อำนวยการสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร

สำนักส่งเสริมการใช้ประโยชน์

โทรศัพท์ ๐ ๒๕๗๙ ๗๔๓๕ ต่อ ๓๓๑๒ (ขวัญนลิน)

โทรสาร ๐ ๒๕๗๙ ๙๘๐๓

ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ khwannalin@arda.or.th



QR Code ดาวน์โหลด

ผลงานวิจัย



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
แผนงานวิจัยเรื่อง

การพัฒนาเศษวัสดุเหลือใช้จากสวนปาล์มน้ำมันในการผลิตพลาสติกและพลังงาน
ทดแทนทางชีวภาพ

Development of plantation waste for the production of
bioplastic and biofuels

โดย

ผศ.ดร.สมพงศ์ โอทอง

รศ.ดร.กนกพร สังข์รักษ์

ดร.นันทรัตน์ พฤษชาพิทักษ์

ดร.ศุภชัย นิติพันธ์

มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

ภายใต้แผนงานวิจัยมุ่งเป้าตอบสนองความต้องการในการพัฒนาประเทศโดยแรงจูงใจ: ปาล์มน้ำมัน

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2556



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
แผนงานวิจัยเรื่อง

การพัฒนาเศษวัสดุเหลือใช้จากสวนปาล์มน้ำมันในการผลิตพลาสติกและพลังงาน
ทดแทนทางชีวภาพ

Development of plantation waste for the production of
bioplastic and biofuels

โดย

ผศ.ดร.สมพงศ์ โอทอง

รศ.ดร.กนกพร สังข์รักษ์

ดร.นันทรัตน์ พฤษชาพิทักษ์

ดร.ศุภชัย นิธิพันธ์

มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

ภายใต้แผนงานวิจัยมุ่งเป้าตอบสนองความต้องการในการพัฒนาประเทศโดยแรงจูงใจ: ปาล์มน้ำมัน

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2556



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การสกัดแยกไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว และการประยุกต์ใช้สำหรับ
การผลิตไบโอดีเซล

The Separation of Lipase from Palm Oil Fruit after Harvested and
Its Application for Biodiesel Production

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.กนกพร สังขรักษ์

นางนิชา ไพจิตร

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การสกัดแยกไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว และการประยุกต์ใช้สำหรับ
การผลิตไบโอดีเซล

The Separation of Lipase from Palm Oil Fruit after Harvested and
Its Application for Biodiesel Production

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.กนกพร สังขรักษ์

นางนิชา ไพจิตร

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การสกัดแยกไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว และการประยุกต์ใช้สำหรับการผลิตไบโอดีเซล” มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว ด้วยวิธีการสกัดแบบ aqueous two phase เนื่องจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยวจะย่อยสลายอย่างรวดเร็ว น่าจะมีไลเปสในปริมาณที่สูง เอนไซม์ดังกล่าวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมได้หลากหลาย รวมทั้งสามารถนำมาเป็นตัวเร่งในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ทั้งนี้ไลเปสส่วนใหญ่ที่ใช้ในอุตสาหกรรมยังมีราคาแพง และผลิตได้จากจุลินทรีย์ ไลเปสจากผลปาล์มจึงเป็นแหล่งของเอนไซม์จากพืชที่น่าสนใจ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางและศึกษาการใช้ไลเปสที่ได้จากผลปาล์มในการผลิตไบโอดีเซล เป็นการประเมินศักยภาพเบื้องต้นในการใช้ไลเปสที่สกัดได้ในการผลิตไบโอดีเซล ทำให้ได้กระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีความจำเพาะเจาะจงของปฏิกิริยา ลดการเกิดผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเดิม

โครงการนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ทางผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณ ดร.สมพงศ์ โอทอง หัวหน้าชุดโครงการวิจัย, สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ และผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ทั้งนี้โครงการนี้จะไม่สำเร็จลุล่วงไปได้หากไม่ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

คณะผู้วิจัย
กันยายน 2557

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นแนวทางในการนำผลปาล์มมาใช้ประโยชน์อื่น ๆ นอกเหนือจากการผลิตน้ำมัน โดยการทดลองจะแบ่งออกเป็นสามส่วน ได้แก่ การสกัด การทำบริสุทธิ์ และการศึกษา กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มน้ำมันภายใน 240 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งการศึกษา คุณสมบัติ และอุณหภูมิที่เหมาะสมของไลเปสที่ได้ จากการศึกษาพบว่าผลปาล์มในช่วง 24-240 ชั่วโมง หลังการเก็บเกี่ยว ที่สกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl บัฟเฟอร์ pH 9 จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส สูงสุด (22.60 ± 0.03 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จะพบในผลปาล์มที่เก็บไว้นาน 120 ชั่วโมง ในขณะที่ปริมาณ โปรตีนสูงสุด (8.56 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะพบที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยว เมื่อทำบริสุทธิ์ เอนไซม์บางส่วนด้วยเทคนิค Aqueous two phase พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะเพิ่มขึ้นเป็น 57.04 ± 0.13 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ พบว่า ไลเปส จากผลปาล์มทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) และมีความสามารถในการทน อุณหภูมิสูงที่ 50-80 องศาเซลเซียส ซึ่งยังคงกิจกรรมของเอนไซม์ไว้ที่ 44.50-52.75 หน่วยต่อมิลลิลิตร สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 120 ชั่วโมง คือที่ อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) พีเอช 9 มี Tributyrin เป็นสับสเตรท และมีแคลเซียมที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พบว่า เอนไซม์จะสามารถคงกิจกรรมไว้ได้ที่ 57.04 หน่วยต่อมิลลิลิตร

Abstract

The objective of this study was to evaluate the possible application of palm fruit other than their biodiesel application. The study was separated into 3 parts including the extraction, purification and the enzyme activity of palm fruit (24-240 h after harvested). In addition, the optimization condition for enzyme activity was also investigated. Fallen palm fruits were collected and extracted with 50 mM Tris-HCl buffer (pH 9). Crude lipase from palm fruit (120 h after harvested) contained the highest lipase activity (22.60 ± 0.03 U/mL). However, palm fruit (24 h after harvested) showed the highest protein content (8.53 ± 0.01 mg/L). Crude enzyme was partially purified by aqueous two phase system. The result showed that lipase activity was increased to 57.04 ± 0.13 U/mL. Afterwards, the optimization condition for enzyme activity was also determined. The optimal temperature for lipase activity was room temperature (30-35°C) and enzyme was contained activity (44.50-52.75 U/mL) in high temperature (50-80°C). The optimum condition for lipase activity was room temperature (30-35°C), pH 9 using tributyrin as substrate in the presence of calcium at 20 mM. Under optimum condition enzyme contained the highest activity at 57.01 U/mL.

สารบัญ

บทที่	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
1 บทนำ	1
2 วิธีการดำเนินการวิจัย	6
การสกัดไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว โดยจะใช้วิธีการสกัดแบบ Aqueous two phase	6
การนำไลเปสไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล	7
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการใช้ไลเปสในการผลิตไบโอดีเซล	8
การประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจในการผลิตไลเปส และไบโอดีเซล	9
3 รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย	10
การสกัดเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว	10
การศึกษาการทำบริสุทธิ์บางประการเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว ด้วยเทคนิค Aqueous two phase system	11
สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว	11
การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยวในการผลิตไบโอดีเซล	16
4 สรุปและข้อเสนอแนะ	18
เอกสารอ้างอิง	19

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงปริมาณโปรตีนจากสารสกัดปาล์มน้ำมันในช่วง 240 ชั่วโมง หลังการเก็บเกี่ยว	10
2 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ตั้งแต่ 30-80 องศาเซลเซียส	11
3 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่พีเอชต่าง ๆ ตั้งแต่ 6.5-12	12
4 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อสับสเตรทต่าง ๆ	13
5 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อแคลเซียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	15
6 แสดงแถบข้อมูลการดูดกลืนแสงที่สำคัญของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันที่ใช้แล้วในครัวเรือนร่วมกับการเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปส เปรียบเทียบกับไบโอดีเซลทางการค้า	16

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แผนภูมิแสดงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	3
2 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ตั้งแต่ 30-80 องศาเซลเซียส	12
3 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่พีเอชต่าง ๆ ตั้งแต่ 6.5-12	13
4 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อสับสเตรทต่าง ๆ	14
5 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อแคลเซียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	15
6 ลักษณะไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันพืชที่ใช้แล้วในครัวเรือน เร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสจาก ผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 120 ชั่วโมง	16
7 แสดงแถบข้อมูลการดูดกลืนแสงที่สำคัญของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันที่ใช้แล้วใน ครัวเรือนร่วมกับการเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปส เปรียบเทียบกับไบโอดีเซลทางการค้า	17

1. บทนำ

ปาล์มน้ำมัน เป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจทั้งในระดับประเทศและระดับโลก มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา เป็นพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่สูงกว่าพืชน้ำมันทุกชนิด และเป็นพืชน้ำมันที่มีการผลิตทั่วโลกเป็นอันดับสองรองจากน้ำมันถั่วเหลือง (ธีระ, 2548; Corley and Tinker, 2003) ปัจจุบันผลผลิตน้ำมันปาล์มของโลกเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 6.30 ต่อปี โดยมีประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซียเป็นผู้นำในการผลิต (คิดเป็นอัตราส่วนร้อยละ 86.90 ของผลผลิตน้ำมันปาล์มโลก) ในขณะที่ประเทศไทยมีพื้นที่การผลิต 3.20 ล้านไร่ ผลผลิต 12 ล้านตัน คิดเป็นน้ำมันปาล์มดิบได้ประมาณปีละ 2.04 ล้านตัน คิดเป็นเพียงร้อยละ 2.82 ของผลผลิตน้ำมันปาล์มโลก ซึ่งผลผลิตดังกล่าวเพิ่มขึ้นจากปี 2555 ที่มีผลผลิตผลปาล์มสดเพียง 11.33 ล้านตัน คิดเป็นปริมาณน้ำมันเพียง 1.89 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) ผลผลิตที่ได้จากปาล์มน้ำมันส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้เพื่อการบริโภค คือ น้ำมันพืช นอกจากนี้บางส่วนยังใช้สำหรับอุตสาหกรรมต่อเนื่อง มีการคำนวณว่าปริมาณการบริโภคในประเทศจะเพิ่มขึ้นประมาณ 10% ต่อปี และมีแนวโน้มความต้องการใช้น้ำมันปาล์มเพิ่มขึ้นต่อเนื่อง เนื่องจากมีราคาถูกกว่าน้ำมันพืชชนิดอื่น ๆ จึงทำให้ปาล์มน้ำมันของไทยจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ในประเทศ ทำให้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ อีกทั้งยังมีการลักลอบนำเข้าน้ำมันปาล์มจากมาเลเซีย โดยเฉพาะในช่วงที่ราคาน้ำมันปาล์มในประเทศมีส่วนต่างราคาน้ำมันปาล์มมาเลเซียสูง ด้วยปัญหาดังกล่าว ในปี พ.ศ. 2555 ราคาน้ำมันปาล์มในประเทศไทยเกิดความผันผวน และเกิดปัญหาน้ำมันปาล์มล้นตลาด ทำให้ผลปาล์มที่เกษตรกรในประเทศปลูกต้องหยุดชะงักการเก็บเกี่ยว เนื่องจากโรงงานไม่มีออเดอร์ผลิตสินค้าจึงไม่รับซื้อผลปาล์มน้ำมันจากเกษตรกร หรือรับซื้อในราคาที่ถูกลงจนเกษตรกรประสบปัญหาขาดแคลนรายได้เป็นจำนวนมาก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) สำหรับราคาน้ำมันปาล์มในตลาดปัจจุบันอยู่ที่ 3.20-3.40 บาทต่อกิโลกรัม โดยผลผลิตจะเริ่มออกมากตั้งแต่ปลายเดือนเมษายน ไปถึงสิ้นปีประมาณเดือนละ 1 ล้านตันผลปาล์มดิบ จึงทำให้ราคาผลปาล์มในอนาคตมีแนวโน้มลดต่ำลงเหลือเพียง 2.60 บาทต่อกิโลกรัม (สมาคมชาวสวนปาล์มน้ำมัน จ.สุราษฎร์ธานี, 2556)

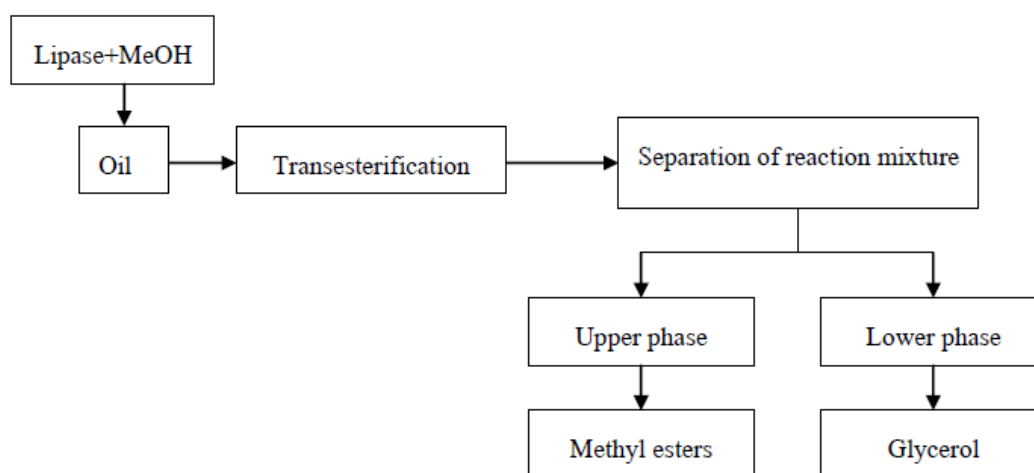
ดังนั้นแนวทางหนึ่งที่จะแก้ปัญหาล้นตลาดและราคาปาล์มตกต่ำนั้นคือ การศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีและชีวภาพที่เป็นประโยชน์จากผลปาล์ม ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลปาล์มเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร อีกทั้งยังได้ผลผลิตมูลค่าสูงจากผลปาล์มซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมได้อย่างกว้างขวาง เป็นการนำผลปาล์มไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากการผลิตน้ำมันปาล์ม จากการศึกษาคุณสมบัติของปาล์มน้ำมันพบว่าปาล์มน้ำมันจะมีปริมาณน้ำมันประมาณ 22% ของน้ำหนักทะลาย นอกจากนี้ในผลปาล์มน้ำมันยังมีองค์ประกอบทางเคมีเกี่ยวข้องกับวิตามินที่สำคัญอยู่ 2 ชนิด คือ วิตามินอี และสารแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสร้างวิตามินเอ โดยน้ำมันปาล์มจะมีปริมาณวิตามินและแคโรทีนอยด์สูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ในผลปาล์มยังมีไลเปส ที่สามารถนำไปใช้เป็นตัวเร่งในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลซึ่งมีราคาแพง และมีความต้องการเป็นอย่างมากในปัจจุบัน (Othman *et al.*, 2010) งานวิจัยในปัจจุบันจะมุ่งเน้นศึกษาถึงองค์ประกอบของไขมันและกรดอะมิโนจากผลปาล์มน้ำมัน (Bora และ Moreira, 2003) แต่ยังไม่มียางานใดที่กล่าวถึงการสกัดไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว และการนำไปใช้ประโยชน์

ปัจจุบันพลังงานเชื้อเพลิงจากฟอสซิล ซึ่งได้แก่ น้ำมัน ก๊าซธรรมชาติ และถ่านหินกำลังลดปริมาณลงอย่างรวดเร็ว และมีแนวโน้มว่าจะหมดลงภายในไม่กี่สิบปีข้างหน้า โดยมีการคาดการณ์ว่า หากมีการใช้พลังงานในอัตราที่สูงเช่นในปัจจุบัน จะทำให้เหลือพลังงานในรูปแบบของน้ำมันปิโตรเลียมและก๊าซธรรมชาติสำหรับใช้ได้อีกเพียง 40 และ 64 ปีตามลำดับ (Vasudevan and Briggs, 2008) จากวิกฤตการดังกล่าว ก่อให้เกิดการตื่นตัวที่จะหาพลังงานทดแทนเพื่อจะนำมาใช้ในอนาคต ไม่ว่าจะเป็นพลังงานแสงอาทิตย์ ลม น้ำ หรือชีวมวล ไบโอดีเซลก็เป็นหนึ่งในพลังงานทดแทนที่ประเทศต่าง ๆ กำลังให้ความสนใจ เนื่องจากไบโอดีเซลมีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และสามารถใช้แทนกันได้ อีกทั้งยังมีความสมบัติบางประการที่ดีกว่า โดยการเผาไหม้ของไบโอดีเซลจะไม่ก่อให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เนื่องจากองค์ประกอบของไบโอดีเซลไม่มีธาตุกำมะถัน เกิดก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และฝุ่นละอองน้อยกว่ามากเมื่อเทียบกับไบโอดีเซลปกติ ไบโอดีเซลเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำน้ำมันพืช หรือน้ำมันจากสัตว์มาทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันด้วยแอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล หรือเอทานอล โดยอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยาของแข็ง (Heterogeneous solid catalyst) หรือ โลปเลส การผลิตไบโอดีเซลในระดับอุตสาหกรรมจะนิยมใช้ต่าง เนื่องจากสามารถผลิตไบโอดีเซลได้ในปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว แต่กระบวนการดังกล่าวก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการอย่างสบู่ออกมาจำนวนมาก รวมทั้งต้องใช้อุณหภูมิและความดันสูง และต้องอาศัยขั้นตอนในการแยก และกำจัดต่างที่ยุ่งยาก ปัจจุบันจึงมีผู้สนใจทำการศึกษาการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้โลปเลสที่ได้จากพืช และจุลินทรีย์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เนื่องจากกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์จะมีความจำเพาะสูง เกิดสารที่ไม่ต้องการจากการทำปฏิกิริยาน้อย การแยกผลิตภัณฑ์และการทำให้บริสุทธิ์ก็สามารถทำได้ง่าย นอกจากนี้เอนไซม์ยังเป็นสิ่งที่ได้จากสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ จึงไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม (เกษรา ทองบริบูรณ์, 2553) ปัจจุบันน้ำมันปาล์มเป็นวัตถุดิบหลักของการผลิตไบโอดีเซลในประเทศไทยเนื่องจากมีปริมาณมาก การใช้น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ในการผลิตไบโอดีเซลมีข้อจำกัดเรื่องต้นทุนที่มีราคาสูง แต่หากช่วงใดที่ราคาปาล์มตกต่ำก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการใช้ประโยชน์น้ำมันปาล์มในด้านอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากการบริโภค

ไบโอดีเซลหมายถึงน้ำมันเชื้อเพลิงที่สามารถใช้ทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมดีเซลได้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลมาก และสามารถใช้ได้กับเครื่องยนต์ดีเซลแทบทุกชนิด ไบโอดีเซลผลิตได้มาจากการนำน้ำมันพืชหรือสัตว์มาผ่านการทำปฏิกิริยาทางเคมีกับแอลกอฮอล์โดยอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็นสารเอสเทอร์และกลีเซอรอล เรียกปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นว่า ทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (Transesterification) การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์เป็นกระบวนการผลิตที่อาศัยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างน้ำมันกับแอลกอฮอล์ โดยใช้โลปเลสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การผลิตด้วยวิธีนี้มีข้อได้เปรียบหลายประการคือ ปฏิกิริยาไม่รุนแรง สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิห้อง ปฏิกิริยามีความจำเพาะสูง และเก็บเกี่ยวกลีเซอรอลได้ง่าย แต่การผลิตโดยโลปเลสต้องใช้ต้นทุนสูง เมื่อเทียบกับกระบวนการอื่น ๆ เนื่องจากเอนไซม์มีราคาแพง Fukuda และคณะ (2001) ได้แบ่งการใช้โลปเลสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกเป็น 2 แบบด้วยกันคือ การใช้โลปเลสที่อยู่ภายนอกเซลล์ และการใช้โลปเลสที่อยู่ภายในเซลล์ สำหรับการใส่เอนไซม์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ เป็นการนำเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ปล่อยออกนอกเซลล์มาใช้ประโยชน์ โดยวิธีนี้มีข้อดีคือเอนไซม์ที่ได้จะมีความบริสุทธิ์สูง และสามารถควบคุมสภาวะในการทำปฏิกิริยาได้ง่ายกว่าเอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์ จุลินทรีย์ เนื่องจากได้ผ่านขั้นตอนของการทำบริสุทธิ์และนำมาตรึงเซลล์กับตัวพุง แต่มีข้อเสีย คือ

กรรมวิธีการผลิตเอโนไซม์มีหลายขั้นตอน การใช้ไลเปสที่อยู่ภายในเซลล์ เป็นการนำเซลล์จุลินทรีย์ที่ผลิตไลเปสมาใช้ประโยชน์ในการผลิตไบโอดีเซล โดยการตรึงตัวเซลล์ไว้ด้วยตัวพุงที่เป็นวัสดุตามธรรมชาติ ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือ กรรมวิธีการผลิตสามารถทำได้ง่ายกว่าแบบแรก อีกทั้งเอโนไซม์มีความคงตัวสูง แต่มีข้อเสียที่ความบริสุทธิ์ของเอโนไซม์จะต่ำกว่าแบบแรก และการควบคุมสภาวะของการทำปฏิกิริยาก็ทำได้ยากกว่า เนื่องจากต้องควบคุมสภาวะให้ตัวเซลล์สามารถคงสภาพอยู่ได้ และเอโนไซม์ในตัวเซลล์ยังสามารถทำงานได้ สำหรับไลเปสจากผลปาล์มจัดเป็นการใช้ไลเปสที่อยู่ภายนอกเซลล์

สำหรับแผนภูมิแสดงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แผนภูมิแสดงกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ที่มา : Fukuda et al. (2001)

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ไลเปส มีด้วยกันหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นปัจจัยในด้านของตัววัตถุดิบ สภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา กลไกในการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่จะส่งผลให้ปฏิกิริยาสามารถดำเนินไปได้อย่างสมบูรณ์ และได้ผลิตภัณฑ์ออกมาในปริมาณที่สูง ปัจจัยต่าง ๆ ที่ต้องพิจารณามีดังต่อไปนี้

(1) ชนิดของไลเปส : ปัจจัยในส่วนของเอโนไซม์ที่จะนำมาผลิตไบโอดีเซลเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากปฏิกิริยาการผลิตจะเกิดได้สมบูรณ์หรือดีมาน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับกิจกรรมการเร่งปฏิกิริยาของเอโนไซม์เป็นหลัก ส่วนการควบคุมปัจจัยอื่น ๆ มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เอโนไซม์สามารถทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพและมีความคงตัวสูงสุด การนำเอโนไซม์มาใช้ในการผลิตไบโอดีเซลในระยะแรกของการศึกษาจะเป็นการใช้เอโนไซม์อิสระในการทำปฏิกิริยา แต่เนื่องจากข้อจำกัดของการใช้เอโนไซม์อิสระที่ไม่สามารถนำเอโนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้ จึงได้มีการพัฒนาเป็นการใช้เอโนไซม์ตรึงรูปที่มีความสะดวกในการทำงาน และการนำกลับมาใช้ใหม่ โดยสามารถใช้ได้ทั้งเอโนไซม์ชนิดเดียว และเอโนไซม์ผสม

(2) ปริมาณเอโนไซม์ : ปริมาณเอโนไซม์ที่ต้องใช้จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณของสารตั้งต้นในปฏิกิริยาโดยจะต้องมีมากพอที่จะสามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นที่มีอยู่ให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ให้ได้มากที่สุด

และไม่มากจนเกินความจำเป็น ซึ่งปริมาณเอนไซม์ที่ใช้จากรายงานเป็นของน้ำหนัก หรือร้อยละของเอนไซม์ต่อน้ำหนักของารตั้งต้นน้ำมัน (Samukawa et al., 2000) หรือการเทียบค่ากิจกรรมของเอนไซม์ก่อนการทำปฏิกิริยาในหน่วยของยูนิตต่อมิลลิกรัมเอนไซม์ แล้วจึงคำนวณหาปริมาณยูนิตของเอนไซม์ที่ต้องเติมเทียบกับปริมาณของสารตั้งต้นที่จะใช้ ทั้งนี้หากมีสัดส่วนของปริมาณเอนไซม์และสารตั้งต้นที่ไม่เหมาะสม ปริมาณของสารตั้งต้นที่มากกว่าจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์บางส่วนเสียสภาพและไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ ซึ่งมักเกิดขึ้นในปฏิกิริยาการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้เมทานอลเป็นสารตั้งต้น (Samukawa et al., 2000)

(3) ชนิดและสัดส่วนของแอลกอฮอล์ : แอลกอฮอล์เป็นวัตถุดิบที่มีความสำคัญในการที่จะกำหนดชนิดของไบโอดีเซลที่ผลิตได้โดยส่วนใหญ่แอลกอฮอล์ที่จะใช้ผลิตไบโอดีเซลจะเป็นแอลกอฮอล์สายสั้น ๆ เช่นเมทา-นอล โพรพานอล และบิวทานอล เป็นต้น

(4) ตัวทำละลายอินทรีย์ : การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเฟส กล่าวคือ เฟสที่เป็นสารมีขั้วสูง คือน้ำ และแอลกอฮอล์ ซึ่งมีโพลาร์ละลายอยู่ กับเฟสที่เป็นสารตั้งต้นที่มีขั้วน้อยคือ น้ำมัน โดยทั่วไปสารทั้งสองไม่สามารถละลายเข้ากันได้จึงต้องใช้ตัวทำละลายเป็นตัวประสาน อีกทั้งตัวทำละลายยังช่วยลดการยับยั้งของเอนไซม์เนื่องจากความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่มากเกินไป ทั้งนี้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้จะต้องสามารถทำละลายได้ทั้งในน้ำ น้ำมัน และแอลกอฮอล์

(5) ปริมาณน้ำ : น้ำเป็นสิ่งจำเป็นต่อการทำปฏิกิริยาการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ เนื่องจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์จะต้องอาศัยน้ำเป็นตัวช่วย แต่บางครั้งปริมาณน้ำที่มากเกินไป จะทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติของไบโอดีเซล ปริมาณน้ำที่เหมาะสมจะแตกต่างกันไปตามสภาวะของการทำปฏิกิริยา โดยจะต้องเป็นปริมาณที่จะก่อให้เกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันในอัตราที่สูง และเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้น้อย

(6) อุณหภูมิ : อุณหภูมิมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์เนื่องจากเอนไซม์เป็นองค์ประกอบของโปรตีน ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาจึงอยู่ในช่วงอุณหภูมิปกติคือ 30-40 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมจะแตกต่างกันตามชนิดเอนไซม์ที่ใช้

(7) พีเอช : พีเอชเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีน ค่าพีเอชที่ควรนำมาพิจารณาจึงมีความสัมพันธ์กับค่า pI (Isoelectric point) ของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์

ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปริมาณและกิจกรรมของไลเปสจากผลปาล์มตั้งแต่เก็บเกี่ยวจนกระทั่งเน่าเสียจากผลปาล์มสายพันธุ์ผสมเทเนอร่าซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมเพาะปลูกในประเทศไทย ซึ่งยังไม่มีงานวิจัยใดได้ศึกษามาก่อน ข้อมูลดังกล่าวจะทำให้ทราบถึงกระบวนการที่เหมาะสมต่อการสกัดไลเปสจากผลปาล์มเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณมากที่สุด ไลเปสที่สกัดได้จะนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มใช้แล้ว นอกจากนี้ไลเปสที่ได้จะถูกนำมาศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซล ได้แก่ ปริมาณของเอนไซม์ ชนิดและสัดส่วนของแอลกอฮอล์ ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ ปริมาณน้ำ และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยา ข้อมูลจากการศึกษานี้จะช่วยเพิ่มมูลค่าของผลปาล์มน้ำมัน ลดปัญหาปาล์มล้นตลาด อีกทั้งยังช่วยเพิ่มทางเลือกในการนำผลปาล์ม

ไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ นอกเหนือจากการบริโภค ได้แก่ การนำไปสกัดเออนไซม์ และการผลิตไบโอดีเซล เป็นต้น

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การสกัดไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว โดยจะใช้วิธีการสกัดแบบ Aqueous two phase

2.1.1 การเตรียมและสกัดสารจากปาล์มน้ำมัน

ตัวอย่างปาล์มหลังการเก็บเกี่ยวในช่วงเวลา 1-10 วัน จะถูกนำมาหั่นให้ละเอียดซึ่งมาอย่างละ 20 กรัม นำตัวอย่างไปปั่นรวมกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH 9 (ใช้ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ 50 มิลลิโมลาร์) ในอัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร คนตลอดเวลา ประมาณ 30 นาที กรองสารละลายด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปเซนตริฟิวส์ที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ไปทำการตรวจสอบปริมาณโปรตีน กิจกรรมของไลเปส (lipase activity) และความหนืดของเอนไซม์

2.1.2 การหาปริมาณโปรตีนของสารสกัดจากผลปาล์มน้ำมัน

ปริมาณโปรตีนในสารสกัดหยาบจะถูกนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานโปรตีน การเตรียมกราฟมาตรฐาน โปรตีนมาตรฐาน (BSA) ทำได้โดย เตรียม 0.1% BSA ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยเทคนิค Lowry method เติม อัลคาร์โลด์คอปเปอร์ 3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เติม สารละลาย ฟอลิน-ฟินอล รีเอเจนซ์ 0.3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 nm นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟโปรตีนมาตรฐานปริมาณโปรตีนมาตรฐาน (BSA) หน่วยเป็น มิลลิกรัม กับค่าการดูดกลืนแสง 650 nm ปริมาณโปรตีนในสารสกัดหยาบปาล์มน้ำมัน จะถูกนำไปเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน BSA ความเข้มข้น 0.1%

2.1.3 การแยกไลเปสด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

การแยกไลเปสจากผลปาล์มโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ในสารละลาย 5% 10% 15% และ 20% ของ Polyethylene glycol 1500 กับเกลือ Tripotassium citrate โดยการนำสารสกัดจากผลปาล์มมาผสมกับ Polyethylene glycol 1500 ตามเปอร์เซ็นต์ที่กำหนด ละลายให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเกลือ Tripotassium citrate ที่ละน้อย ๆ ลงในของผสมดังกล่าวที่มีการคนตลอดเวลา จนของผสมแยก 2 ชั้น โดยชั้นบนเป็นชั้น PEG ชั้นล่างเป็นชั้นของสารละลายเกลือ นำสารละลายที่แยกจากทั้งสองส่วนไปหาแอกติวิตีของไลเปส ปริมาณโปรตีน และศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ต่อไป

2.1.4 การแยกโปรตีนด้วยเทคนิคเจลฟิวเทรชันโครมาโทกราฟี

นำสารสกัดชั้น PEG และสารสกัดชั้นเกลือมาผ่านคอลัมน์ Sephadex-G 100 ที่พีเอช 8 ใช้คอลัมน์ยาว 60 ซม. โดยให้มีอัตราเร็วของสารละลายบัฟเฟอร์ 20 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง วัดปริมาณโปรตีน และค่าแอกติวิตีของไลเปส

2.1.5 การหาค่าแอกติวิตีของไลเปส

ค่าแอกติวิตีของไลเปสสามารถหาได้โดยดัดแปลงวิธีจาก Kilcawley *et al.* (2002) ทำได้โดยนำตัวอย่างปาล์มน้ำมันวันต่าง ๆ หลังจากเก็บเกี่ยว ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมน้ำใน 0.1 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0) 2.45 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วย 0.15 M NaCl และ 0.5% Triton X-100 ที่ผ่านการอุ่นที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติม 50 mM p-nitrophenylpalmitate (ที่ละลายใน Acetonitrile) 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของ p-nitrophenol ที่ช่วงความเข้มข้น 0.0 - 0.1 ไมโครกรัม

2.1.6 การหาความทนต่ออุณหภูมิในการทำงานของไลเปส

ทำการศึกษาความทนอุณหภูมิในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 50 – 80 องศาเซลเซียส ที่เวลา 60 นาที โดยศึกษาไลเปส ในสารสกัดหยาบปาล์มน้ำมันในวันต่าง ๆ หลังการเก็บเกี่ยว ข้อมูลของความสามารถในการทนอุณหภูมิของไลเปส สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์

2.2 การนำไลเปสไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

2.2.1 การเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน (tranesterification)

การเตรียมตัวอย่างน้ำมันใช้แล้วสำหรับผลิตไบโอดีเซลก่อนการทดลอง ทำได้โดยการกรองน้ำมันใช้แล้วด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นนำไลเปสมาผสมกับน้ำมันพืชและเมทานอล ในอัตราส่วนน้ำมันพืชต่อเมทานอลและ ไลเปส 10:2:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) คนให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง นำไปตั้งที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ผลจากการทดลอง 1๑) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชันในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล จะเกิดการแยกเป็น 2 ชั้น โดยเมทิลเอสเทอร์ที่อยู่ชั้นบน และกลีเซอรอลอยู่ชั้นล่าง ทำการถ่ายกลีเซอรอลออก นำส่วนบนมาทำการล้างโดยใช้สูตรการล้าง คือ เมทิลเอสเทอร์ต่อน้ำเกลือต่อเฮปเทน ในอัตราส่วน 3:1.5:0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันแล้ววางทิ้งให้แยกชั้น นำชั้นเฮปเทนซึ่งเป็นชั้นบนไปทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

2.2.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำมันพืชที่ใช้แล้วและไบโอดีเซล

- ค่ากรด

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-10 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกลางโดยการเติมฟีนอล์ฟทาไลน์ 5 หยด และปรับให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล หยดต่างที่ละหยดพร้อมทั้งเขย่าหรือกวนจนได้สารละลายเป็นสีชมพูถาวร เติมน้ำเอทิลแอลกอฮอล์ที่เป็นกลาง 50 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงให้ตัวอย่างละลายในแอลกอฮอล์ ถ้าละลายได้ไม่ดีให้อุ่นที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส ไตรเตทสารละลายตัวอย่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล ขณะไตรเตทต้องเขย่าอย่างแรงจนได้สารละลายสีชมพูคงที่ประมาณ 1 นาที คำนวณค่ากรดและปริมาณกรดไขมันอิสระตามสมการ (10) และ (11)

$$\text{ค่ากรด} = \frac{\text{ปริมาณด่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)} \times \text{ความเข้มข้นด่าง (นอร์มอล)} \times 56.1}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad \dots(10)$$

$$\text{กรดไขมันอิสระ(ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณด่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)} \times \text{ความเข้มข้นด่าง (นอร์มอล)} \times 25.6}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad \dots(11)$$

หมายเหตุ : น้ำหนักโมเลกุลของกรดโอเลอิก: 282

กรดปาล์มมิก: 256

กรดลอริก: 200

- ค่าซาปอนิฟิเคชัน

ซึ่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1.2 กรัม ใส่ในขวดกลั่นที่สะอาดและแห้ง เติมน้ำกลั่นละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตและใส่ลูกแก้วในขวดกลั่นด้วย จัดเครื่องกลั่นพร้อมเปิดน้ำหล่อชุดควบแน่นและเปิดสวิทช์ไฟฟลักซ์สารละลายให้เดือดเบา ๆ นาน 1 ชั่วโมง นำขวดใส่สารละลายออกจากชุดกลั่น เติมน้ำกลั่น 5 หยดแล้วไตเตรทด้วยกรดเกลือเข้มข้น 0.5 นอร์มัล เตรียมและไตเตรทแบลงค์เช่นเดียวกับตัวอย่าง คำนวณค่าซาปอนิฟิเคชันจากสมการ (12)

$$\text{ค่าซาปอนิฟิเคชัน (S.N.)} = \frac{(b-a) \times N \times 56.1}{W} \quad \dots(12)$$

b = ปริมาตรกรดเกลือที่ใช้ไตเตรทกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

a = ปริมาตรกรดเกลือที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดเกลือ (นอร์มอล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

การคำนวณค่าน้ำหนักโมเลกุลของไขมัน หรือไขมันจากค่าซาปอนิฟิเคชัน คำนวณได้จากสมการ (13)

$$\text{น้ำหนักโมเลกุล} = \frac{1000 \times 3 \times 56.1}{\text{S.N.}} \quad \dots(13)$$

หมายเหตุ ใช้ในกรณีตัวอย่างน้ำมันที่มีองค์ประกอบเป็นไตรกลีเซอไรด์ทั้งหมด

- ความหนืด

การวิเคราะห์ความหนืด ทำโดยปิเปตสารที่ต้องการทดสอบปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปล่อย จับเวลาเมื่อสารเริ่มหยดออกจนกระทั่งถึงขีดบอกปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร บันทึกเวลาแล้วสังเกตแนวโน้มของเวลาที่ได้ระหว่างน้ำมันใหม่ น้ำมันใช้แล้ว ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอดีเซลที่เร่งด้วยไลเปส เปรียบเทียบเป็นความหนืดสัมพัทธ์ด้วยน้ำ

- การแยกไบโอดีเซลด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC)

การแยกไบโอดีเซลด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) โดยนำแผ่น TLC เคลือบด้วย silica gel เป็น stationary phase และใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง Hexane ต่อ Acetic acid : ต่อ Diethyl ether ในอัตราส่วน 2:7:3 ตามลำดับ เป็น mobile phase หยดไบโอดีเซลที่เร่งด้วยไลเปส น้ำมันพืช บนแผ่น TLC นำมาวางในถังแก้วที่มีตัวทำละลายผสมอิ่มตัว จากนั้นนำแผ่น TLC มาย้อม Iodine แล้ววางทิ้งไว้ให้แห้งสังเกตโครมาโทแกรมที่ได้

2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการใช้ไลเปสในการผลิตไบโอดีเซล

2.3.1 ปริมาณไลเปสที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา

การเตรียมตัวอย่างน้ำมันใช้แล้วสำหรับผลิตไบโอดีเซลก่อนการทดลอง ทำได้โดยกรองน้ำมันใช้แล้วด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นนำไลเปสมาผสมกับน้ำมันพืชและเมทานอล ในอัตราส่วนน้ำมันพืชต่อเมทานอลและ ไลเปส 10:2:0.5 10:2:1 10:2:2 และ 10:2:4 (ปริมาตรต่อปริมาตร) คนให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง นำไปตั้งที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ผลจากการทดลอง 1ข) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ิฟิเคชันในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล จะเกิดการแยกเป็น 2 ชั้น โดยเมทิลเอสเทอร์ที่อยู่ชั้นบน และกลีเซอรอลอยู่ชั้นล่าง ทำการถ่ายกลีเซอรอลออก นำส่วนบนมาทำการล้างโดยใช้สูตรการล้าง คือ เมทิลเอสเทอร์ต่อน้ำเกลือต่อเฮปเทน ในอัตราส่วน 3:1.5:0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันแล้ววางทิ้งให้แยกชั้น นำชั้นเฮปเทนซึ่งเป็นชั้นบนไปทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

2.3.2 ชนิดและสัดส่วนของแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา

การเตรียมตัวอย่างน้ำมันใช้แล้วสำหรับผลิตไบโอดีเซลก่อนการทดลอง ทำได้โดยกรองน้ำมันใช้แล้วด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นนำไลเปสมาผสมกับน้ำมันพืช แอลกอฮอล์ และไลเปส โดยแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เมทานอล เอทานอล โพรพานอล และบิวทานอล ที่อัตราส่วน 0, 10, 25, 50 และ 100% ต่ออัตราส่วนน้ำมัน คนให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง นำไปตั้งที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ผลจากการทดลอง 1ข) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ิฟิเคชันในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล จะเกิดการแยกเป็น 2 ชั้น โดยเมทิลเอสเทอร์ที่อยู่ชั้นบน และกลีเซอรอลอยู่ชั้นล่าง ทำการถ่ายกลีเซอรอลออก นำส่วนบนมาทำการล้างโดยใช้สูตรการล้าง คือ เมทิลเอสเทอร์ต่อน้ำเกลือต่อเฮปเทน ในอัตราส่วน 3:1.5:0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันแล้ววางทิ้งให้แยกชั้น นำชั้นเฮปเทนซึ่งเป็นชั้นบนไปทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

2.3.3 พีเอชที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา

การเตรียมตัวอย่างน้ำมันใช้แล้วสำหรับผลิตไบโอดีเซลก่อนการทดลอง ทำได้โดยกรองน้ำมันใช้แล้วด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นนำไลเปสมาผสมกับน้ำมันพืช แอลกอฮอล์ และไลเปส ในอัตราส่วนที่เหมาะสม (ผลจากการทดลอง 3ข) ปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 3 5 7 และ 9 คนให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง นำไปตั้งที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ผลจากการทดลอง 1ข) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ิฟิเคชันในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล จะเกิดการแยกเป็น 2 ชั้น โดยเมทิลเอสเทอร์ที่อยู่ชั้นบน และกลีเซอรอลอยู่ชั้นล่าง ทำการถ่ายกลีเซอรอลออก นำส่วนบนมาทำการล้างโดยใช้สูตรการล้าง คือ เมทิลเอสเทอร์ต่อน้ำเกลือต่อเฮปเทน ในอัตราส่วน 3:1.5:0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันแล้ววางทิ้งให้แยกชั้น นำชั้นเฮปเทนซึ่งเป็นชั้นบนไปทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

2.4 การประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจในการผลิตไลเปส และไบโอดีเซล

การประเมินต้นทุนการผลิตไลเปส และไบโอดีเซล ทำได้โดยประเมินที่ระดับการผลิตปริมาณ 1 ลิตร และประเมินโดยคิดจากปริมาณวัตถุดิบเริ่มต้น 100 กิโลกรัม ซึ่งการประเมินนี้จะคำนวณต้นทุนของวัตถุดิบ และสารเคมีเท่านั้น

3. รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย

การทดลองจะแบ่งออกเป็นสามส่วน ได้แก่ การสกัด การทำบริสุทธิ์ และการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มน้ำมันภายใน 24-240 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรม และความสามารถในการทนอุณหภูมิของไลเปสที่ได้จากผลปาล์ม

3.1 การสกัดเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว

3.1.1 ปริมาณโปรตีน และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มน้ำมัน

ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้จากผลปาล์มน้ำมัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณโปรตีนจากสารสกัดปาล์มน้ำมันในช่วง 240 ชั่วโมง หลังการเก็บเกี่ยว

ผลปาล์มน้ำมัน หลังจากเก็บเกี่ยว (ชั่วโมง)	ปริมาณโปรตีน ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัม)	กิจกรรมของ เอนไซม์ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	กิจกรรมของ เอนไซม์ไลเปส ทั้งหมด (ยูนิต)	Specific Activity (ยูนิตต่อมิลลิกรัม โปรตีน)
24	8.56±0.01	16.90±0.03	59.20±0.03	6.92
120	6.30±0.02	22.60±0.03	79.10±0.03	12.56
240	5.55±0.03	0.57±0.03	19.90±0.03	3.59

ปริมาณโปรตีนจากการสกัดผลปาล์มน้ำมันที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังการเก็บเกี่ยวที่ 0-240 ชั่วโมง พบว่าผลปาล์มน้ำมันจะมีปริมาณโปรตีน ในช่วง 5.55-8.56 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ โดยปาล์ม น้ำมันในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยวจะมีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (8.56±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัม) และ ปาล์มน้ำมันในช่วงเวลา 240 ชั่วโมง หลังการเก็บเกี่ยวมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุด (5.55±0.03 มิลลิกรัมต่อกรัม) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนมีค่าแปรผกผันกับการวันหลังการเก็บเกี่ยวของปาล์ม น้ำมัน ซึ่งแตกต่างกับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ซึ่งพบว่าปาล์มน้ำมัน หลังการเก็บเกี่ยว 120 ชั่วโมงจะมี กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงที่สุด (22.60±0.03ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ตามมาด้วยผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 24 ชั่วโมง (16.90±0.03 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ต่ำที่สุดจะพบในปาล์มน้ำมัน ในช่วง 240 ชั่วโมงหลังจากเก็บเกี่ยว (0.57±0.03 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) อันเนื่องมาจากการทำงานของ เอนไซม์ที่เหมาะสมน่าจะอยู่ในช่วง 120 ชั่วโมง หลังการเก็บเกี่ยว หลังจากนั้นเอนไซม์อาจจะเกิดการ เสื่อมสภาพ ทำให้การทำงานค่อย ๆ ลดลงซึ่งเปรียบเทียบได้จากค่า Specific Activity ซึ่งในช่วงเวลา 24-120 จะมีค่าสูงขึ้นเรื่อย ๆ หลังจากนั้นก็จะลดลง โดยปาล์มน้ำมันหลังการเก็บเกี่ยว 24 ชั่วโมงจะมี Specific activity ของไลเปส เท่ากับ 6.92 ยูนิตต่อมิลลิกรัม และที่ 120 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยวจะมีค่า Specific activity สูงสุดเท่ากับ 12.56 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ส่วน Specific activity ต่ำสุดจะพบที่ 240 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยว จะมีค่า 3.59 ยูนิตต่อมิลลิกรัม

ความสัมพันธ์ ระหว่างปริมาณโปรตีนกับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส พบว่าปริมาณโปรตีนจะมี ปริมาณลดลงตามระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งต่างจากกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ในช่วงแรกหลังการ เก็บเกี่ยว (24-120 ชั่วโมง)จะมีปริมาณที่สูงขึ้น หลังจาก 120 ชั่วโมง กิจกรรมของเอนไซม์จะค่อย ๆ ลดลง ผลของปริมาณโปรตีนลดลงนั้นอาจเนื่องมาจาก ผลปาล์มน้ำมันมีการนำโปรตีนไปใช้ในกระบวนการ

งอกทำให้เปลี่ยนโปรตีนไปอยู่ในรูปของพลังงานหรือสารอาหาร โดยสอดคล้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส คือในช่วงแรกที่มีการเพิ่มขึ้นนั้นเพราะมีการผลิตในปริมาณที่มากขึ้นเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการงอก หลังจากนั้นก็จะค่อย ๆ ลดน้อยลง

3.2 การศึกษาการทำบริสุทธิ์บางประการเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยวด้วยเทคนิค Aqueous two phase system

จากการทดลองพบว่าผลปาล์มน้ำมันหลังการเก็บเกี่ยวที่ 120 ชั่วโมง จะมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงสุด (22.60 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และมีค่า Specific activity สูงสุด (12.56 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) จึงเลือกผลปาล์มที่ 120 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยวมาทำการบริสุทธิ์บางประการด้วยเทคนิค Aqueous two phase system ผลการทดลองพบว่า การทำบริสุทธิ์บางส่วนจะช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสได้มากกว่า 2.19 เท่า โดยเอนไซม์ไลเปสจะมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นเป็น 57.04 ± 0.13 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เพื่อความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ และความเหมาะสมในการประยุกต์ใช้ ผู้วิจัยจึงไม่ทำบริสุทธิ์เอนไซม์ด้วยขั้นตอนอื่น ๆ เนื่องจากจะเพิ่มค่าใช้จ่าย และอาจไม่เหมาะสมกับการใช้งานในระดับอุตสาหกรรม

3.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว

เอนไซม์ไลเปสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางประการด้วยเทคนิค Aqueous two phase system จะถูกนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ได้แก่ อุณหภูมิ, พีเอช, สับสเตรทและผลของแคลเซียม

3.3.1 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรม และความสามารถในการทนอุณหภูมิของไลเปสที่ได้จากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว

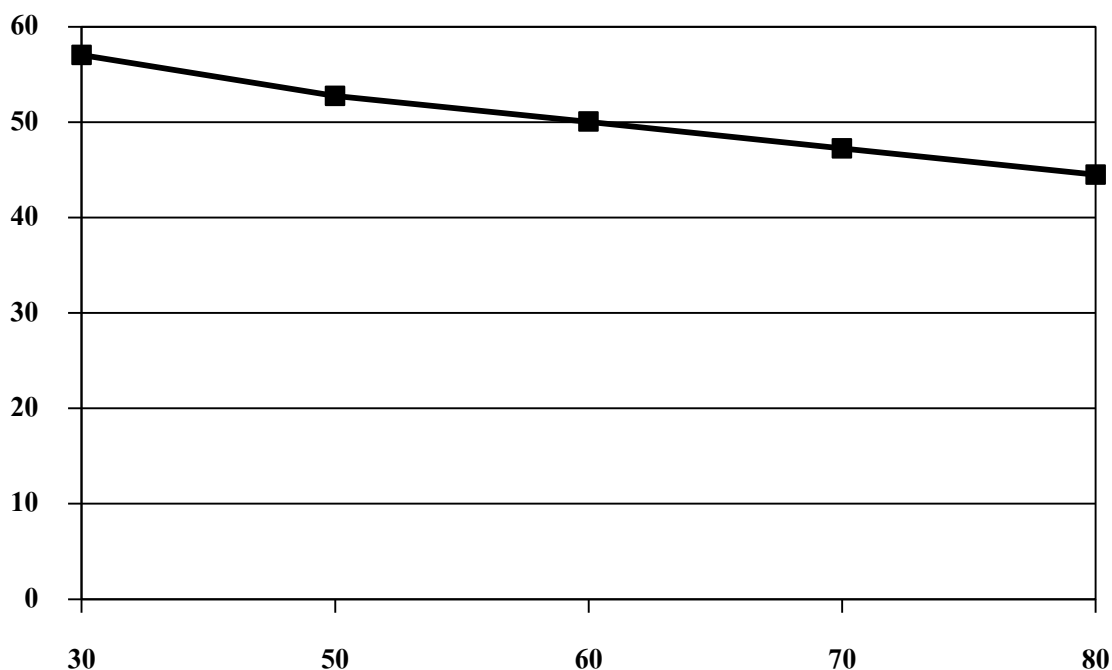
กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส), 50 องศาเซลเซียส, 60 องศาเซลเซียส, 70 องศาเซลเซียส และ 80 องศาเซลเซียส จากผลปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ตั้งแต่ 30-80 องศาเซลเซียส

ผลปาล์มน้ำมัน หลังจากเก็บเกี่ยว (ชั่วโมง)	กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)				
	อุณหภูมิ ห้อง	อุณหภูมิ 50 °C	อุณหภูมิ 60 °C	อุณหภูมิ 70 °C	อุณหภูมิ 80 °C
120	57.04±0.03	52.75±0.01	50.05±0.01	47.25±0.01	44.50±0.01

ผลจากตารางที่ 2 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะเริ่มลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมของกิจกรรมของเอนไซม์จะอยู่ที่ อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) ซึ่งให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด (57.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เป็นที่น่าสนใจว่าเอนไซม์จากผลปาล์มมีความสามารถในการทนอุณหภูมิสูง และยังคงทำงานได้ในช่วง อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส โดยยังสามารถคงกิจกรรมของ

เอนไซม์ไว้ที่ 44.50-57.04 หน่วยต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานอื่น ๆ ก่อนหน้าที่แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ไลเปสจะทนอุณหภูมิได้ดีในช่วง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น เอนไซม์ไลเปสก็จะเริ่มลดลง (สโรธร ตันตสีมันต์, 2552)



ภาพที่ 2 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ตั้งแต่ 30-80 องศาเซลเซียส

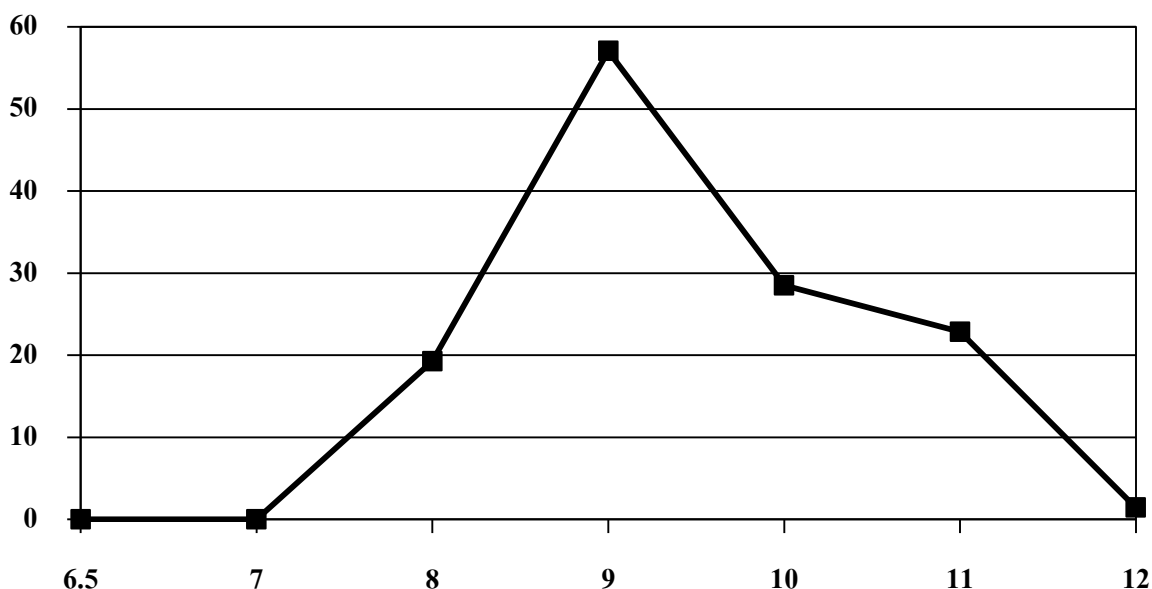
3.3.2 การศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรม และความสามารถในการทนอุณหภูมิของไลเปสที่ได้จากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่พีเอชต่าง ๆ ตั้งแต่ พีเอช 6.5-12 จากผลปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่พีเอชต่าง ๆ ตั้งแต่ 6.5-12

ผลปาล์มน้ำมัน หลังจากเก็บเกี่ยว (ชั่วโมง)	กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)						
	พีเอช 6.5	พีเอช 7.0	พีเอช 8.0	พีเอช 9.0	พีเอช 10.0	พีเอช 11.0	พีเอช 12.0
120	0.00	0.00	19.26	57.04	28.50	22.84	1.42

ผลจากตารางที่ 3 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะเริ่มเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น (6.5-9.0) โดยที่พีเอช 9.0 เอนไซม์ไลเปสจะมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 57.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อพีเอชสูงกว่า 9.0 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ (ภาพที่ 3)



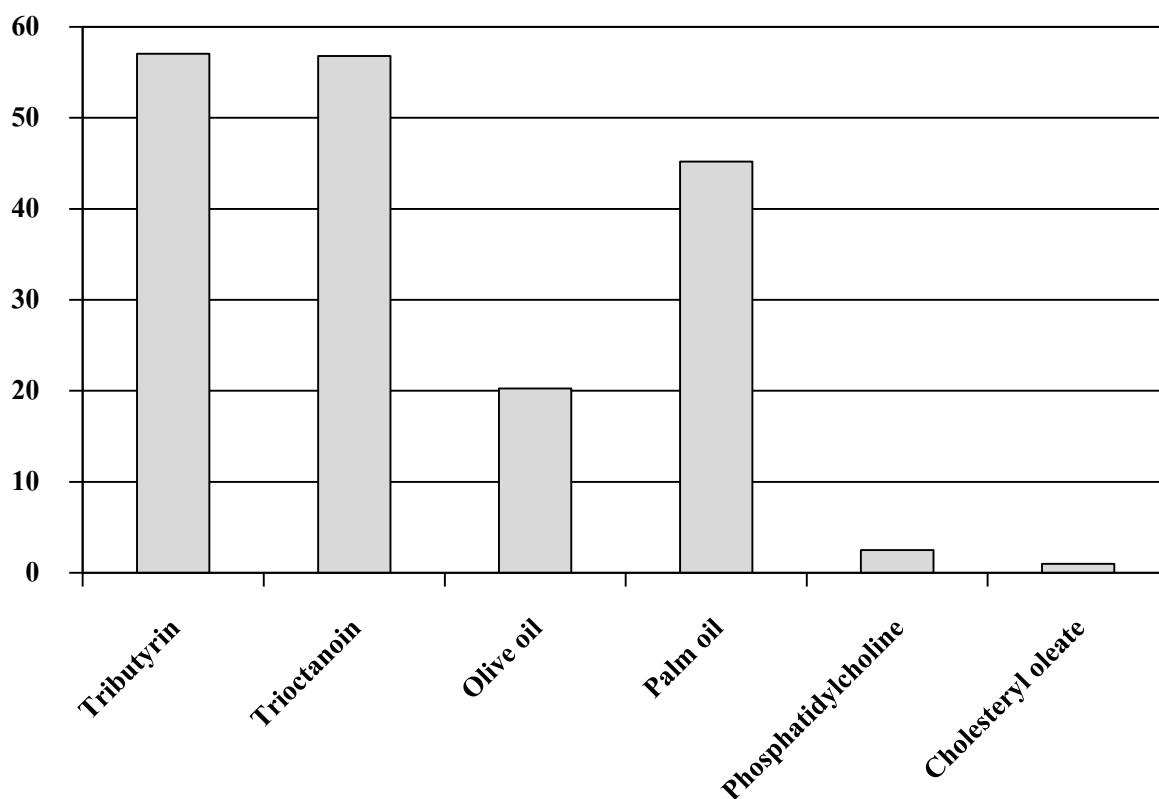
ภาพที่ 3 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ที่พีเอชต่าง ๆ ตั้งแต่ 6.5-12

3.3.3 การศึกษาสับสเตรทที่เหมาะสมต่อกิจกรรม และความสามารถในการทนอุณหภูมิของไลเปสที่ได้จากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสต่อสับสเตรทต่าง ๆ ได้แก่ Tributyrin, Trioctanoin, Olive oil, Palm oil, Phosphatidylcholine และ Cholesteryl oleate จากผลปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อสับสเตรทต่าง ๆ

สับสเตรท	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)
Tributyrin	57.04
Trioctanoin	56.80
Olive oil	20.25
Palm oil	45.21
Phosphatidylcholine	2.48
Cholesteryl oleate	0.98



ภาพที่ 4 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อสับสเตรทต่าง ๆ

จากผลการทดลองพบว่า สับสเตรทที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 12 ชั่วโมง ได้แก่ Tributyrin ซึ่งจะให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 57.04 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ Trioctanoin (56.80 หน่วยต่อมิลลิลิตร) เป็นที่น่าสนใจว่า เอนไซม์ไลเปสสามารถใช้ น้ำมันปาล์ม เป็นสับสเตรทได้ดีโดยยังคงกิจกรรมของเอนไซม์ที่ 45.21 หน่วยต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ เอนไซม์ยังสามารถใช้ Olive oil และ Phosphatidylcholine เป็นสับสเตรทได้โดยยังคงกิจกรรมของเอนไซม์ที่ 20.25 และ 2.48 หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสับสเตรท Cholesteryl oleate จะไม่เหมาะสมต่อเอนไซม์ไลเปสนี้ และให้กิจกรรมเอนไซม์ต่ำที่สุดเพียง 0.98 หน่วยต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4)

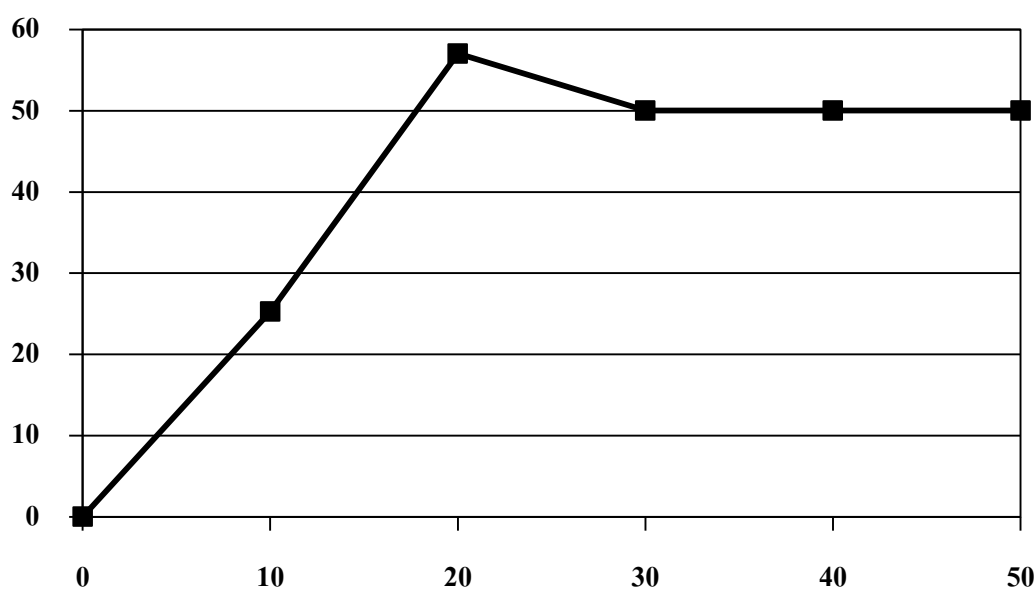
3.3.4 การศึกษาผลของแคลเซียมต่อกิจกรรม และความสามารถในการทนอุณหภูมิของไลเปสที่ได้จากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ต่อแคลเซียมที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิโมลาร์ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อแคลเซียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของแคลเซียม (mM)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)
0	0.00
10	25.25
20	57.04
30	50.02
40	50.02
50	50.02

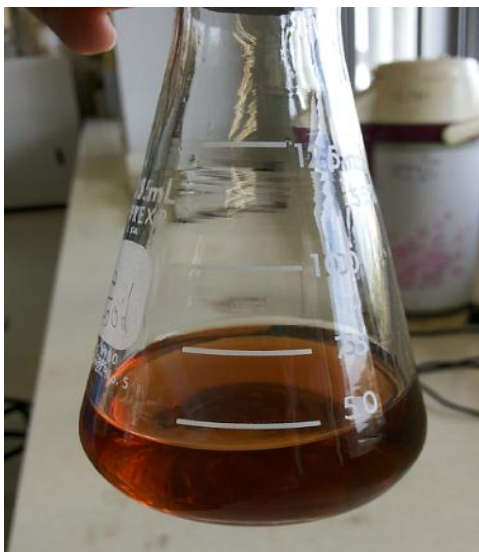
จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของแคลเซียมที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 12 ชั่วโมง คือที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ซึ่งจะให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 57.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และเมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมเพิ่มขึ้น (0-20 มิลลิโมลาร์) กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสก็เพิ่มขึ้นด้วย (0.00-57.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และเมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมเพิ่มขึ้นเป็น 30-50 มิลลิโมลาร์ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงเล็กน้อย และจะคงที่ที่ 50.02 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากปาล์มน้ำมันที่ทำการสกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (pH 9) ในอัตราส่วน 1:2 ต่อแคลเซียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

3.4 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยวในการผลิตไบโอดีเซล

เมื่อนำน้ำมันที่ใช้แล้วในครัวเรือนมาเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว จะได้ไบโอดีเซลที่มีลักษณะเป็นสีน้ำตาล ใส (ภาพที่ 6) ทั้งนี้สีของไบโอดีเซล ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการทดลอง



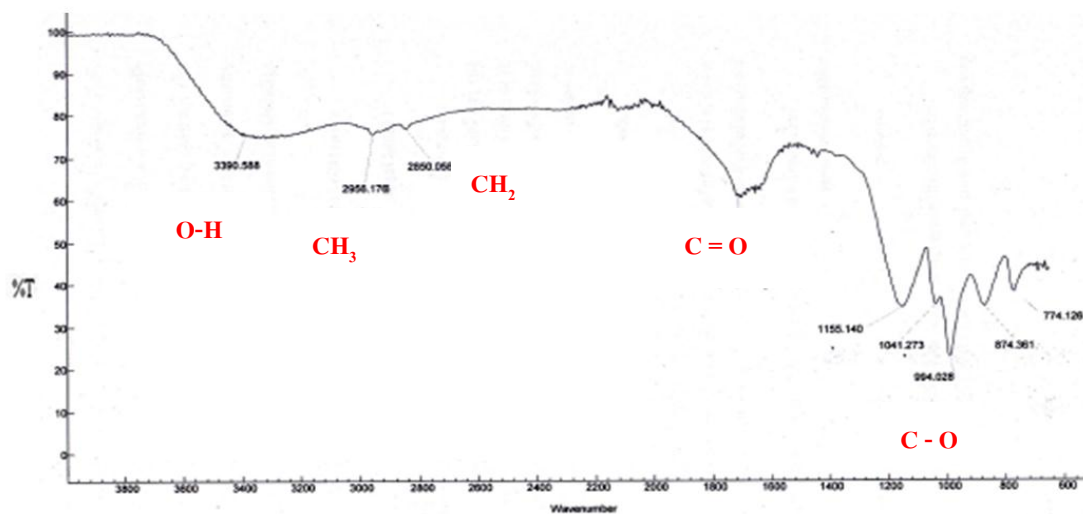
ภาพที่ 6 ลักษณะไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันพืชที่ใช้แล้วในครัวเรือน เร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 120 ชั่วโมง

ไบโอดีเซลที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR เพื่อเป็นการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเมทิลเอสเทอร์ จากการทดลองเบื้องต้น พบว่า ไบโอดีเซลที่ได้จะมีการสั่นของหมู่ฟังก์ชันที่เลขคลื่นที่ใกล้เคียงกันกับไบโอดีเซลทางการค้า (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 แสดงแถบข้อมูลการดูดกลืนแสงที่สำคัญของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันที่ใช้แล้วในครัวเรือน ร่วมกับการเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปส เปรียบเทียบกับไบโอดีเซลทางการค้า

ประเภทการสั่น	ไบโอดีเซล (การทดลองนี้)	ไบโอดีเซล (ทางการค้า)	น้ำมันที่ใช้แล้วในครัวเรือน
O-H stretching (cm-1)	3390	3354	2500 – 3300
CH ₃ stretching (cm-1)	2956	2954	-
CH ₂ stretching (cm-1)	2850	2840	724
C=O stretching (cm-1)	1713	1707	1740
C-O stretching (cm-1)	1155, 1041	1177, 1057	1171, 1207

สำหรับภาพสเปกตรัมของไบโอดีเซลจาก ATR-FTIR ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดงแถบข้อมูลการดูดกลืนแสงที่สำคัญของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันที่ใช้แล้วในครัวเรือน ร่วมกับการเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปส เปรียบเทียบกับไบโอดีเซลทางการค้า

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นแนวทางในการนำผลปาล์มมาใช้ประโยชน์อื่น ๆ นอกเหนือจากการผลิตน้ำมัน โดยการทดลองจะแบ่งออกเป็นสามส่วน ได้แก่ การสกัด การทำบริสุทธิ์ และการศึกษา กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มน้ำมันภายใน 240 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งการศึกษา คุณสมบัติ และอุณหภูมิที่เหมาะสมของไลเปสที่ได้ จากการศึกษาพบว่าผลปาล์มในช่วง 24-240 ชั่วโมง หลังการเก็บเกี่ยว ที่สกัดด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl บัฟเฟอร์ pH 9 จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส สูงสุด (22.60 ± 0.03 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จะพบในผลปาล์มที่เก็บไว้นาน 120 ชั่วโมง ในขณะที่ปริมาณ โปรตีนสูงสุด (8.56 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะพบที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการเก็บเกี่ยว เมื่อทำบริสุทธิ์ เอนไซม์บางส่วนด้วยเทคนิค Aqueous two phase พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจะเพิ่มขึ้นเป็น 57.04 ± 0.13 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ พบว่า ไลเปส จากผลปาล์มทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) และมีความสามารถในการทน อุณหภูมิสูงที่ 50-80 องศาเซลเซียส ซึ่งยังคงกิจกรรมของเอนไซม์ไว้ที่ 44.50-52.75 หน่วยต่อมิลลิลิตร สภาพที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มหลังการเก็บเกี่ยว 120 ชั่วโมง คือที่ อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) พีเอช 9 มี Tributyrin เป็นสับสเตรท และมีแคลเซียมที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พบว่า เอนไซม์จะสามารถคงกิจกรรมไว้ได้ที่ 57.04 หน่วยต่อมิลลิลิตร

เอกสารอ้างอิง

- เกษรา ทองบริบูรณ์. 2553. การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มใช้แล้วโดยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในระบบ
กะและระบบต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา
เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2548. พันธุ์ การผลิตเมล็ดพันธุ์ และการอนุบาลต้นกล้าปาล์มน้ำมัน. ใน เส้นทางสู่
ความสำเร็จการผลิตน้ำมันปาล์ม (ชื่อบรรณาธิการ ธีระ เอกสมทราเมษฐ์). หน้า 25-49. สงขลา:
นีโอพอยด์.
- สมาคมชาวสวนปาล์มน้ำมัน จ.สุราษฎร์ธานี. 2556. <http://www.suratthani.doae.go.th>
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. <http://www.oae.go.th>
- Bora, P. S. and Moreira, R. V. R. 2003. Catole palm (*Syagrus oleracea* Mart) fruits: fatty
and amino acids composition. *Grasas y Aceites*. 54: 145-150.
- Corley, R. H. V. and Tinker, P. B. 2003. The oil palm. Miami: Blackwell.
- Fukuda, H., Kondo, A. and Noda, H. 2001. Biodiesel fuel production by transesterification
of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 92: 405-416.
- Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G. and Fox, P. F. 2002. Determination of key enzyme
activities in commercial peptidase and lipase preparations from microbial or
animal sources. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 310-320.
- Marchetti, J. M., Miguel, V. U., and Errazu, A. F. 2007. Possible methods for biodiesel
production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 11: 1300-1311.
- Othman, F., Salim, M.R., Ahmad, R., 1994. MOPAS for metal removal. 20th WEDC
conference, Colombo, Sri Lanka, 292-294.
- Samukawa, T., Kaieda, M., Matsumoto, T., Ban, K., Kondo, A., Shimada, Y., Noda, H., and
Fukuda, H. 2000. Pretreatment of immobilized *Candida antarctica* lipase for
biodiesel fuel production from plant oil. *Journal of Bioscience and
Bioengineering*. 90: 180-183.
- Vasudevan, P. T., and Briggs, M. 2008. Biodiesel production-current state of the art and
challenges. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 35: 421-430.



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การเตรียมและศึกษาคุณสมบัติของไฮโดรเจลที่เตรียมจากต้นปาล์มน้ำมันโค่นทิ้ง
เพื่อการปลูกใหม่

Preparation and characterizations of hydrogel based on cellulose
from oil palm trunk felled for replanting

คณะผู้วิจัย

ดร.นันทรัตน์ พฤษชาพิทักษ์

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การเตรียมและศึกษาคุณสมบัติของไฮโดรเจลที่เตรียมจากต้นปาล์มน้ำมันโค่นทิ้ง
เพื่อการปลูกใหม่

Preparation and characterizations of hydrogel based on cellulose
from oil palm trunk felled for replanting

คณะผู้วิจัย

ดร.นันทรัตน์ พงกษาพิทักษ์

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนอุดหนุนการพัฒนาการวิจัยการเกษตรจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตรประจำปีงบประมาณ 2556 งบประมาณที่ได้รับการสนับสนุนจำนวน 80,000 บาท (แปดหมื่นบาทถ้วน)

คณะผู้วิจัย
กันยายน 2557

บทคัดย่อ

การศึกษาการเตรียมเซลลูโลสจากยอดปาล์มน้ำมันจากการโค่นทิ้งของต้นปาล์ม ซึ่งเป็นวัสดุชีวมวลที่มีอยู่มากทางภาคใต้ของประเทศไทย เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมไฮโดรเจล โดยการปรับสภาพของยอดปาล์มน้ำมันด้วยสารละลายผสมของ NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของเซลลูโลสก่อนและหลังการปรับสภาพโดยวิธีมาตรฐานของ TAPPI พบว่า ปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นร้อยละจาก 31.68 เป็น 74.65 ในขณะที่เอมิเซลลูโลสและลิกนิน-ลดลง เซลลูโลสที่ได้เป็นผงสีขาว- สีเหลือง นอกจากนี้ได้ศึกษาคุณลักษณะของแอลฟาเซลลูโลสที่ได้โดยเทคนิค Attenuated Total Reflectance (ATR) คุณสมบัติทางความร้อนโดย Differential scanning calorimetry (DSC) และสัณฐานวิทยาโดย Scanning Electron Microscope (SEM)

Abstract

Production of cellulose from crown of oil palm tree felled for replanting, one of the abundant biomass material available in South of Thailand for using stating material in hydrogel preparation, was studied. The crown of oil palm tree was chemically pretreated to obtain a purified cellulose sample with mixture solution of 2% of NaOH and 2% of H₂O₂. Then, yield of cellulose hemicelluloses and lignin were determined using the TAPPI standard. The result shown that yield of cellulose were increased by chemical pretreatment from 31.68 to 74.65 % while, hemicelluloses and lignin were decreased. The pure cellulose obtained show yellow – white powder which was further characterized : thermal characteristic, functional group and morphology by Differential Scanning Colorimetry (DSC), Attenuated Total Reflectance Spectroscopy (ATR) and Scanning Electron Microscope, (SEM), respectively.

สารบัญ

บทที่	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
1 บทนำ	1
2 วิธีการดำเนินการวิจัย	3
การเตรียมตัวอย่างยอดปาล์มน้ำมัน	3
การเตรียมเซลล์จากยอดปาล์มน้ำมัน	3
การวิเคราะห์เซลล์	4
3 รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย	6
ลักษณะทางกายภาพของเซลล์ เฮมิเซลล์ และลิกนิน	6
ปริมาณของเซลล์ เฮมิเซลล์ และลิกนิน	7
การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแอลฟา-เซลล์	7
การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของเซลล์	8
สัณฐานวิทยาของแอลฟา-เซลล์	9
4 สรุปและข้อเสนอแนะ	10
เอกสารอ้างอิง	11

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ศักยภาพการผลิตพื้นฐานของปาล์มน้ำมันไทย จำแนกตามอายุปาล์ม ณ สิ้นสุดเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2544	2
2 ลักษณะทางกายภาพของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน จากยอดปาล์มน้ำมันที่ผ่าน และไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H ₂ O ₂ ร้อยละ 2	6
3 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยสารละลาย 2% NaOH และ 2% H ₂ O ₂	7

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะสเปกตรัม ATR ของเซลลูโลสของต้นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2	8
2 สเปกตรัม DSC ของแอลฟา-เซลลูโลสของลำต้นปาล์มน้ำมัน	8
3 ภาพถ่าย SEM ของยอดปาล์มน้ำมัน	9

1. บทนำ

ปัจจุบันและแนวโน้มในอนาคตของประเทศไทย ภาครัฐบาลได้มีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกต้นปาล์มน้ำมันเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้มีวัตถุดิบหลักเพียงพอต่อการแปรรูปน้ำมันปาล์มดิบสำหรับใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกเพื่อทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม พ.ศ. 2554 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกต้นปาล์มน้ำมัน 3.75 ล้านไร่ และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเป็น 3.98 และ 4.11 ล้านไร่ในปีพ.ศ. 2555 และ 2556 ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2555) โดยส่วนใหญ่จะปลูกในทางภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศไทย ในการปลูกปาล์มน้ำมันให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพนั้นจะมีระยะการปลูกแบบสามเหลี่ยมด้านเท่า $9 \times 9 \times 9$ เมตร ดังนั้นจะมีจำนวนต้นปาล์มน้ำมันเฉลี่ย 22-25 ต้นต่อไร่ และสามารถเก็บผลผลิตปาล์มน้ำมันได้เมื่อต้นปาล์มมีอายุประมาณ 3-5 ปี อย่างไรก็ตามเมื่อต้นปาล์มน้ำมันมีอายุมากกว่า 25 ปี เกษตรกรจำเป็นต้องตัดต้นปาล์มทิ้ง ทั้งนี้เพราะต้นมีความสูงเกินระหว่าง 7-13 เมตร และ เส้นผ่านศูนย์กลาง 45-65 เซนติเมตร (Sulaiman, et al, 2012) ทำให้ค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยวสูงและมีผลผลิตต่ำจึงไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจของสวนปาล์มต่อไป จากภาพรวมศักยภาพของอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันของไทยเมื่อเดือนธันวาคม พ.ศ.2544 ดังตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยมีต้นปาล์มน้ำมันอายุมากกว่า 25 ปี จำนวน 1.04 ล้านต้น (47,600 ไร่) และเป็นที่แน่นอนว่าประเทศไทยจะมีต้นปาล์มน้ำมันซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประมาณ 1.04 ล้านต้นด้วย และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็น 5.18 และ 14 ล้านต้นในปี พ.ศ. 2548 และ 2554 ตามลำดับ จากปริมาณต้นปาล์มน้ำมันที่ไม่ก่อให้เกิดประโยชน์แก่เกษตรกรและยังกลายเป็นปัญหาด้านการจัดการวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในอนาคต จึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งในการนำวัสดุเหล่านี้นมาเพิ่มมูลค่าต่อไป จากศึกษาองค์ประกอบหลักทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมัน Abe and Yano (2011) พบว่า ลำต้นปาล์มน้ำมันประกอบด้วย แอลฟาเซลลูโลสร้อยละ 42.51 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 37.62 และ ลิกนินร้อยละ 16.11 ซึ่งเหมาะที่จะใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบของเซลลูโลสเพื่อใช้ในการผลิตไฮโดรเจลที่มีมูลค่าเพิ่มได้ และผลิตภัณฑ์ที่ได้นั้นยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ง่ายเมื่อหมดอายุการใช้งาน ดังนั้น จึงควรหาแนวทางในการใช้ประโยชน์ต้นปาล์มน้ำมัน (อายุมากกว่า 25 ปี) เพื่อเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรและที่เกี่ยวข้อง พัฒนาอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมัน การจัดการสิ่งแวดล้อม และพัฒนาศักยภาพการแข่งขันกับต่างประเทศ

เซลลูโลส เป็นพอลิเมอร์ของเซลลูโลสที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biopolymer) และมีอยู่มากในธรรมชาติทั้งในพืช, จุลินทรีย์และแบคทีเรีย เซลลูโลสเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides) เชิงเส้นตรงแบบsyndiotactic ที่ประกอบด้วยหน่วยซ้ำ ๆ กันของ D-Glucose เป็นโครงสร้างหลัก และประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล 3 หมู่ที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ ทำให้แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของเซลลูโลสจึงมีมากและโครงสร้างของเซลลูโลสยังจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบจึงทำให้เซลลูโลสมีความเป็นผลึกสูงมาก

ไฮโดรเจลเป็นพอลิเมอร์ชนิดไฮโดรฟิลิกที่มีลักษณะเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติ มีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดี โครงสร้างของไฮโดรเจลประกอบด้วย 2 ส่วนหลักได้แก่ ส่วนที่สามารถเกิดอันตรกิริยา (Interaction) กับโมเลกุลของน้ำหรือเรียกว่าส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic Group) เช่น หมู่-OH, -COOH, -CONH₂, -CONH- และ -SO₃H เป็นต้น และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic group) เช่น หมู่-CH₂- และ -CH₃ เป็นต้น และระหว่างสายโซ่มีการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ พันธะไฮโดรเจน หรืออันตรกิริยาระหว่างหมู่ต่างๆในสายโซ่ ประกอบกันเป็นสายโซ่

ยาวจำนวนมากมาย เมื่อโมเลกุลรวมตัวกันและขดตัวอยู่จะทำให้โครงสร้างโดยรวมเกิดเป็นรูปพูนและร่องขนาดเล็กๆ มากมาย

มอนอเมอร์ที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮโดรเจลจำเป็นต้องมีหมู่ที่แสดงความเป็นไฮโดรฟิลิกอยู่ในโครงสร้าง เช่น $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$ และ $-SO_3H$ เป็นต้น เพื่อที่จะทำให้ไฮโดรเจลที่สังเคราะห์นั้นสามารถดูดซับน้ำได้ เซลลูโลสเป็นมอนอเมอร์หนึ่งที่สามารถนำมาสังเคราะห์ไฮโดรเจลเนื่องจากมีหมู่ $-OH$ และ $-CO-$

ตารางที่ 1 ศักยภาพการผลิตพื้นฐานของปาล์มน้ำมันไทย จำแนกตามอายุปาล์ม ณ สิ้นสุดเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2544 (ธีระ, 2546)

อายุปาล์มน้ำมัน (ปี)	พื้นที่ปลูก (ไร่)	พื้นที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	จำนวนต้นปาล์ม (ต้น/พื้นที่ปลูกทั้งหมด)
<4	449,999	0	9,899,978
4-6	211,713	211,713	4,877,686
7-9	209,450	209,450	13,988,436
10-20	635,538	635,538	13,988,436
21-25	235,400	235,400	5,178,800
>25	47,600	47,600	1,047,200
รวม	1,800,000	1,350,001	39,600,000

โดยงานวิจัยครั้งนี้ได้สนใจไฮโดรเจลทำได้จากเซลลูโลสในส่วนของยอดปาล์มที่มีอายุมากกว่า 25 ปี ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ ราคาถูก และมีอยู่จำนวนมากมาทดแทนการใช้พอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ ลดต้นทุนในการผลิตและลดปัญหาสิ่งแวดล้อมเพราะไฮโดรเจลสามารถย่อยสลายได้และ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและสามารถนำไปพัฒนาในหลายๆด้าน ไม่ว่าจะเป็นทางด้านเกษตร อุตสาหกรรม ทางด้านการแพทย์

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมตัวอย่างยอดปาล์มน้ำมัน

ใช้ตัวอย่างยอดปาล์มน้ำมันอายุเก็บเกี่ยว มากกว่า 25 ปีขึ้นไป เตรียมตัวอย่างยอดปาล์ม น้ำมันโดยนำอบ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และนำไปบด ด้วยเครื่องบด นำไปแช่น้ำอัตราส่วน 1:4 เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำไปคั้นน้ำออก และนำส่วนที่เป็นกากของแข็งไปอบที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน และนำไปวิเคราะห์เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินก่อนการทดลอง

2.2 การเตรียมเซลลูโลสจากยอดปาล์มน้ำมัน

2.2.1 การเตรียมเซลลูโลสจากยอดปาล์มน้ำมันโดยการเอาสารแทรกออก (TAPPI T204 om-97)

ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ใส่ลงใน Thimble จากนั้นเตรียมสารละลายอัตราส่วน (2 : 1) โดย ปริมาตร ระหว่าง (เบนซีน : เอทานอล) เทใส่ขวดก้นกลม 250 มิลลิลิตร ทำการสกัดด้วย Soxhlet extraction เป็นเวลา 6 จากนั้นนำสารละลายไประเหยให้เหลือปริมาตร 20-25 มิลลิลิตรด้วยเครื่อง ระเหสสารละลาย (Rotary evaporator) เทสารละลายลงในปิกเกอร์ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งนำไปชั่งน้ำหนักรวม ทำ Blank โดยการนำสารละลายเอทานอล : เบนซีน 150 มิลลิลิตร ไปอบที่ 100 ± 5 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักเอาค่าที่ได้คำนวณหาร้อยละ ของสารแทรก

$$\text{ร้อยละของสารแทรก} = \frac{(\text{น้ำหนักแห้งของสารที่สกัดได้} - \text{น้ำหนักแห้งของ blank})}{\text{น้ำหนักแห้งเยื่อ}} \times 100$$

2.2.2 วิเคราะห์ปริมาณลิกนินมาตรฐาน TAPPI T 222om – 98

นำวัตถุดิบที่ปราศจากสารแทรก 1 ± 0.1 กรัม ใส่ลงในปิกเกอร์ 1000 มิลลิลิตร (แช่ในอ่าง น้ำแข็ง) จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกร้อยละ 72 ที่เข้มข้น (10-20 องศาเซลเซียส) ลงไป 15 มิลลิลิตร กวนอย่างต่อเนื่องควบคุมอุณหภูมิ 20 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตรแล้วเทลงในขวดก้นกลม 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นไปอีก 575 มิลลิลิตร ทำการรีฟรัก สารละลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เทสารละลายใส่ในปิกเกอร์แล้วตั้งทิ้งไว้ 1 คืน (เพื่อให้ตกตะกอน) จากนั้นกรองผ่านเครื่องกรองลดความดัน ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน นำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส นำไปตั้งไว้ใน Desiccators ชั่งน้ำหนักรวมของ Crucible และลิกนิน

$$\text{ร้อยละของลิกนิน} = \frac{\text{น้ำหนักของลิกนินที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักแห้งของวัตถุดิบ}} \times 100$$

2.2.3 วิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเซลลูโลสของ

ชั่งตัวอย่างที่ปราศจากสารแทรกน้ำหนัก 3 กรัมใส่ลงใน Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 160 มิลลิลิตรและกรดอะซิติก 0.5 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัม ลงใน

Flask ตามลำดับ นำขวดกั่นกลมไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (โดยเขย่าอย่างสม่ำเสมอ) เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง เติมกรดอะซิติกปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วตามด้วยโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัม ลงในสารละลายแล้วเขย่า Flask เมื่อครบ 2 และ 3 ชั่วโมง ทำการเติมกรดอะซิติกปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัมลงไป หลังจากนั้นนำ Flask ไปตั้งในอ่างน้ำแข็งจนสารละลายมีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส นำสารละลายมากรองผ่านกระดาษกรอง แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำเย็นและอะซิโตน นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ แล้วนำมาตั้งไว้ใน Desiccators นำไปชั่งน้ำหนัก และวิเคราะห์หา α -cellulose (Browning 1967 : 389-407)

$$\text{ร้อยละเซลลูโลส} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของไฮโดรเซลลูโลส}}{\text{น้ำหนักแห้งของวัตถุดิบ}} \times 100$$

2.2.4 วิเคราะห์หาปริมาณเฮมิเซลลูโลส

ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสในวัตถุดิบคือผลต่างของปริมาณไฮโดรเซลลูโลสและแอลฟาเซลลูโลส ดังนั้นร้อยละของเฮมิเซลลูโลสในวัตถุดิบจึงคำนวณจาก

$$\text{ร้อยละของเฮมิเซลลูโลส} = \text{ร้อยละของไฮโดรเซลลูโลส} - \text{ร้อยละของแอลฟาเซลลูโลส}$$

2.2.5 วิเคราะห์แอลฟาเซลลูโลสตามมาตรฐาน T203-om-88

ชั่งไฮโดรเซลลูโลสที่ทราบน้ำหนักแห้งที่แน่นอน 2 ± 0.1 กรัม ใส่ในปิกเกอร์และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 100 มิลลิลิตร จากนั้นคนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และควบคุมอุณหภูมิของสารละลายอยู่ที่ประมาณ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมน้ำกลั่นในสารละลาย 100 มิลลิลิตร แล้วคนต่อไปอีก 30 นาทีแล้วทำการกรองตะกอนแล้วล้างตะกอนด้วยจนตะกอนเป็นกลางแล้วล้างด้วยกรดอะซิติกร้อยละ 10 ปริมาณ 40 มิลลิลิตร โดยแช่นาน 5 นาที จากนั้นล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นครั้งสุดท้ายจนเป็นตะกอนเป็นกลางแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนักและนำผลมาคำนวณหาปริมาณแอลฟาเซลลูโลส

$$\text{ร้อยละแอลฟาเซลลูโลส} = \frac{\text{น้ำหนักแอลฟาเซลลูโลสอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักอบแห้งของไฮโดรเซลลูโลส}} \times 100$$

2.3 การวิเคราะห์เซลลูโลส

2.3.1 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันโดยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourier transforms infred spectroscopy) (FTIR)

นำตัวอย่าง (เซลลูโลสไฮโดรเจล) ที่ต้องการมาวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง Fourier Transforms Infred Spectroscopy ในโหมด Attenuated Total Reflectance (ATR) โดยนำตัวอย่างมาวางบนกระจก ZnSe แล้วทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น $4000-650 \text{ cm}^{-1}$ โดย

ความละเอียดของการวิเคราะห์เท่ากับ 16 รอบและความละเอียดของการวิเคราะห์ (Resolution) เท่ากับ 4

2.3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนโดยดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (Differential scanning calorimetry) (DSC)

ชั่งตัวอย่าง 10-15 มิลลิกรัมของแอลฟาเซลลูโลส ลงในภาชนะอลูมิเนียม (DSC cup) เพื่อวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางความร้อนของตัวอย่าง ในการวิเคราะห์กำหนดให้ทำการให้ความร้อนตัวอย่างตั้งแต่ 25-200 องศาเซลเซียสต่อนาที และทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสด้วยอัตราเร็ว 10 องศาเซลเซียสต่อนาที

2.3.3 Scanning electron microscopy (SEM)

สัณฐานวิทยา ของเซลลูโลสที่ได้ถูกศึกษาด้วยเทคนิค Scanning electron microscopy โดยอบแห้งตัวอย่างแล้วนำไปติดกับที่ใส่ตัวอย่าง (stub) จากนั้นเคลือบตัวอย่างด้วยทองคำเพื่อช่วยให้นำไฟฟ้าได้เข้าเครื่องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีกำลังขยาย 100 ถึง 500 เท่า

3. รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย

3.1 ลักษณะทางกายภาพของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

ลักษณะทั่วไปของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน แสดงดังตารางที่ 3 จะเห็นว่า เซลลูโลส ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2 จะมีลักษณะสี น้ำตาลเข้ม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไม่สามารถกำจัดลิกนินได้หมด ซึ่งการนำเซลลูโลสที่มีสีน้ำตาลเข้มมา ใช้ประโยชน์จึงไม่เหมาะสม เนื่องจากจะให้สีของผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่สวยงาม แล้วยังมีผลต่อการต่อผลิต ไฮโดรเจลอีกด้วย ดังนั้นจึงหาวิธีการกำจัดสีออกจากเซลลูโลส เพื่อให้เซลลูโลสที่ได้มีสีขาวตาม ต้องการ สารละลายผสมของ ผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2 จึงได้นำมาทดลองใช้ พบว่าภายหลัง การปรับสภาพยอปปาล์มด้วยสารเคมีดังกล่าวทำให้ เซลลูโลสที่ได้มีลักษณะเป็นผงสีขาว ตามต้องการ

ตารางที่ 2. ลักษณะทางกายภาพของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จากยอปปาล์มน้ำมันที่ผ่าน และไม่ผ่านการปรับสภาพด้วย สารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2

ยอปปาล์มที่ผ่านการบด		
		
1. การปรับสภาพยอปปาล์มน้ำมัน	2%NaOH + 2%H ₂ O ₂ 	ไม่ผ่านการปรับสภาพ 
3. โอลิเซลลูโลส		
4. เซลลูโลส		

3.2 ศึกษาปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

จากการศึกษาการเตรียมเซลลูโลสจากยอดต้นปาล์มน้ำมันด้วยการปรับสภาพด้วยสารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2 ในอัตราส่วนของยอดต่อต่างร้อยละ 0.05 (w/v) ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าตัวอย่างประกอบด้วยสองส่วนคือ กากของแข็ง และของเหลว กากของแข็งสามารถแยกได้ด้วยการกรอง แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ดังตารางที่ 3

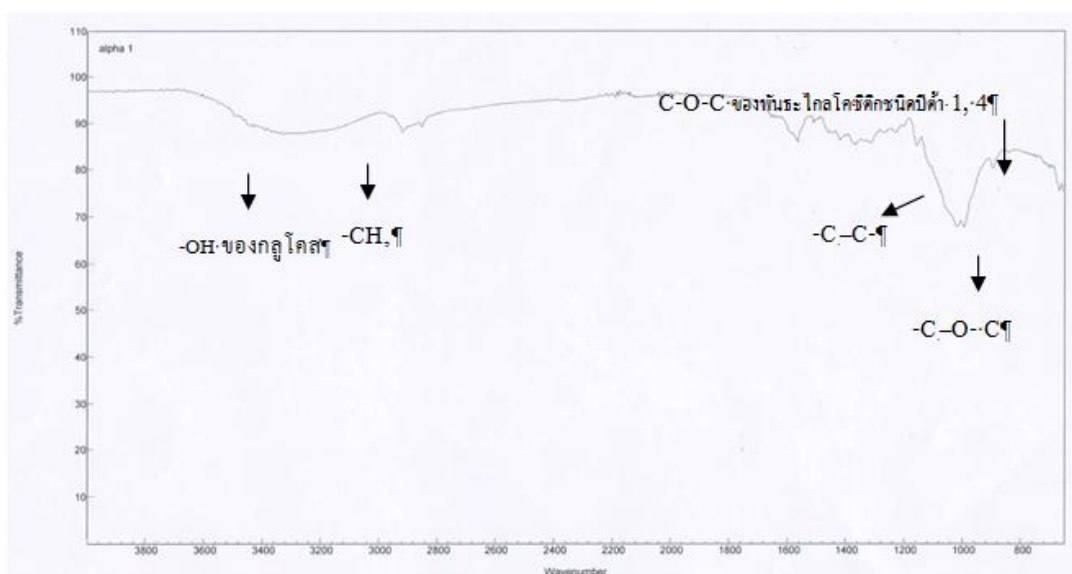
ตารางที่ 3. ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยสารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2

การปรับสภาพด้วย		ปริมาณส่วนประกอบปาล์มน้ำมันหลังจากการปรับสภาพ		
สารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2	ตัวอย่างที่	เซลลูโลส (ร้อยละ)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)	ลิกนิน (ร้อยละ)
ไม่ผ่านการปรับสภาพ	1	31.72	36.34	20.12
	2	31.41	35.05	21.39
	3	31.93	36.38	22.10
	ค่าเฉลี่ย	31.68	35.92	21.20
	1	75.02	5.89	20.10
ผ่านการปรับสภาพ	2	76.63	4.23	16.53
	3	72.29	16.36	10.72
	ค่าเฉลี่ย	74.65	8.91	15.78

พบว่า ก่อนการปรับสภาพยอดต้นปาล์มด้วย ผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2 จะมีปริมาณเซลลูโลสเฉลี่ยร้อยละ 31.68 และมีปริมาณเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 35.92 และ 21.20 ตามลำดับ ต่อมาได้ทำการการปรับสภาพทางเคมียอดต้นปาล์มด้วย ผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2 จะทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 74.65 ในขณะที่ปริมาณเฮมิเซลลูโลส และลิกนินลดลง เป็นร้อยละ 8.91 และ 15.78 แล้วตามลำดับ

3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแอลฟา-เซลลูโลส

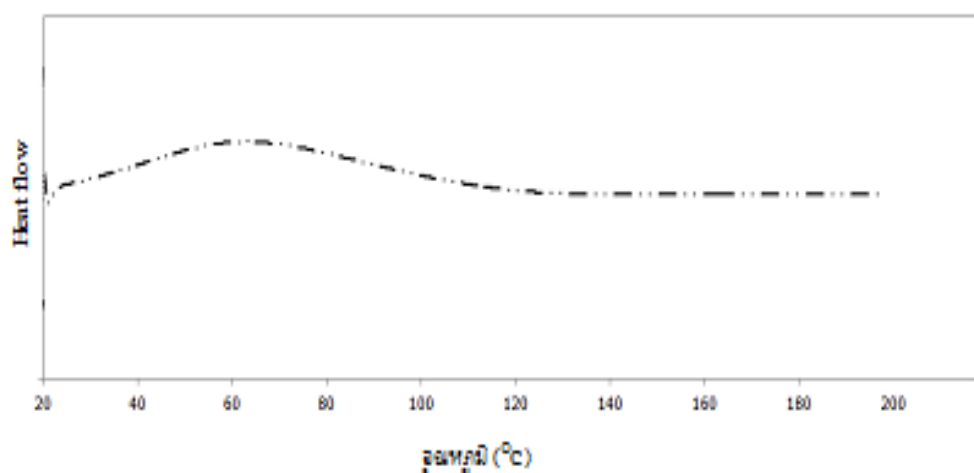
การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแอลฟา-เซลลูโลสจากยอดปาล์มน้ำมันด้วยเทคนิค ATR แสดงผลการศึกษาได้ดังภาพที่ 4 พบสัญญาณการดูดกลืนที่กว้างในช่วงความยาวคลื่น 3000 และ 3600 cm^{-1} ซึ่งแสดงแถบการยืดของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ของหน่วยของกลูโคส ซึ่งซ้อนทับกับแถบการยืดของหมู่เมทิล (-CH group) จึงพบสัญญาณการดูดกลืนเล็กน้อยในช่วงความยาวคลื่น $2800 - 2900\text{ cm}^{-1}$ ในขณะที่ความยาวคลื่น $\sim 1034\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของพันธะ C-O-C ของ Anhydroglucose และส่วนที่ยื่นออกมาที่ความยาวคลื่น 1150 cm^{-1} นั้นแสดงถึงพันธะ C-C และที่ความยาวคลื่น 894 cm^{-1} แสดงการสั่นแบบยืดของ C-O-C ของพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic bond) ชนิด β -(1 $\rightarrow$ 4) (Ciolacu et al., 2011 และ Rosnah et al., 2012)



ภาพที่ 1 ลักษณะสเปกตรัม ATR ของเซลลูโลสของต้นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายผสม ผสม NaOH ร้อยละ 2 และ H_2O_2 ร้อยละ 2

3.4 การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของเซลลูโลส

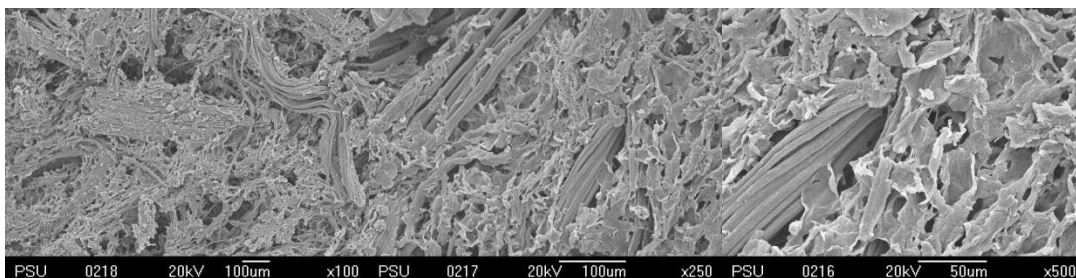
คุณสมบัติทางความร้อนของแอลฟา-เซลลูโลสได้ศึกษาเพื่อประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ต่อไปเช่น การทำวัสดุเชิงประกอบ การสังเคราะห์โคพอลิเมอร์ การเตรียมไฮโดรเจล โดยทำการศึกษาความร้อนตั้งแต่ 25-200 องศาเซลเซียสที่อัตราการให้ความร้อน 5 องศาเซลเซียส ต่อนาที ภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน แสดงดังภาพที่ 5 จากกราฟพบว่า แอลฟาเซลลูโลสจากยอดปาล์มน้ำมันปรากฏการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดความร้อนเล็กน้อยที่อุณหภูมิเริ่มต้น 25 จนถึง 120 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าเกิดความขึ้นภายในโมเลกุลของแอลฟา-เซลลูโลสเอง (Soares *et al.*, 1995) และถ้าต้องการกำจัดความขึ้นนั้นควรให้ความร้อนมากกว่า 120 องศาเซลเซียสและแอลฟา-เซลลูโลสจากต้นปาล์มลำต้นเท่านั้นที่ปรากฏพิกัดคายพลังงาน (Exothermic Peak) ที่ ~190 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2. สเปกตรัม DSC ของแอลฟา-เซลลูโลสของลำต้นปาล์มน้ำมัน

3.5 สัณฐานวิทยาของแอลฟา-เซลลูโลส

ภาพถ่าย SEM กำลังขยาย 100 250 และ 500 เพื่อแสดงสัณฐานวิทยาเบื้องต้นเซลลูโลสจากยอดปาล์มน้ำมัน ดังภาพที่ 6 (ก) (ข) และ (ค) ตามลำดับ พบว่าลักษณะของเซลลูโลสของจากยอดปาล์มน้ำมัน ปรากฏลักษณะเป็นแผ่นแบนไร้รูปทรงที่แน่นอน มีทั้งแบบแผ่น ทรงกระบอก



ภาพที่ 3 ภาพถ่าย SEM ของยอดปาล์มน้ำมัน (ก) กำลังขยาย x100 (ข) กำลังขยาย x250 (ค) กำลังขยาย x500

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเตรียมชีวมวลยอติปาล์มน้ำมันโดยการปรับสภาพด้วยสารละลายผสม NaOH ร้อยละ 2 ร่วมกับ H_2O_2 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเตรียมเซลลูโลสนั้น ได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากชีวมวลยอติปาล์มน้ำมันที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและกานปรับสภาพด้วยสารละลายผสมนั้น พบเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพดังกล่าวมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 31.68 เป็นร้อยละ 74.65 ในขณะที่เดียวกันนั้นสามารถย่อยเอมิเซลลูโลสให้มีปริมาณลดลงจากร้อยละ 35.92 เป็นร้อยละ 8.91 และลิกนินจากร้อยละ 21.20 เป็นร้อยละ 15.74 และเมื่อทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเซลลูโลส เอมิเซลลูโลส และลิกนิน เซลลูโลสที่ได้จะเป็นสีขาว-เหลือง คุณลักษณะทางเคมีของเซลลูโลสสามารถยืนยันได้ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflectance (ATR) ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญๆได้เช่น หมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ของหน่วยของกลูโคส ในช่วงความยาวคลื่น 3000 และ 3600 cm^{-1} ที่ความยาวคลื่น $\sim 1034\text{ cm}^{-1}$ แสดงการสั่นของพันธะ C-O-C ของ Anhydroglucose และที่ความยาวคลื่น 894 cm^{-1} แสดงการสั่นแบบยืดของ C-O-C ของพันธะไกลโคซิดิก(Glycosidic bond) ชนิด β -(1 $\rightarrow$ 4) นอกจากนี้คุณสมบัติทางความร้อน Differential scanning calorimetry (DSC) และวิเคราะห์สัณฐานวิทยาด้วย Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาต่อไป

ทั้งนี้ ในขั้นตอนของการเตรียมและปรับสภาพอาจเพิ่มวิธีการอื่นๆ เพื่อจะได้เซลลูโลสที่มีปริมาณมากขึ้นและมีวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเพิ่มเทคนิคการตรวจสอบคุณสมบัติของเซลลูโลส

เอกสารอ้างอิง

เกษมณี ตาลทอง, ขนิษฐา สกลวา, นฤมล แป้นอินทร์ และวีรยา คำกา. (2546) การผลิตเอทานอลจากเปลือกสับปะรด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต. นครสวรรค์ : มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์.

ฉบับที่ 4 ธันวาคม 2545-กุมภาพันธ์ 2546

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์, 2546. สารละลายน้ำมัน: ปาล์มน้ำมันและการเพิ่มมูลค่า, จัดหมายข่าว. ปีที่ 3 พรรณวิไลน์ กิ่งสุวรรณรัตน์. (2545). การผลิตเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มหาวิทยาลัยนเรศวร. จังหวัดพิษณุโลก.

ระวีวรรณ แก้วกล้า. (2538) การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. ภาควิชาเคมี เทคนิค คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วารุณี ตานันต์ และ สายันต์ แสงสุวรรณ. (2557). “พอลิเมอร์ดูดซับน้ำได้มาก: การสังเคราะห์ การวิเคราะห์ และการประยุกต์ใช้,” วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปีที่ 16(2),63-81.

สำนักงานเศรษฐกิจแห่งชาติ (2555). ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจเกษตร ปี2555. เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 401. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สืบค้นเมื่อวันที่ 9 กรกฎาคม 2557. จาก

http://www.oae.go.th/download/download_journal/yearbook55.pdf

Abe, H., Murata, Y. S., Kubo, K., Watanabe, R., Tanaka, O., Sulaiman, R., Hashim, S. F. M., Ramle, C., Zhang, S., Noshiro. and Mori, Y., (2013). “Estimation of the ration of vascular bundles to parenchyma tissue in oil palm trunks using NIR spectroscopy,” **BioResource**. 8(2), 1573-1581.

Abe, K. and Yano, H. (2011). “Formation of hydrogels from cellulose nanofibers,” **Carbohydrate Polymers**. 85, 733–737.

Browning, B.L. (1963) “Wood Chemisty,” Interscience Publishers. 389-407.

Chang, C. and Zhange, L. (2011). “Celloluse-based hydrogels: Present status and application prospects,” **Carbohydrate Polymer**. 84, 40-53

Chang, C., Lue, A. and Zhang, L. (2008). “Effects of crosslinking methods on structure and properties of cellulose/PVA hydrogels,” **Macromolecular Chemistry and Physics**. 209 (12), 1266–1273

Ciolacu, D., F. Ciolacu., and V. Popa. (2011). Amorphous cellulose-structure and characterization. **Cellulose Chemistry and Technology**. 45(1-2), 13-21.

Harmsen, P., Lips, S. and Bakker, R. (2013) “Pretreatment of lignocellulose for biotechnological production of lactic acid,” *Food & Biobased research* 1384, 1-104.

Laine, C. (2005) “STRUCTURES OF HEMICELLULOSES AND PECTINS IN WOOD AND PULP,” KCL Communications. 10, 1- 63

- Liang, S., Wu, J., Tian, H., Zhang, L. and Xu, J. (2008). "High-strength cellulose/poly(ethylene glycol) gels," **ChemSusChem**. 1(16), 558–563.
- Lu, L., Zhangbi, L., Xiao, Y., Zhenzhen, W. and Shuxun, C., (2009). "A novel cellulose hydrogel prepared from its ionic liquid solution," **Chinese Science Bullentin**. 54(9), 1622-1625.
- Nilimanka, D. (2013) "PREPARATION METHODS AND PROPERTIES OF HYDROGEL: A REVIEW," **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 3, 112-117.
- Rosnah, M S., Astimar A.A. and Wan hasamudin, W. H. 2012. Conversion of lignocelluloses from oil plam biomass into water-soluble cellulose ether. **Journal of Oil Plam Research**. 24, 1412-1420.
- Saito, H., Sakura, A., Sakakibara, M. and Saga, H. (2003). "Preparation and properties of transparent cellulose hydrogels," **Journal of Applied Polymer Science**. 90, 3020–3025.
- Soares. S., G. Caminot and S. Levchik. 1995. Comparative study of the thermal decomposition of pure cellulose and pulp paper. **Polymer Degradation and Stability**. 49, 275-283.
- Sulaiman, O., Salim N., Nordin, N.A., Hashim, R., Ibrahim, M. and Sato, M. (2012). "The potential of oil palm trunk biomass as an altenative source for compressed wood," **BioResources**. 7(2), 2688-2706.
- Sun, X.F., Sun, R.C., Fowler, P. and Baird, M.S. "Isolation and characterisation of cellulose obtained by a two-stage treatment with organosolv and cyanamide activated hydrogen peroxide from wheat straw," **Carbohydrate Polymers**. 55, 379–391.
- Wada M., Nishiyama Y., Chanzy H., Forsyth T. and Langan P. (2008) "THE STRUCTURE OF CELLULOSES," **International Centre for Diffraction Data**. 138-144.
- Wu, J., Liang, S., Dai, H., Zhang, X., Yu, X., Cai, Y., Zhang, L., Wend, N., Jiange, B. and Xua, J. (2010). "Structure and properties of cellulose/chitin blended hydrogel membranes fabricated via a solution pre-gelation technique," **Carbohydrate Polymers**. 79, 677–684.
- Zhou, J., Chang, C., Zhang, R. and Zhang, L (2007) " Hydrogel prepared from Unsubstituted cellulose in NaOH/Urea aqueous solution," **Macromoleclar Bioscience**. 6(7), 804-806.



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การเตรียมชีวมวลปาล์มน้ำมันเพื่อการผลิตเอทานอลโดยใช้ถังปฏิกรณ์เมมเบรน
สกัดเอทานอล

Pretreatment of Oil Palm Biomass for Bioethanol Production with
In Situ Ethanol Membrane Extraction

คณะผู้วิจัย

ดร.สมพงศ์ โอทอง

ดร.ชัยสิทธิ์ นียสม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การเตรียมชีวมวลปาล์มน้ำมันเพื่อการผลิตเอทานอลโดยใช้ถังปฏิกรณ์เมมเบรน
สกัดเอทานอล

Pretreatment of Oil Palm Biomass for Bioethanol Production with
In Situ Ethanol Membrane Extraction

คณะผู้วิจัย

ดร.สมพงศ์ โอทอง

ดร.ชัยสิทธิ์ นียสม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)

1. บทนำ

เอทานอลเป็นพลังงานทางเลือกที่สามารถผลิตได้ทั้งวิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพ ซึ่งปัจจุบันจะนิยมใช้การผลิตโดยวิธีทางชีวภาพเป็นส่วนมาก เนื่องจากใช้ต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่าวิธีทางเคมี สำหรับในการผลิตเอทานอลโดยใช้วิธีทางชีวภาพ หรือการผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลนั้น จะมีวัตถุดิบที่สามารถนำมาผลิตเอทานอล 3 ชนิดด้วยกัน คือ วัตถุดิบประเภทน้ำตาล วัตถุดิบประเภทแป้ง และวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส วัสดุเหลือทิ้งประเภทลิกโนเซลลูโลสซึ่งมีองค์ประกอบที่เป็น เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin) ซึ่งเซลลูโลสสามารถถูกย่อยได้โดยใช้เซลลูเลส เพื่อให้เกิดน้ำตาลกลูโคส สำหรับใช้ในการผลิตเอทานอลได้ นอกจากนี้ยังสามารถทำการแยกเซลลูโลสออกจากลิกนิน และ เฮมิเซลลูโลส โดยใช้เทคนิคต่าง ๆ เช่นการแยกโดยใช้เทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำ ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิและความดันสูง โดยปกติจะใช้อุณหภูมิในช่วงระหว่าง 200-230 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการระเบิดไม่เกิน 5 นาที แล้วจึงนำเซลลูโลสไปผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด หรือเอนไซม์ เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส และหมักกลูโคส ด้วยยีสต์เพื่อเปลี่ยนให้เป็นเอทานอล (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2012) ตัวอย่างของวัสดุที่นำมาใช้ประโยชน์ประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ชานอ้อย ชังข้าวโพด ชี้อ้อย และของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตหนังสือพิมพ์ เป็นต้น

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ปลูกมากในจังหวัดภาคใต้ของไทย ซึ่งจังหวัดที่ถือว่าเป็นเขตเศรษฐกิจปาล์มน้ำมัน ได้แก่ จังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูล ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ระนอง นครศรีธรรมราช สงขลา และพังงา โดยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งสิ้น โดยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งสิ้นประมาณ 3.5 ล้านไร่ในปี 2552 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553) และมีความสำคัญมากขึ้นเป็นลำดับ เนื่องจากรัฐบาลได้ให้ความสำคัญในเรื่องส่งเสริมพื้นที่การเพาะปลูกเพิ่มเป็น 10 ล้านไร่ภายในปี 2572 เพื่อเพิ่มปริมาณวัตถุดิบทะเลลายปาล์มที่จะป้อนเข้าสู่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เพื่อให้มีน้ำมันดิบสำหรับการแปรรูปเป็นไบโอดีเซล อุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันมีวัสดุเหลือที่เป็นมวลชีวภาพประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic biomass) จำนวนมาก เช่น ต้นปาล์มที่ตัดทิ้งหลังจากต้นปาล์มมีอายุมาก (>25 ปี) และมีผลผลิตน้อย (70 ตันน้ำหนักแห้งต่อเฮกตาร์ของพื้นที่ปลูกปาล์ม (Kee, 2004)) ทางใบปาล์มที่ตัดทิ้งทุกๆ 15 วันพร้อมกับการเก็บเกี่ยวผลปาล์ม นอกจากนี้สวนปาล์มโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบมีชีวมวลเศษเหลือจำนวนมากอย่างเช่น เส้นใยปาล์ม กะลาปาล์ม ทะลายปาล์มเปล่า ประมาณ 9.66, 5.20 และ 17.08 ล้านตันต่อปีตามลำดับ เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน (ตารางที่ 1) จะพบว่า มีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลส (40-50%) เฮมิเซลลูโลส (20-35%) และลิกนิน (16-29%) งานวิจัยที่มาก่อนหน้านี้ได้มุ่งเน้นวิธีการนำส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสในวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส มาใช้ประโยชน์โดยนำวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลสมาผ่านการย่อยโดยวิธีต่างๆ เช่น การใช้กรดอ่อนร่วมกับการให้ความร้อน จากวิธีการดังกล่าว ส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส (33%) ในวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลสจะถูกย่อยสลาย และได้น้ำตาลเป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเสต ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตพลังงานทดแทน (Patträ et al., 2008; Cheng et al., 2008)

ในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันพร้อมโค่นทิ้งประมาณ 20,000-45,000 ไร่ต่อปี ดังนั้นในแต่ละปีจะมีมวลชีวภาพจากลำต้นปาล์มประมาณ 1 ล้านตันต่อปี (อลิศรา และสมพงศ์, 2554) ต้นปาล์มน้ำมันมีเซลล์เก็บน้ำตาล (sap cell) ประมาณร้อยละ 70 ของน้ำหนักต้นเมื่อนำไปคั้นสดได้น้ำตาลมีความเข้มข้น 83 กรัมต่อลิตร (Yamada, et al. 2010) การนำลำต้นปาล์มโค่นทิ้งไปบ่มเป็น

เวลา 30 วัน จะส่งเสริมการย่อยสลายแป้งภายในลำต้นและส่งผลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงถึง 153 กรัมต่อลิตร น้ำคั้นลำต้นปาล์มประกอบด้วยน้ำตาล กลูโคส ซูโครส ฟรุคโตส และกาแลกโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปหมักด้วยยีสต์เพื่อผลิตเอทานอลได้ (Kosugi *et al.* 2010) นำน้ำคั้นลำต้นปาล์มน้ำมันสดมีความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 85.2 กรัมต่อลิตร ไปผลิต เอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้เอทานอล 32 กรัมต่อลิตร นำลำต้นปาล์มมาใช้ประโยชน์เพื่อผลิตพลังงานทดแทน โดยได้นำต้นปาล์มมาคั้น นำน้ำคั้นไปผลิตเอทานอล ได้น้ำคั้นประมาณ 250 ลิตรต่อต้น และเหลือกากที่เป็นของแข็งประมาณ 1,400 กิโลกรัมต่อต้น คิดเป็นประมาณร้อยละ 90 ของมวลชีวภาพของลำต้นปาล์มคงเหลืออยู่ในรูปของแข็ง จากการศึกษาองค์ประกอบส่วนของแข็งจากลำต้นปาล์ม พบว่า มีปริมาณลิกนินร้อยละ 16.5 ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 41.0 และมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 34.0 (Punsuvon *et al.*, 2005) การย่อยวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลสเป็นการสกัดเอาส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสในลำต้นปาล์มออกมาซึ่งจะได้ทั้งของเหลวไฮโดรไลเสตและของแข็งที่มีโครงสร้างเป็นลิกนินยึดติดกับเซลลูโลสซึ่งมีปริมาณมากถึงร้อยละ 60 แต่การผลิตเอทานอลจากมวลชีวภาพส่วนใหญ่ได้ผลผลิตเอทานอลในระดับที่ต่ำ ไม่คุ้มค่าในการกลั่น

ตารางที่ 1 องค์ประกอบชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน

องค์ประกอบ	องค์ประกอบชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน (wt.%)			
	ทลายเปล่า	ใบ	เปลือก	ลำต้น
ลิกนิน	20.4	20.5	28.5	16.5
เซลลูโลส	44.2	49.8	NA	41.0
เฮมิเซลลูโลส	33.5	NA	20.8	34.0
อ้างอิง	Law et al. (2007)	Abdul Khalil et al. (2006)	Koba and Ishizaki (1990)	Punsuvon et al. (2005)

งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพมวลชีวภาพปาล์มน้ำมันที่เป็นของแข็งเพื่อให้ได้ปริมาณเซลลูโลสจากชีวมวลปาล์มน้ำมันที่มากที่สุดและคุณภาพดีเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ต้นปาล์ม ทางปาล์ม ทะลายปาล์มเปล่า เส้นใย เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตเอทานอลและพัฒนากระบวนการเก็บเกี่ยวเอทานอลโดยใช้เอนไซม์แยกเอทานอล

วัตถุประสงค์

เพื่อเพิ่มรายได้แก่เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมัน วัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้นที่สวนปาล์มอย่างเช่น ทางปาล์ม ผลปาล์ม ต้นปาล์มโคนทิ้งเพื่อการปลูกใหม่ ยอดปาล์ม ได้นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพ เพื่อให้เกิดประโยชน์ทางเศรษฐกิจและเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเศษเหลือ โดยเน้นการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นและเซลลูโลสลำต้นปาล์ม

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของมวลชีวภาพปาล์มน้ำมัน (ลำต้นปาล์ม ทางปาล์ม เส้นใย และ ทะลายปาล์มเปล่า)
2. เพื่อศึกษาปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการคั้นลำต้นปาล์ม ทางปาล์ม เส้นใย และ ทะลายปาล์ม

3. เพื่อเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมมวลชีวภาพปาล์มน้ำมัน (Pretreatment) โดยวิธีทางเคมี (กรด และด่าง) และวิธีทางเคมีกายภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave digestion) และวิธีระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)
4. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสที่เตรียมได้ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและบีต้ากลูโคซิเดส
5. เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลจากต้นปาล์มโดยใช้ วิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) และ separated hydrolysis and fermentation (SHF) โดยการใช้ยีสต์ในกระบวนการหมักแบบกะ
6. เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลจากการผสมน้ำตาลที่ได้จากการคั้นและการการย่อยเซลลูโลสที่เตรียมได้ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและบีต้ากลูโคซิเดส
7. เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลโดยใช้ถังปฏิกรณ์หมักเบรณสกัดเอทานอล
8. เพื่อศึกษาความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิตเอทานอลจากมวลชีวภาพปาล์มน้ำมัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ในการวิจัยการใช้ประโยชน์จากลำต้นปาล์มคั้นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่ โดยทราบสภาวะที่เหมาะสม ในการย่อยลำต้นปาล์มเพื่อให้ได้น้ำตาลในการผลิตเอทานอล
2. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากต้นปาล์ม โดยใช้เอนไซม์ในการย่อยร่วมกับยีสต์ ในระบบแบบกะ
3. สามารถใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรเป็นแหล่งพลังงานทดแทนเพื่อความมั่นคงทางด้านเศรษฐกิจและทรัพยากรภายในประเทศและลดปัญหามลภาวะสิ่งแวดล้อม
4. สามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่วัสดุที่เหลือใช้ทางการเกษตรได้

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการ โดยจะศึกษาครอบคลุมถึงความเป็นไปได้ในการใช้ลำต้นปาล์มน้ำมัน เพื่อผลิตเอทานอลโดยวิธีการทางชีวภาพ โดยขอบเขตในการทำลงมิดังนี้

1. ศึกษาการเตรียมลำต้นปาล์ม (Pretreatment) โดยวิธีทางเคมี (น้ำร้อน กรด และด่าง) และวิธีทางเคมีกายภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave digestion) และวิธีระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)
2. ศึกษาองค์ประกอบของลำต้นปาล์มก่อน และหลังปรับสภาพ โดยพิจารณาจากองค์ประกอบของเซลลูโลส ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส (วิธี Karlsson method)
3. ศึกษาการย่อยของลำต้นปาล์มและผลผลิตของน้ำตาลหลังปรับสภาพ ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับเบต้า-กลูโคซิเดส
4. วิเคราะห์ชนิดและองค์ประกอบของน้ำตาลด้วยHPLC หลังจากทำการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีของ Pattri et al., 2008 และวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Phenol-Sulfuric
5. ศึกษาการผลิตเอทานอลจากต้นปาล์ม โดยการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล โดยวิธี เฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟี (สแกนต์และเซอร์, 2554)
6. ศึกษาความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการลงทุนผลิตเอทานอลจากลำต้นปาล์ม

2. วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

2.1 วิธีการเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมัน

ใช้ตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันที่มีอายุ 25 ปี เตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์มโดยการตัดลำต้นปาล์มเป็นชิ้นเล็กๆ หนาขนาด 10 เซนติเมตร จากนั้นนำไปตัดบดให้มีขนาด 2 มิลลิเมตรด้วยเครื่องบด นำไปแช่น้ำอัตราส่วน 1:4 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วคั้นแยกน้ำคั้นออก และนำส่วนที่เป็นกากของแข็งไปอบที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปบดให้มีความละเอียดขนาด 0.5 มิลลิเมตร โดยใช้เครื่องบดลำต้นปาล์ม (Hammer Mill) แล้วจึงเก็บใส่ถุงพลาสติกไม่ให้เกิดความชื้นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การเตรียมเซลล์จากกากของแข็งจากการคั้น

2.2.1 การเตรียมด้วยสารละลายร้อยละ 2 ของ H_2SO_4 NaOH NaOH+ H_2O_2 และ H_2O

นำตัวอย่างลำต้นปาล์มที่ผ่านการบดมาปรับสภาพโดยการแช่ในสารละลายร้อยละ 2 ของ H_2SO_4 ร้อยละ 2 ของ NaOH ร้อยละ 2 ของ NaOH+ H_2O_2 และ H_2O (ชุดควบคุม) ในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายร้อยละ 10 15 20 ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างนำตัวอย่างไปคั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากของแข็งออกจากส่วนที่เป็นของเหลวโดยนำของเหลวไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล และในส่วนของแข็งนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณ เสมิเซลลูโลส และ เซลลูโลส ตามวิธี Klason Method (Dence and Lin.1992:39)

2.2.2 การเตรียมด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำ

นำตัวอย่างลำต้นปาล์มที่ผ่านการบดมาปรับสภาพโดยการแช่ในสารละลายร้อยละ 2 ของ H_2SO_4 ร้อยละ 2 ของ NaOH ร้อยละ 2 ของ NaOH+ H_2O_2 และ H_2O (ชุดควบคุม) ในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายร้อยละ 15 (15g: 100mL) ผสมให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนด้วยการ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์ 30 นาที เก็บตัวอย่างเมื่อเวลาผ่านไป 0 และ 30 นาที นำตัวอย่างแต่ละช่วงเวลาไปคั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากของแข็งออกจากส่วนที่เป็นของเหลวโดยนำของเหลวไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล และในส่วนของแข็งนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณ เสมิเซลลูโลส และ เซลลูโลส ตามวิธี Klason Method (Dence and Lin.1992:39)

2.2.3 การเตรียมด้วยไมโครเวฟ

นำตัวอย่างลำต้นปาล์มที่ผ่านการบดมาปรับสภาพโดยการแช่ในสารละลายร้อยละ 2 ของ H_2SO_4 ร้อยละ 2 ของ NaOH ร้อยละ 2 ของ NaOH+ H_2O_2 และ H_2O (ชุดควบคุม) ในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายร้อยละ 15 (15g: 100mL) ผสมให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 700 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที เก็บตัวอย่างเมื่อเวลาผ่านไป 0 และ 30 นาที นำตัวอย่างแต่ละช่วงเวลาไปคั้นกรองแยกส่วนที่เป็นกากของแข็งออกจากส่วนที่เป็นของเหลวโดยนำของเหลวไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล และในส่วนของแข็งนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณ เสมิเซลลูโลส และ เซลลูโลส ตามวิธี Klason Method (Dence and Lin.1992:39)

2.3 การย่อยเซลล์จากลำต้นปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์ และการผลิตเอทานอล

2.3.1 การเตรียมน้ำตาลโดยการย่อยเซลล์จากลำต้นปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์

การเตรียมน้ำตาลโดยการย่อยเซลล์จากลำต้นปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์ คัดเลือกตัวอย่างลำต้นปาล์มที่ผ่านการย่อยด้วยวิธีทางเคมีที่มีการย่อย เสมิเซลลูโลสที่ดีที่สุดของแต่ละวิธี (ดู

จากปริมาณน้ำตาลในส่วนของการเหลว) ทำการย่อยด้วยเอนไซม์โดยการใส่ตัวอย่างเซลลูโลสที่เตรียมไว้ 6 % ในขวดรูปชมพู่ จากนั้น เติมน้ำเกลือละลาย 0.05 M Citrate Buffer pH 4.8 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 95 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเอนไซม์ Cellulase ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (60 FPU) และเอนไซม์ β -Glucosidase ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (15 CBU) (Novozyme, Denmark) ลงในตัวอย่าง แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่าโดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบ/นาที่ เพื่อให้ตัวอย่างผสมเข้าด้วยกัน และทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 72 ชั่วโมง เริ่มเก็บที่เวลา 0 24 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Phenol-Sulfuric (Miller, 1959:426) และยืนยันผลด้วย HPLC

2.3.2 การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสแลดต้นปาล์มด้วยยีสต์

เลี้ยงเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (TISTR 5048) ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Yeast Peptone Dextrose (YPD) ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพปไทน์ 20 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตรใส่ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที

นำกล้าเชื้อที่เตรียมไว้ มีค่า OD₆₂₀ เท่ากับ 1.0 มาร้อยละ 10 ไปเติมลงในตัวอย่างและ yeast extract 1 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเขย่า 150 รอบ/นาที เก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 96 ชั่วโมง วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล โดยวิธี Phenol-Sulfuric (Miller,1959:426) วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิค Gas Chromatography (สแกนต์ เหลืองเกรียงไกร และเชาว์ อินทร์ประสิทธิ์, 2554:173)

2.4 การขยายการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสแลดต้นปาล์ม

2.4.1 การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสแลดต้นปาล์มด้วยยีสต์ โดยการเพิ่มขยายขนาด (Scale-up)

ศึกษาการผลิตเอทานอลในระดับขยายขนาดเป็น 1.5 ลิตรในการหมักโดยใช้สภาวะจากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสแลดต้นปาล์มด้วยยีสต์ในระบบการหมักแบบกะ ที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเหมาะสมที่สุด (จาก 3.4.3) มาทำการศึกษาในขั้นตอนนี้ โดยหมักในถังหมักขนาด 2 ลิตร ปริมาตรน้ำหมัก 1.5 ลิตร โดยใช้ Avicel เป็นชุดควบคุม ใช้ตัวอย่าง 15% ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 2 ลิตร จากนั้นเติม 0.05 M Citrate buffer pH 4.8 ปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 1425 จากนั้นเติมเอนไซม์ Cellulase ปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร (60 FPU) และเอนไซม์ β -Glucosidase ปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร (15 CBU) (Novozyme, Denmark) ลงในตัวอย่าง กวนด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อให้ตัวอย่างผสมเข้าด้วยกัน และทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 96 ชั่วโมง

จากนั้นเติมกล้าเชื้อร้อยละ 10 และ yeast extract 1 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส กวนด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 96 ชั่วโมงวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโดยวิธี Phenol-Sulfuric (Miller,1959:426) วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิค Gas Chromatography (สแกนต์ เหลืองเกรียงไกร และ เชาว์ อินทร์ประสิทธิ์, 2554:173)

2.5 การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสเสด ลำต้นปาล์มน้ำมัน

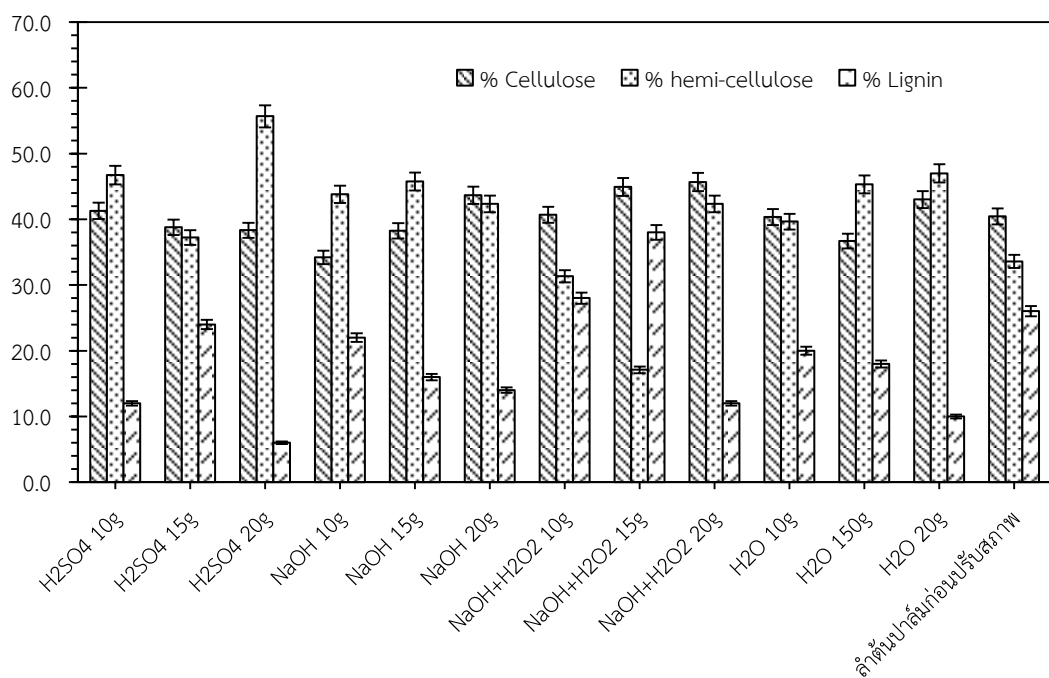
2.5.1 การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

เป็นการวิเคราะห์ถึงต้นทุน-ผลประโยชน์ (Cost Benefit Analysis: CBA) ของโครงการซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการประเมินโครงการเพื่อตัดสินใจว่าโครงการน่าลงทุนหรือไม่ โดยในการศึกษาจะนำค่าผลได้เอทานอลที่ได้จากการทดลองมาประเมินค่าความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสลำต้นปาล์ม โดยจะคำนวณค่าพลังงานที่จะผลิตได้ เทียบกับปริมาณพลังงานที่ใช้ในการดำเนินการผลิต

3. รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย

3.1 ผลการเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์ม

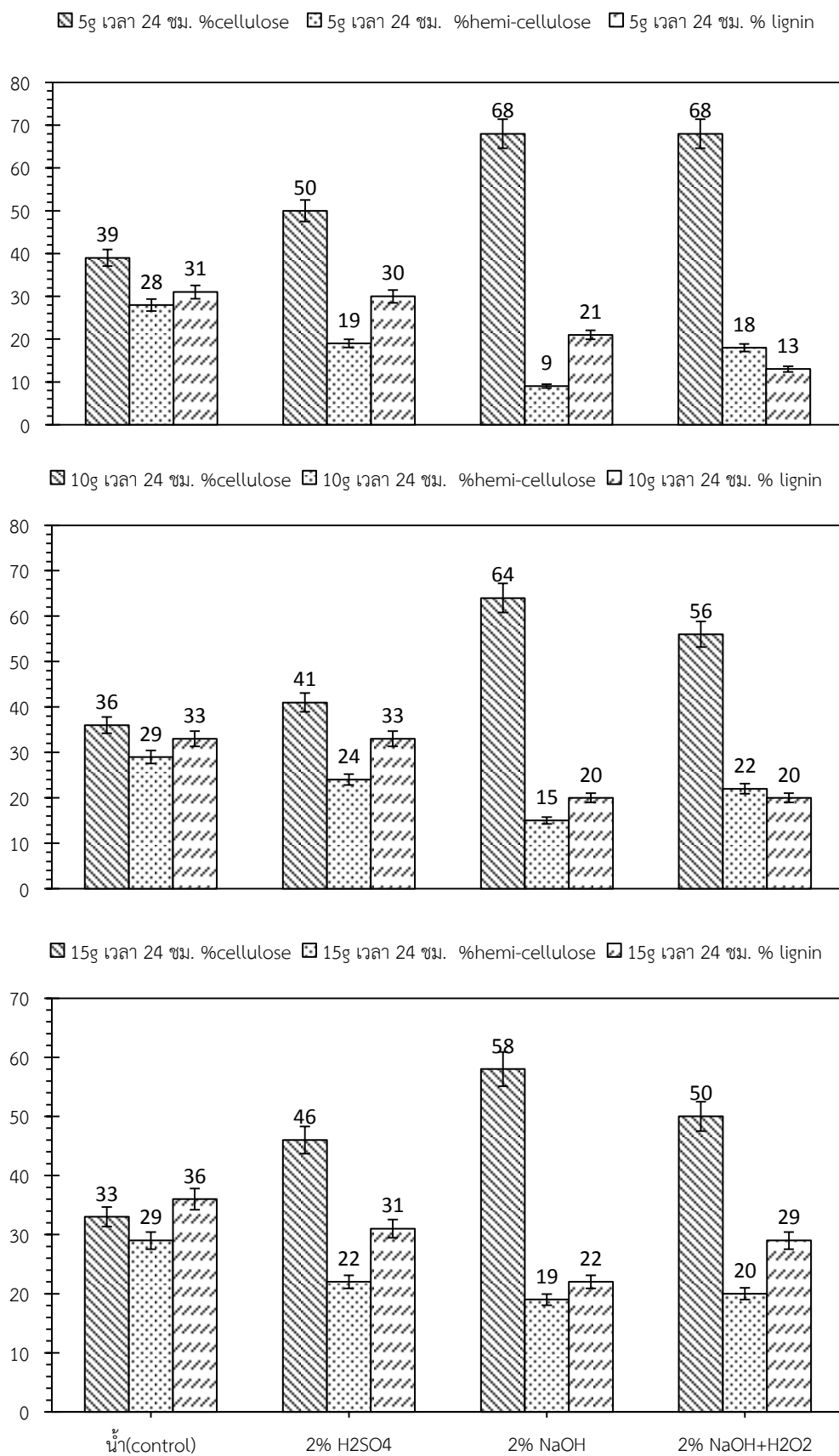
การเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์มโดยนำลำต้นปาล์มมาคั้นแยกน้ำได้น้ำประมาณ 255 ลิตรต่อตัน ซึ่งในส่วนของน้ำคั้นจะมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลักสามารถนำไปเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลได้เลย และเหลือกากของแข็งประมาณ 1,400 กิโลกรัมต่อตัน ประมาณร้อยละ 90 ของมวลชีวภาพลำต้นปาล์มที่เหลืออยู่ในรูปของแข็ง งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการปรับสภาพในการสกัดเอาส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสในต้นปาล์มออกมา ซึ่งจะได้ไฮโดรไลสเสตที่มีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลไซโตส และกลูโคส ซึ่งในการศึกษาใช้วิธีการเตรียมเซลลูโลสจากลำต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมี วิธีทางเคมีกายภาพ โดยการใช้การระเบิดด้วยไอน้ำ และการใช้คลื่นไมโครเวฟ



ภาพที่ 1 องค์ประกอบลำต้นจากการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีการแช่ในสารละลาย H_2SO_4 NaOH NaOH ผสมกับ H_2O_2 และน้ำที่อุณหภูมิห้องที่อัตราส่วนของแข็งร้อยละ 10 15 และ 20

3.1.1 ผลการเตรียมเซลลูโลสจากลำต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมี

จากการศึกษาการเตรียมเซลลูโลสจากลำต้นปาล์มน้ำมัน โดยทดลองปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมี โดยนำลำต้นปาล์มน้ำมันมาปรับสภาพด้วยน้ำ กรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลาย ร้อยละ 5 ร้อยละ 10 และ ร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 24 ชั่วโมงจากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบบางประการของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน

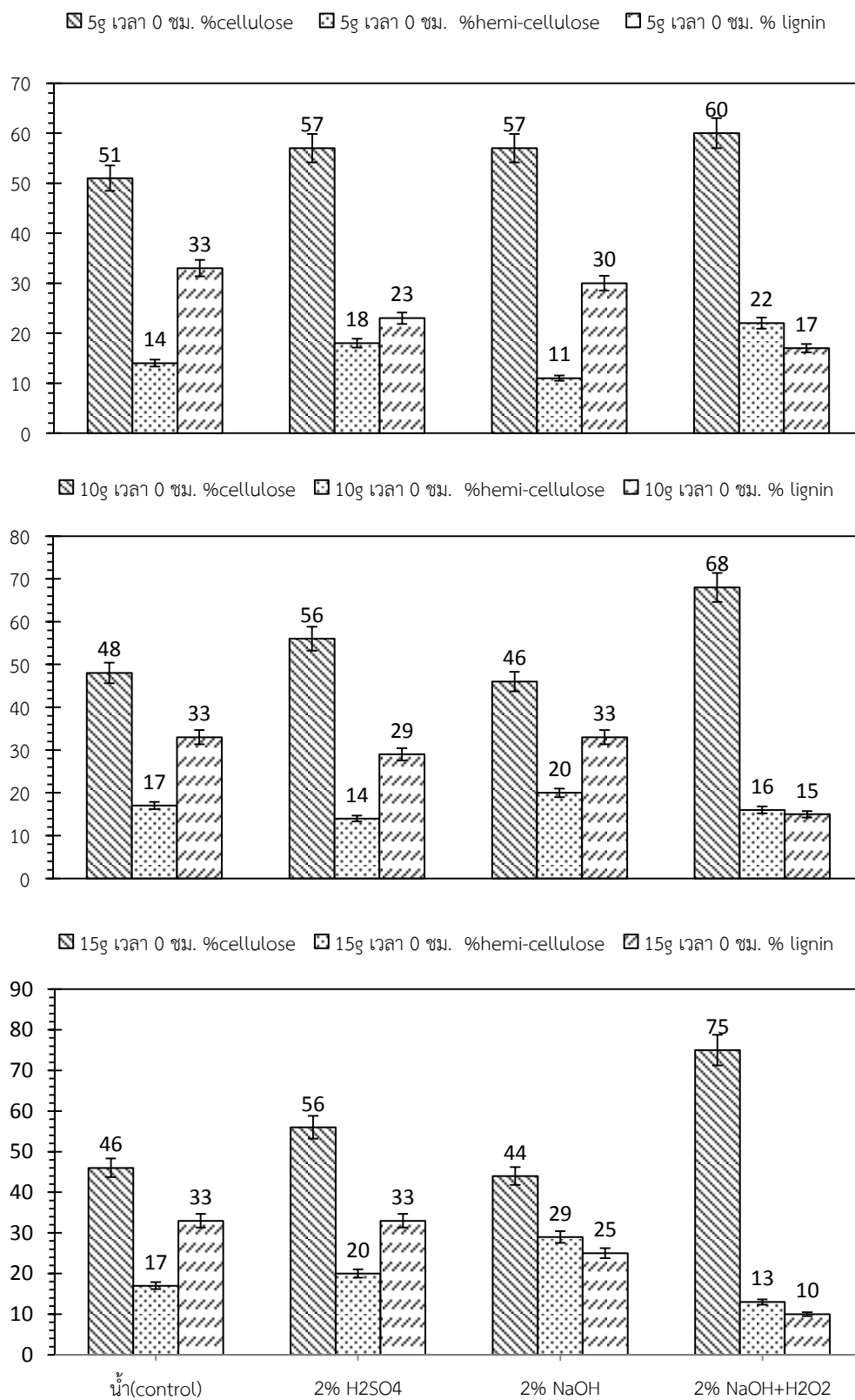


ภาพที่ 2 ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมีเวลา 24 ชั่วโมง

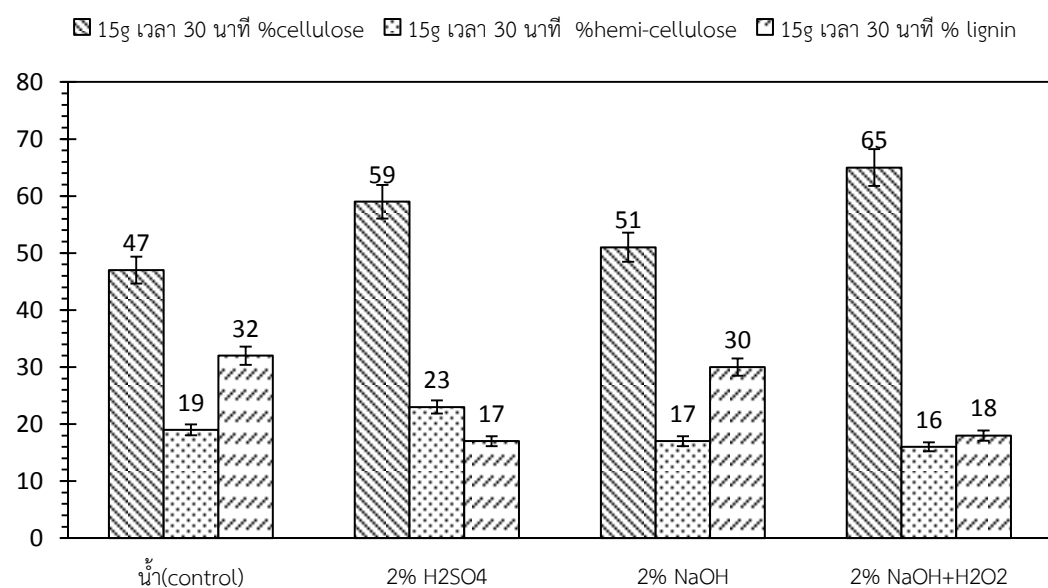
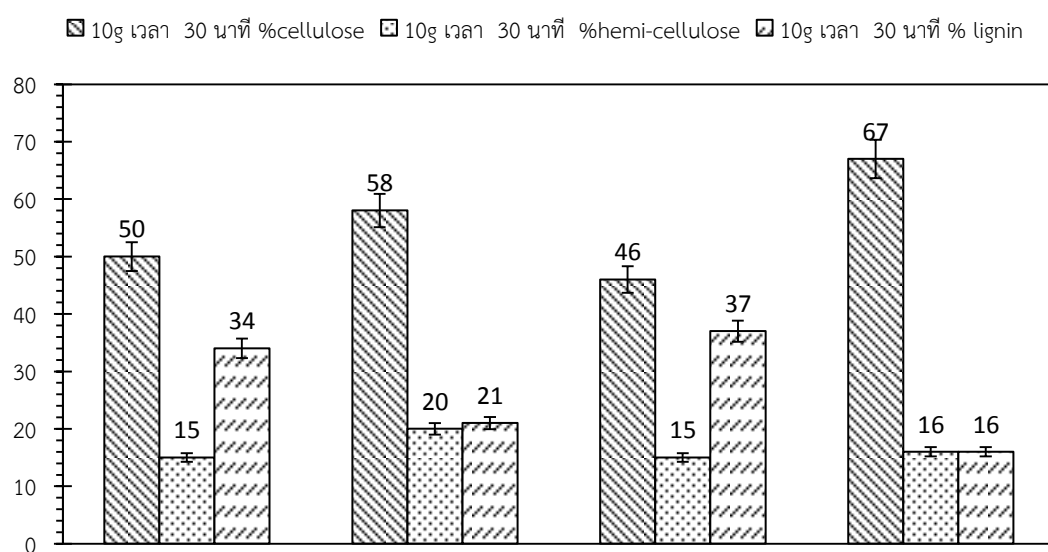
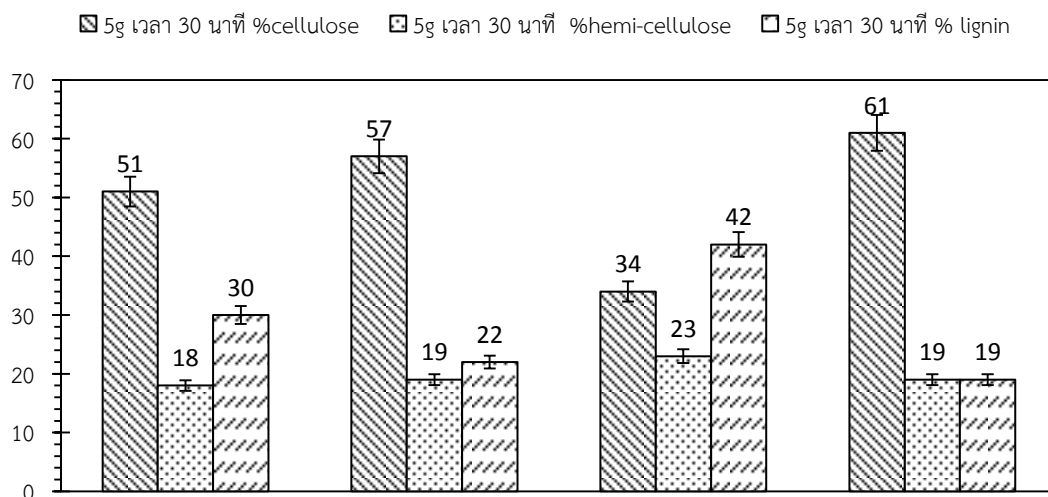
โดยผลการทดลองในการปรับสภาพและการวิเคราะห์องค์ประกอบซึ่งจากการทดลองโดยอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ร้อยละ 15 ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการปรับสภาพลำต้นปาล์มได้เหมาะสมที่สุดเนื่องจากมีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้สูง มีเซลลูโลสในปริมาณที่สูง และสามารถกำจัดในส่วนของเฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้ในปริมาณมาก เมื่อเทียบกับตัวอย่างในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลาย ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ซึ่งการเตรียมเซลลูโลสจากต้นปาล์มด้วยวิธีทางเคมี ด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ร้อยละ 15 ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 89 มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 33 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 29 และปริมาณลิกนินร้อยละ 36 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริกมีปริมาณร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 92 มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 46 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 22 และปริมาณลิกนินร้อยละ 31 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์มีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 79 มีปริมาณเซลลูโลส ร้อยละ 58 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 19 และปริมาณลิกนินร้อยละ 22 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 79 มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 50 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20 และปริมาณลิกนิน ร้อยละ 29 แสดงดังภาพที่ 1 และภาพที่ 2

3.1.2 ผลการเตรียมเซลลูโลสจากลำต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมีกายภาพโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ

จากการศึกษาการเตรียมเซลลูโลสจากลำต้นปาล์มน้ำมัน โดยทำการทดลองเพื่อปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมีกายภาพโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ (700 W) โดยการนำลำต้นปาล์มน้ำมันมาปรับสภาพด้วยน้ำกรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลาย ร้อยละ 5 ร้อยละ 10 และ ร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 30 นาทีจากนั้นนำไปการวิเคราะห์องค์ประกอบบางประการของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินโดยผลการทดลองในการปรับสภาพและการวิเคราะห์องค์ประกอบพบว่า อัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ร้อยละ 15 ที่เวลา 30 นาทีที่มีประสิทธิภาพในการปรับสภาพลำต้นปาล์มได้เหมาะสมที่สุดเนื่องจากได้ปริมาณเซลลูโลสในปริมาณที่สูง และสามารถกำจัดในส่วนของเฮมิเซลลูโลสได้ในปริมาณมาก เมื่อเทียบกับตัวอย่างในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลาย ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ซึ่งการเตรียมเซลลูโลสจากต้นปาล์มด้วยวิธีทางเคมีกายภาพโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ (700 W) ด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ร้อยละ 15 ที่เวลา 30 นาทีมีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้เท่ากับร้อยละ 93.7 มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 47 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 19 และปริมาณลิกนินร้อยละ 32 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริกมีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 74.4 มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 59 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 23 และปริมาณลิกนินร้อยละ 17 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 86 มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 51 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 17 และปริมาณลิกนินร้อยละ 30 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 86 มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 65 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 16 และปริมาณลิกนินร้อยละ 18 แสดงดังภาพที่ 3 และภาพที่ 4



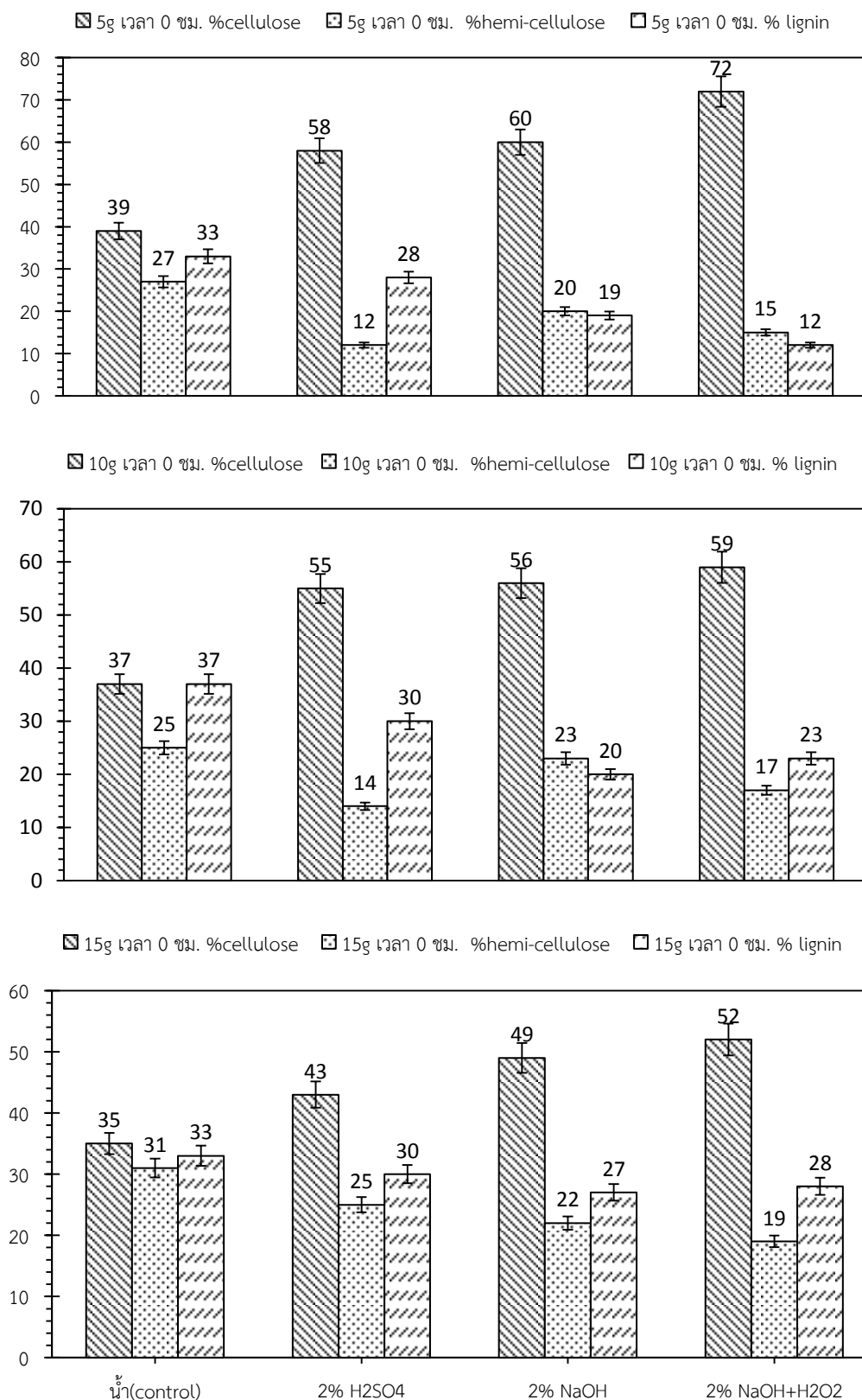
ภาพที่ 3 ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ เวลาที่ 0 นาที



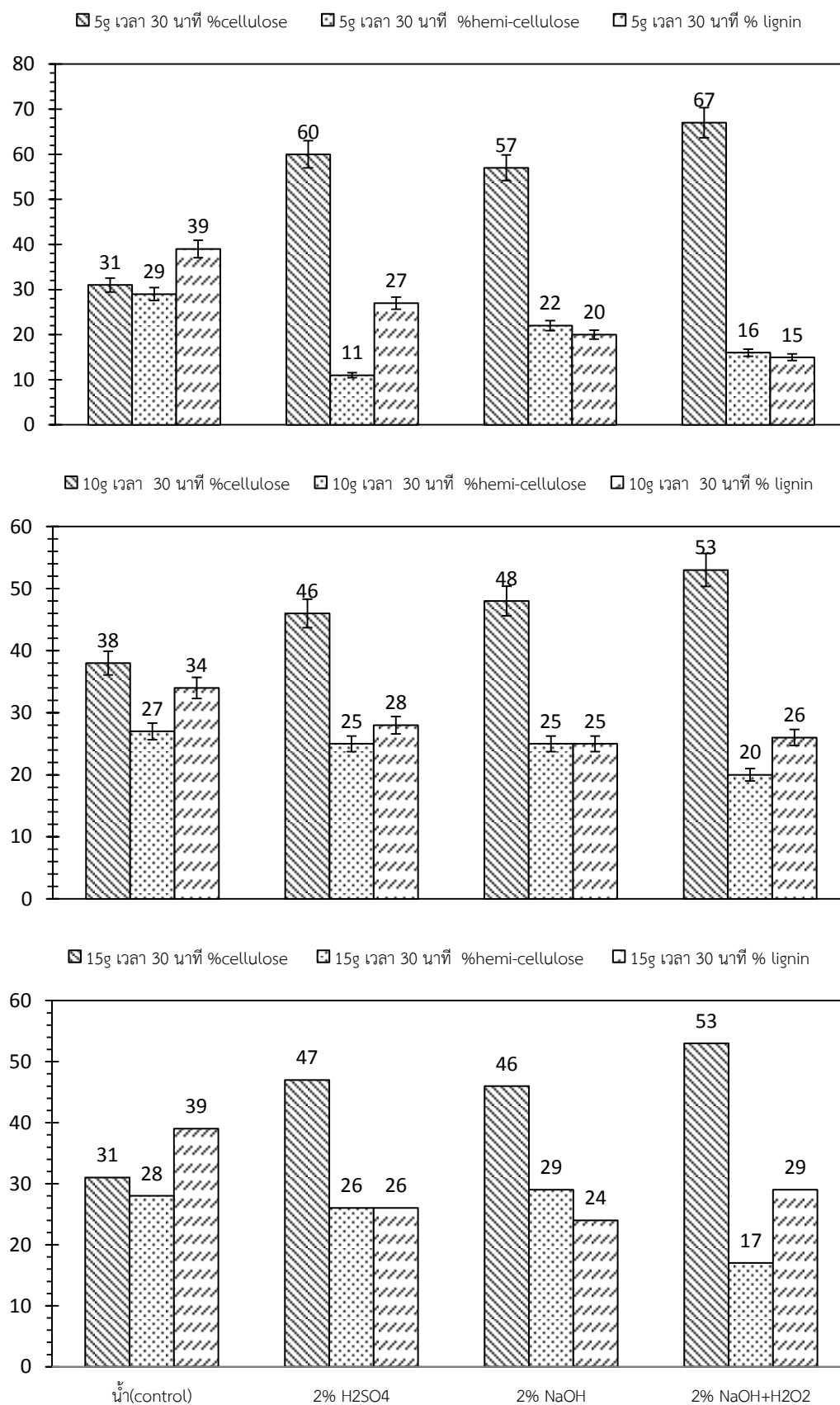
ภาพที่ 4 ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ เวลาที่ 30 นาที

3.1.3 ผลการเตรียมเซลล์โลสจากลำต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมีกายภาพโดยการใช้การระเบิดด้วยไอน้ำ

จากการศึกษาการเตรียมเซลล์โลสจากลำต้นปาล์มน้ำมัน โดยทำการทดลองเพื่อปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมีกายภาพโดยการระเบิดด้วยไอน้ำ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์) โดยการนำลำต้นปาล์มน้ำมันมาปรับสภาพด้วยน้ำกรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลาย ร้อยละ 5 ร้อยละ 10 และ ร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 30 นาทีจากนั้นนำไปการวิเคราะห์หองค์ประกอบบางประการของเซลล์โลส เหมิเซลล์โลสและลิกนินโดยผลการทดลองในการปรับสภาพและการวิเคราะห์องค์ประกอบพบว่า อัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ร้อยละ15 ที่เวลา 30 นาทีมีประสิทธิภาพในการปรับสภาพลำต้นปาล์มได้เหมาะสมที่สุด เนื่องจากได้ปริมาณเซลล์โลสในปริมาณที่สูง และสามารถกำจัดในส่วนของเหมิเซลล์โลสได้ในปริมาณมากเมื่อเทียบกับตัวอย่างในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลาย ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ซึ่งวิธีทางเคมีกายภาพโดยการ ระเบิดด้วยไอน้ำ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์) ด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ร้อยละ15 ที่เวลา 30 นาทีมีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 85 มีปริมาณเซลล์โลสร้อยละ 31 ปริมาณเหมิเซลล์โลสร้อยละ 28 และปริมาณลิกนินร้อยละ 39 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริกมีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้เท่ากับร้อยละ 67 มีปริมาณเซลล์โลสร้อยละ 47 ปริมาณเหมิเซลล์โลสร้อยละ 26 และปริมาณลิกนินร้อยละ 26 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับร้อยละ 77 มีปริมาณเซลล์โลสร้อยละ 46 ปริมาณเหมิเซลล์โลสร้อยละ 29 และปริมาณลิกนินร้อยละ 24 การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีร้อยละของแข็งที่เก็บเกี่ยวได้เท่ากับร้อยละ 68มีปริมาณเซลล์โลสร้อยละ 53 ปริมาณเหมิเซลล์โลสร้อยละ 17และปริมาณลิกนินร้อยละ 29 ดังภาพที่ 5และภาพที่ 6



ภาพที่ 5 ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำ เวลาที่ 0 นาที



ภาพที่ 6 ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่เวลาที่ 30 นาที

3.2 ผลการย่อยเซลลูโลสจากลำต้นปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์ และการผลิตเอทานอล

คัดเลือกตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพเพื่อการหมักเอทานอลร่วมกับการไฮโดรไลซิส โดยใช้ตัวอย่างในตอนที่ 1 ได้ดังนี้

3.2.1 ผลการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์มและหาค่าประกอบ

1) ตัวอย่างที่ดีที่สุดที่ผ่านการปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมี ได้แก่ ตัวอย่างที่ 6, 12, 18 และ 24

โดยตัวอย่างที่ 6 ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 39.95 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 21.32 และลิกนินร้อยละ 32.00

ตัวอย่างที่ 12 ผ่านการปรับสภาพด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 49.54 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 24.34 และลิกนินร้อยละ 34

ตัวอย่างที่ 18 ผ่านการปรับสภาพด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 54.46 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 22.92 และลิกนินร้อยละ 22

ตัวอย่างที่ 24 ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 50.02 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20 และลิกนินร้อยละ 29

2) ตัวอย่างที่ดีที่สุดที่ผ่านการปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ โดยการ ใช้คลื่นไมโครเวฟได้แก่ ตัวอย่างที่ 30, 36, 42 และ 48

โดยตัวอย่างที่ 30 ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น โดยการ ใช้คลื่นไมโครเวฟ (700 W เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 48.81 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 19 และลิกนินร้อยละ 32

ตัวอย่างที่ 36 ผ่านการปรับสภาพด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก โดยการ ใช้คลื่นไมโครเวฟ (700 W เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 58.53 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 24.30 และลิกนินร้อยละ 17

ตัวอย่างที่ 42 ผ่านการปรับสภาพด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยการ ใช้คลื่นไมโครเวฟ (700 W เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 57.13 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 17.03 และลิกนินร้อยละ 30

ตัวอย่างที่ 48 ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยการ ใช้คลื่นไมโครเวฟ (700 W เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 61.91 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 19.43 และลิกนินร้อยละ 18.01

3) ตัวอย่างที่ดีที่สุดที่ผ่านการปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ โดยการ ระเบิดด้วยไอน้ำ ได้แก่ ตัวอย่างที่ 54, 60, 66 และ 72

โดยตัวอย่างที่ 54 ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น โดยการ ระเบิดด้วยไอน้ำ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 31.90 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 23.93 และลิกนินร้อยละ 34

ตัวอย่างที่ 60 ผ่านการปรับสภาพด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก กลั่น โดยการ ระเบิดด้วยไอน้ำ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 48.35 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 26.44 และลิกนินร้อยละ 26

ตัวอย่างที่ 66 ผ่านการปรับสภาพด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ กลั่น โดยการกระเปิดด้วยไอน้ำ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 45.43 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 29.05 และลิกนินร้อยละ 24

ตัวอย่างที่ 72 ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กลั่น โดยการกระเปิดด้วยไอน้ำ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์เป็นเวลา 30 นาที) มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 53.01 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 18.22 และลิกนินร้อยละ 26

ตัวอย่างก่อนปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 41 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 36.58 และลิกนินร้อยละ 26 ดังตารางที่ 1

3.2.2 การผลิตน้ำตาลโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -Glucosidases

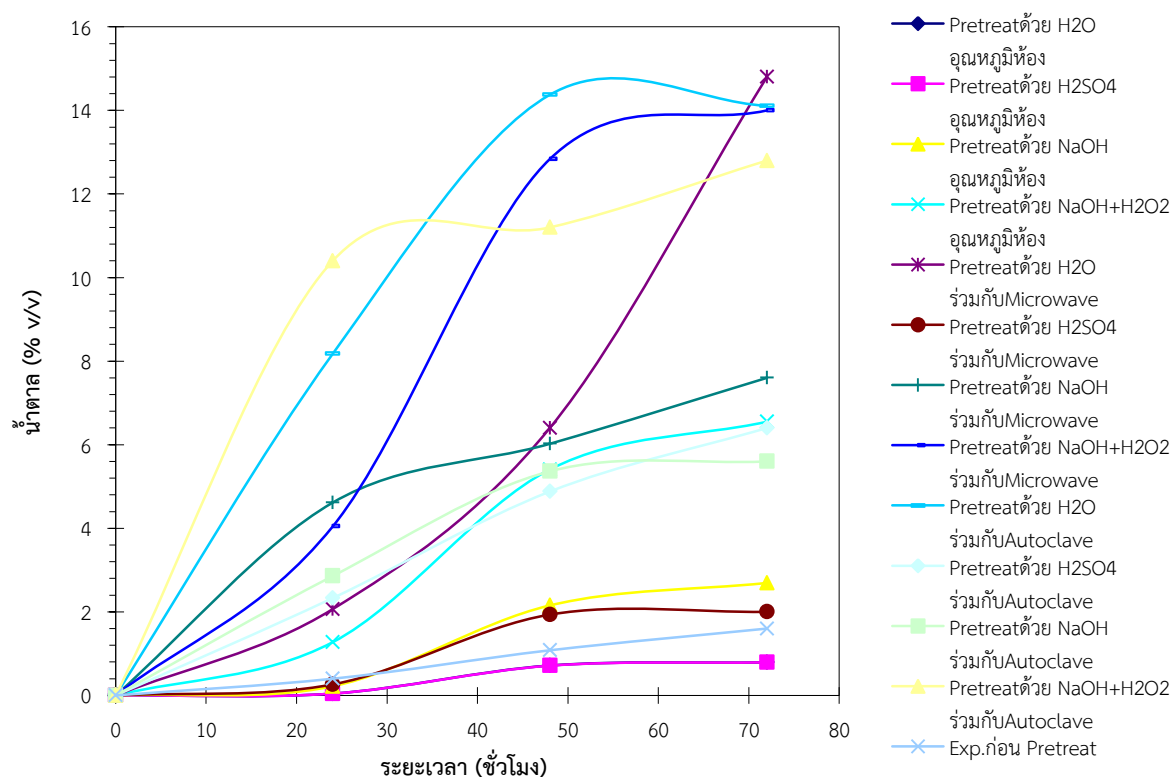
จากการศึกษาการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ ซึ่งใช้เอนไซม์ 2 ชนิด คือ Cellulase และ β -Glucosidases ช่วยในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยย่อยตัวอย่างที่ได้เลือกมาแล้วจากในข้างต้น มาย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า ตัวอย่างที่ 24 ที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุด เท่ากับ 6.549 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ 18 ที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 2.692 กรัมต่อลิตร และตัวอย่างที่ 30 ที่ผ่านการแช่ด้วยน้ำกลั่นและตัวอย่างที่ 12 ที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริกมีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากันได้เท่ากับ 0.79 กรัมต่อลิตร

ส่วนการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางวิธีทางเคมี ภายภาพโดยการใช้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) ตัวอย่างที่ 30 ที่ผ่านการแช่ด้วยน้ำกลั่นมีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุด เท่ากับ 14.800 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ 48 แช่ด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุด เท่ากับ 14.000 กรัมต่อลิตร ตัวอย่างที่ 42 ตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุด เท่ากับ 7.600 กรัมต่อลิตรและตัวอย่างที่ 36 เซลลูโลสที่ผ่านการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริกมีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 2.000 กรัมต่อลิตร

ส่วนการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางวิธีทางเคมี ภายภาพโดยการกระเปิดด้วยไอน้ำ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์) ตัวอย่างที่ 54 ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุด เท่ากับ 14.109 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ 72 ที่ผ่านการปรับสภาพโดยการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 12.800 กรัมต่อลิตร ตัวอย่างที่ 60 ที่ผ่านการปรับสภาพโดยการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 6.400 กรัมต่อลิตรและตัวอย่างที่ 66 ที่ผ่านการปรับสภาพโดยการแช่ด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 5.600 กรัมต่อลิตร และตัวอย่างก่อนปรับสภาพเมื่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 8.912 กรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 7 และตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพ

ตัวอย่างที่	วิธีการปรับสภาพ	สารละลาย	องค์ประกอบของลำต้นปาล์มน้ำมัน				Reference
			น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	%Cellulose	%Hemi- cellulose	% Lignin	
6	วิธีทางเคมีที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ (Control)	0.501	39.95	21.32	32.00	งานวิจัยนี้
12		2% H ₂ SO ₄	0.506	49.54	24.34	34.00	
18		2% NaOH	0.505	54.46	22.92	23.00	
24		2% NaOH + H ₂ O ₂	0.502	50.02	20.91	29.00	
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	0.504	48.81	19.00	32.00	
36		2% H ₂ SO ₄	0.503	58.53	24.30	17.00	
42		2% NaOH	0.501	57.13	17.03	30.00	
48		2% NaOH + H ₂ O ₂	0.505	61.91	19.43	18.01	
54	การเตรียมด้วยการระเบิด ด้วยไอน้ำ ที่ 121 องศา เซลเซียสความดัน 1 บาร์	น้ำ (Control)	0.502	38.90	23.93	34.00	
60		2% H ₂ SO ₄	0.504	48.35	26.44	26.00	
66		2% NaOH	0.503	45.43	29.05	22.00	
72		2% NaOH + H ₂ O ₂	0.501	53.01	18.22	26.00	
ก่อนปรับสภาพ	-	-	0.502	41.18	36.58	22.00	
ทะลายปาล์ม	เตรียมด้วยวิธีทางเคมี	H ₂ SO ₄ /NaOH		54.17	29.10	15.23	Kassim et al. (2011)
ทะลายปาล์ม	เตรียมด้วยอุลตราโซนิก	2% H ₂ SO ₄		44.00	19.8	14.1	Yunus et al. (2010)
ทะลายปาล์ม	การระเบิดด้วยไอน้ำ	2.5 mol NaOH		66.77	24.5	7.25	Hamzah et al. (2011)



ภาพที่ 7 ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลจากการย่อยตัวอย่างลำต้นปาล์มด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -Glucosidases

ตารางที่ 3 การย่อยลำต้นปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -Glucosidases โดยบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบ ต่อนาที และปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาล

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ	สารละลาย	เวลา (ชม.)			
			ความเข้มข้นของน้ำตาล (%v/v)			
			0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
6	วิธีทางเคมีที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ (Control)	0	0.043	0.716	0.791
12		2% H_2SO_4	0	0.043	0.712	0.791
18		2% NaOH	0	0.219	2.153	2.692
24		2% NaOH + H_2O_2	0	1.274	5.406	6.549
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	0	2.065	6.400	14.800
36		2% H_2SO_4	0	0.263	1.934	2.000
42		2% NaOH	0	4.615	6.021	7.600
48		2% NaOH + H_2O_2	0	4.043	12.835	14.000
54	การเตรียมด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์	น้ำ (Control)	0	8.175	14.373	14.109
60		2% H_2SO_4	0	2.329	4.879	6.400
66		2% NaOH	0	2.857	5.362	5.600
72		2% NaOH + H_2O_2	0	10.400	11.200	12.800
ก่อนปรับสภาพ	-	-	0	0.400	1.080	1.600

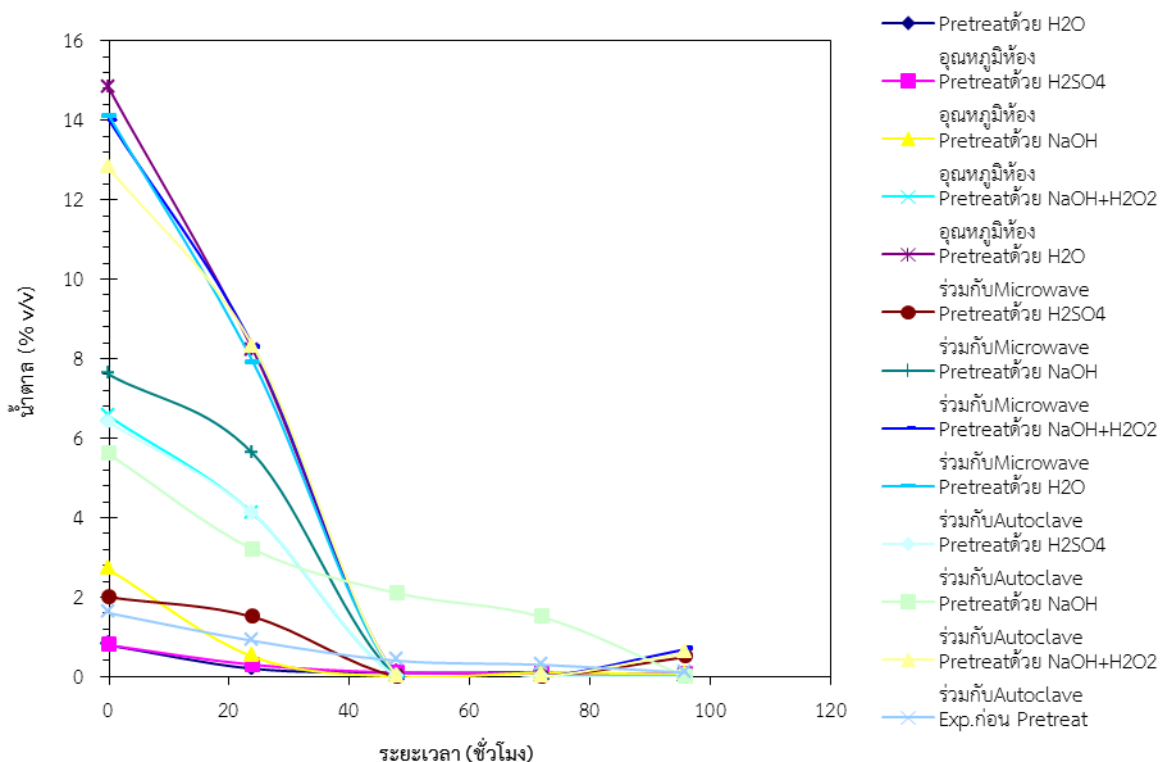
ตารางที่ 4 ปริมาณและชนิดของน้ำตาลจากการย่อยลำต้นปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -Glucosidases โดยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ	สารละลาย	ความเข้มข้นของน้ำตาล (% v/v)			
			Glucose	Xylose	Arabinose	Acetic Acid
6	วิธีทางเคมีที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ (Control)	8.85	0	0.24	0.01
12		2% H_2SO_4	13.18	3.06	0.24	0.01
18		2% NaOH	12.06	3.061	0.24	0.01
24		2% NaOH + H_2O_2	12.62	3.32	0.24	0.01
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	11.22	2.95	0.24	0.01
36		2% H_2SO_4	11.57	2.89	0.24	0.01
42		2% NaOH	11.05	2.81	0.24	0.01
48		2% NaOH + H_2O_2	10.18	2.74	0.24	0.01
54	การเตรียมด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียสความดัน 1 บาร์	น้ำ (Control)	10.94	2.83	0.24	0.01
60		2% H_2SO_4	13.40	3.35	0.24	0.01
66		2% NaOH	14.10	3.39	0.24	0.01
72		2% NaOH + H_2O_2	12.34	2.96	0.24	0.01
ก่อนปรับสภาพ	-	-	11.13	2.74	0.24	0.01

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ช่วยในกระบวนการหมัก ซึ่งทำการทดลองต่อจากการย่อยด้วยเอนไซม์ ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลง โดยน้ำหมักตัวอย่างที่ 24 ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี ด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงมากที่สุดโดยลดลงเป็น 0 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์และร้อยละ 2 ของ กรดซัลฟิวริก มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเท่ากับ 0.010, 0.050 และ 0.070 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ส่วนตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ โดยการใช้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) ตัวอย่างที่ 30 และตัวอย่างที่ 42 ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น และร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงมากที่สุดลดลงเป็น 0 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือตัวอย่างที่ 36 ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริกตัวอย่างที่ 48 ที่ผ่านการปรับสภาพด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเท่ากับ 0.500 และ 0.700 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ส่วนตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ โดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์) ตัวอย่างที่ 54, 60 และ 66 ที่ผ่านการปรับสภาพด้วย น้ำกลั่น ร้อยละ 2 ของ กรดซัลฟิวริก ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงมากที่สุดลดลงเป็น 0 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเท่ากับ 0.600 กรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 8 และตารางที่ 4



ภาพที่ 8 ปริมาณน้ำตาลหลังทำการหมักเอทานอลด้วยยีสต์

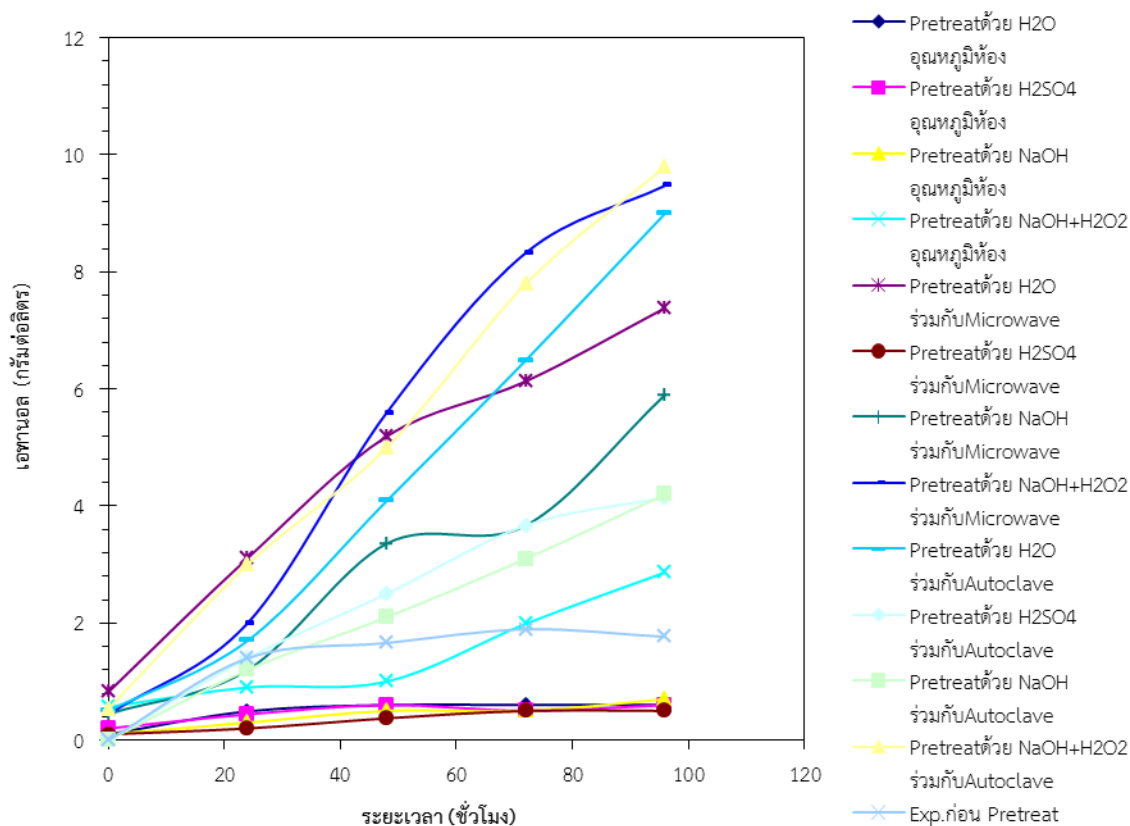
ตารางที่ 5 ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลหลัง การหมักเอทานอล

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ	สารละลาย	เวลา(ชม.)				
			ความเข้มข้นของน้ำตาล(%v/v)				
			0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	96 ชม.
6	วิธีทางเคมีที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ (Control)	0.791	0.200	0.100	0.100	0.010
12		2% H ₂ SO ₄	0.791	0.300	0.100	0.080	0.070
18		2% NaOH	2.692	0.500	0.000	0.100	0.050
24		2% NaOH + H ₂ O ₂	6.549	4.100	0.000	0.000	0.000
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟ ที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	14.800	8.200	0.000	0.000	0.000
36		2% H ₂ SO ₄	2.000	1.500	0.000	0.000	0.500
42		2% NaOH	7.600	5.600	0.000	0.000	0.000
48		2% NaOH + H ₂ O ₂	14.000	8.300	0.000	0.000	0.700
54	การเตรียมด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำ ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์	น้ำ (Control)	14.109	7.900	0.000	0.000	0.000
60		2% H ₂ SO ₄	6.400	4.100	0.000	0.000	0.000
66		2% NaOH	5.600	3.200	2.100	1.500	0.000
72		2% NaOH + H ₂ O ₂	12.800	8.300	0.000	0.000	0.600
ก่อนปรับสภาพ	-	-	1.600	0.900	0.400	0.300	0.100

จากการทดลองการผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ช่วยในกระบวนการหมัก ซึ่งทำการทดลองต่อจากการย่อยด้วยเอนไซม์ ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง พบว่าปริมาณความเข้มข้นเอทานอลจากวิธีทางเคมี ปริมาณเอทานอลสูงสุดได้จากน้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 2.9 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือน้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0.7 กรัมต่อลิตรและน้ำหมักด้วย น้ำกลั่น และร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก และ ซึ่งมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0.6 กรัมต่อลิตร

ส่วนตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ โดยการใช้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) พบว่าปริมาณความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดได้จากน้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 9.5กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ หมักด้วย น้ำ ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก ซึ่งมีปริมาณ เอทานอล เท่ากับ 7.4, 5.9 และ 0.5กรัมต่อลิตรตามลำดับ

ส่วนตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ โดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์) พบว่าปริมาณความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดได้จากน้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 9.8กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ น้ำหมักด้วย น้ำกลั่น ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก ซึ่งมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 9.0, 4.2 และ 4.1กรัมต่อลิตรตามลำดับ และในส่วนของตัวอย่างก่อนทำการปรับสภาพมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 1.8กรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 9 และ ตารางที่ 5



ภาพที่ 9 แสดงปริมาณเอทานอลจากการหมักเซลลูโลสลำต้นปาล์มด้วยเชื้อยีสต์

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของเอทานอล วิเคราะห์โดย Gas Chromatography

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ	สารละลาย	เวลา(ชม.)				
			Concentration Ethanol (g/L)				
			0	24	48	72	96
6	วิธีทางเคมีที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ (Control)	0.1	0.5	0.6	0.6	0.6
12		2% H ₂ SO ₄	0.2	0.4	0.6	0.5	0.6
18		2% NaOH	0.1	0.3	0.5	0.5	0.7
24		2% NaOH+H ₂ O ₂	0.6	0.9	1.0	2.0	2.9
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	0.8	3.1	5.2	6.1	7.4
36		2% H ₂ SO ₄	0.1	0.2	0.4	0.5	0.5
42		2% NaOH	0.4	1.2	3.4	3.7	5.9
48		2% NaOH+H ₂ O ₂	0.4	2.0	5.6	8.3	9.5
54	การเตรียมด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำ ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์	น้ำ (Control)	0.5	1.7	4.1	6.5	9.0
60		2% H ₂ SO ₄	0.0	1.4	2.5	3.7	4.1
66		2% NaOH	0.0	1.2	2.1	3.1	4.2
72		2% NaOH+H ₂ O ₂	0.5	3.0	5.0	7.8	9.8
ก่อนปรับสภาพ	-	-	0.0	1.4	1.7	1.9	1.8

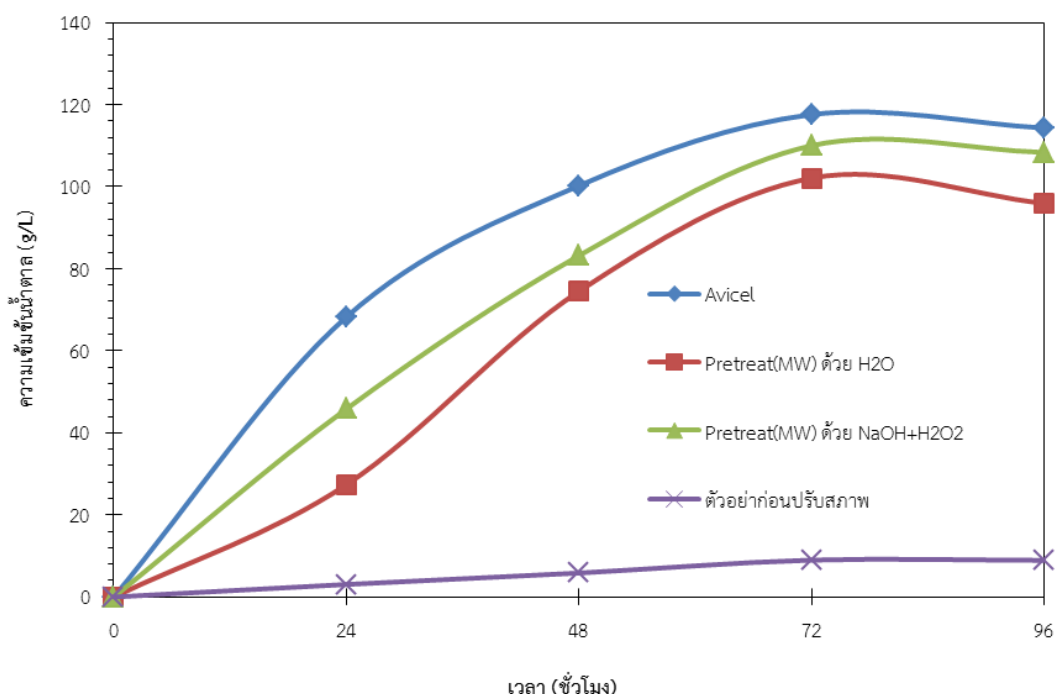
3.3 ผลการขยายการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสตาลำต้นปาล์ม

3.3.1 ผลการศึกษาขยายขนาดในการหมักเอทานอลร่วมกับการ ไฮโดรไลซิสด้วยวิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation(SSF)

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลจากข้างต้น จึงได้ทำการคัดเลือกตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดมา 3 ตัวอย่าง เพื่อทำการศึกษากการการผลิตเอทานอลแบบโดยการเพิ่มขยายขนาด (Scale-up) ในขวดปริมาตร 2 ลิตรปริมาตรรวม 1.5 ลิตร โดยใช้ตัวอย่างที่ 30,48 และตัวอย่างก่อนการปรับสภาพ และใช้ Avicelเป็นชุดควบคุม

1) ผลการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์Cellulaseและ β -Glucosidases

จากการศึกษาการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ ซึ่งทดลองโดยเลือกตัวอย่างที่มีการย่อยดีที่สุด มาย่อยเป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า การย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ Avicel(ชุดควบคุม) มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลสูงสุดเท่ากับ 192.418 กรัมต่อลิตร มีค่า Yield เท่ากับ 1.92g Glucose/g Cellulose และตัวอย่างที่ 48 ที่ผ่านการปรับสภาพด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการเตรียมด้วยวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ โดยการใช้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) จะมีค่าความเข้มข้นของ น้ำตาลมากที่สุดเท่ากับ127.692กรัมต่อลิตร มีค่า Yield เท่ากับ 1.72g Glucose/g Cellulose รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ 30 ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่นจากการเตรียมด้วยวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ โดยการใช้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) มีค่าความเข้มข้นของ น้ำตาล เท่ากับ119.560กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 1.19g Glucose/g Cellulose และตัวอย่างก่อนปรับสภาพ มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาล เท่ากับ109.011กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 1.09 g Glucose/g Cellulose ตามลำดับดังภาพที่ 10 และตารางที่ 6



ภาพที่ 10 แสดงค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Cellulaseและ β -Glucosidases จากการศึกษาขยายขนาด

2) อัตราการเกิดผลผลิตน้ำตาลทั้งหมดจากการย่อยด้วยเอนไซม์

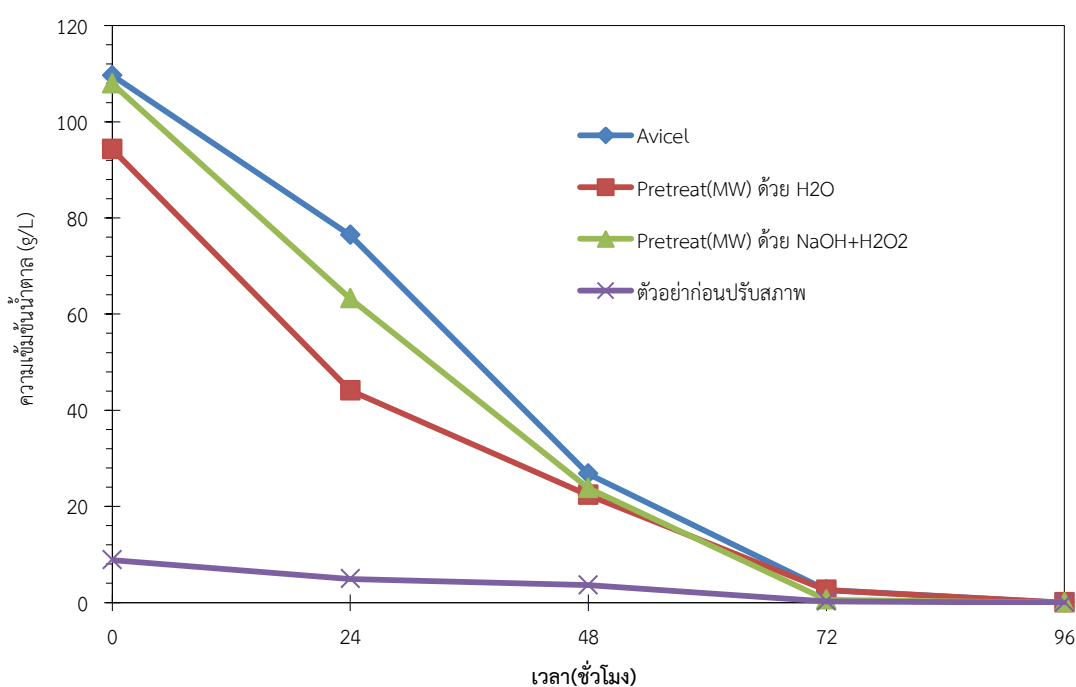
อัตราการเกิดผลผลิตน้ำตาลจากการศึกษาการขยายขนาดการผลิตเอทานอล ซึ่งอัตราการเกิดผลผลิตน้ำตาลจากน้ำหมักของAvicel(ชุดควบคุม) เท่ากับ 1 g/L/hr อัตราการเกิดผลผลิตน้ำตาลจากน้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 1.3 g/L/hr อัตราการเกิดผลผลิตน้ำตาลจากน้ำหมักด้วย น้ำกลั่น เท่ากับ 1.5 g/L/hr และอัตราการเกิดผลผลิตน้ำตาลจากน้ำหมักของตัวอย่างก่อนปรับสภาพ เท่ากับ 0.1 g/L/hr

ตารางที่ 7 ตัวอย่างการขยายขนาดการผลิตโดยการย่อยลำต้นปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ Cellulaseและ β -Glucosidases โดยบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาทีและปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาล

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ	สารละลาย	เวลา(ชม.)				
			ความเข้มข้นของน้ำตาล (g/L)				
			0	24	48	72	96
	Avicel		0.000	68.242	100.220	117.582	114.286
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟ ที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	0.000	27.363	74.505	102.088	95.934
48	การเตรียมด้วยไมโครเวฟ ที่ 700 วัตต์	2%NaOH+H ₂ O ₂	0.000	45.824	83.187	110.000	108.352
ก่อนปรับสภาพ	-	-	0.000	3.066	5.857	8.989	8.934

3) ผลการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลโดยใช้ยีสต์ด้วยวิธีการหมักแบบวิธีการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) ทำการทดลองโดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมงพบว่า ที่ชั่วโมงที่ 96 ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลจะลดลงจากชั่วโมงเริ่มต้น แต่สำหรับเอทานอลความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามระยะเวลาของการหมัก ในการหมัก 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลลดลง โดยน้ำหมักของ Avicel (ชุดควบคุม) เท่ากับ 11.780 กรัมต่อลิตรน้ำหมัก ด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกัน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 8.423 กรัมต่อลิตร น้ำหมักด้วย น้ำกลั่น เท่ากับ 10.165 กรัมต่อลิตร น้ำหมักของตัวอย่างก่อนปรับสภาพ เท่ากับ 10.275 กรัมต่อลิตร แสดงดังภาพที่ 11 และ ตารางที่ 7

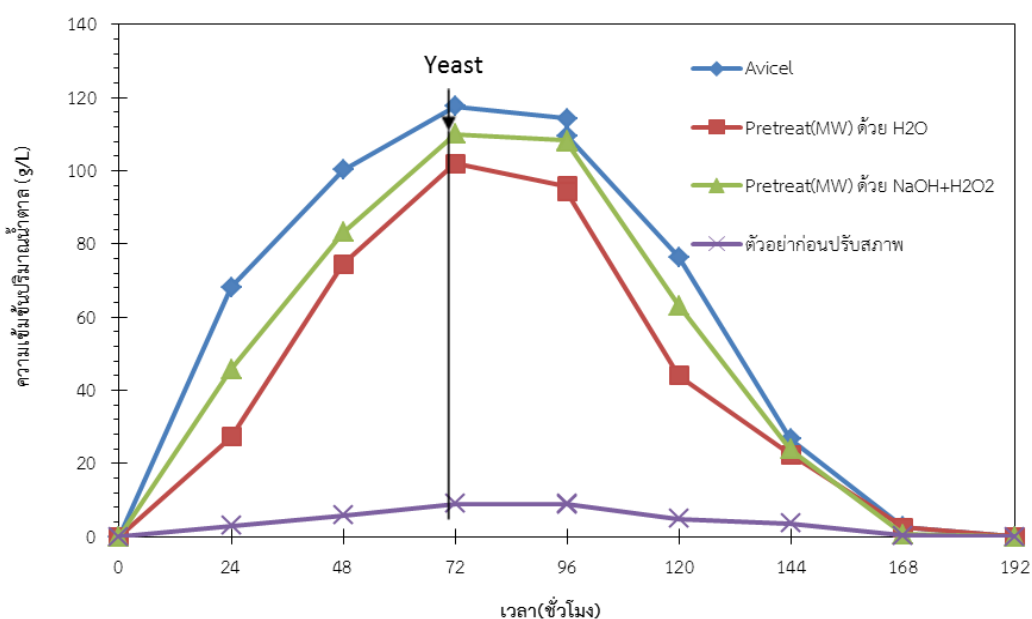


ภาพที่ 11 ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลก่อนเติมเชื้อยีสต์ในการขยายขนาดการหมักเอทานอล

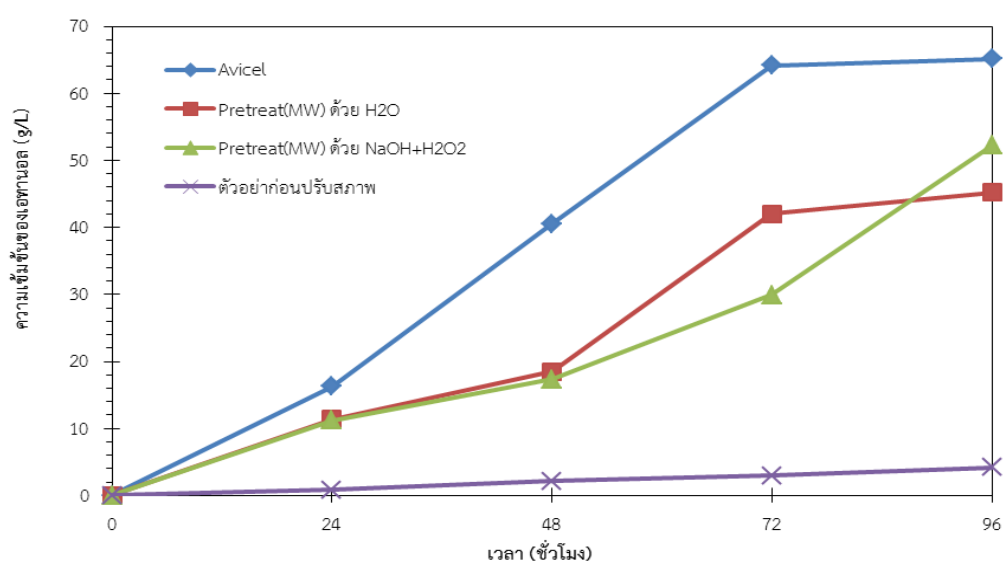
ตารางที่ 8 ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลหลังทำการหมักเอทานอล ของการขยายขนาดระดับ 1.5 ลิตร

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ	สารละลาย	เวลา(ชม.)				
			ความเข้มข้นของน้ำตาล (g/L)				
			0	24	48	72	96
	Avicel		109.608	76.430	26.742	2.637	0
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟ ที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	94.259	44.096	22.364	2.584	0
48	การเตรียมด้วยไมโครเวฟ ที่ 700 วัตต์	2% NaOH+H ₂ O ₂	107.903	63.221	23.802	0.584	0
ก่อนปรับสภาพ	-	-	8.837	4.928	3.600	0.248	0

สำหรับในส่วนของเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้น โดยจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อมีการเติมยีสต์ลงไป ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลลดลง เนื่องจากถูกใช้ในการเจริญของยีสต์และผลิตเอทานอล จึงทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นดังภาพที่ 12 ซึ่งปริมาณเอทานอลจากน้ำหมักของ Avicel (ชุดควบคุม) เท่ากับ 65.110 กรัมต่อลิตร มีค่า Yield เท่ากับ 0.65g Ethanol/g Cellulose น้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 52.272 กรัมต่อลิตร มีค่า Yield เท่ากับ 0.52g Ethanol/g Cellulose น้ำหมักด้วย น้ำกลั่น เท่ากับ 45.200 กรัมต่อลิตร มีค่า Yield เท่ากับ 0.45g Ethanol/g Cellulose และน้ำหมักของตัวอย่างก่อนปรับสภาพ เท่ากับ 4.199 กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 0.04g Ethanol/g Cellulose ดังภาพที่ 13 และตารางที่ 8



ภาพที่ 12 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของน้ำตาลก่อนและหลังการเติมเชื้อยีสต์



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอล (g/L) กับระยะเวลา

4) อัตราการเกิดผลผลิตเอทานอล

อัตราการเกิดผลผลิตของเอทานอลจากการศึกษาการขยายขนาดการผลิตเอทานอลซึ่งอัตราการเกิดผลผลิตของเอทานอลจากน้ำหมักของAvicel(ชุดควบคุม) เท่ากับ 1 g/L/hr อัตราการเกิดผลผลิตของเอทานอลจากน้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 0.95 g/L/hr อัตราการเกิดผลผลิตของเอทานอลจากน้ำหมักด้วย น้ำกลั่น เท่ากับ 1 g/L/hr และอัตราการเกิดผลผลิตของเอทานอลจากน้ำหมักของตัวอย่างก่อนปรับสภาพ เท่ากับ 0.5 g/L/hr

ตารางที่ 9 ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลจากการขยายขนาดการผลิต ระดับ 1.5 ลิตร โดยเทคนิค Gas Chromatography

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ	สารละลาย	เวลา(ชม.)				
			Concentration Ethanol (g/L)				
			0	24	48	72	96
	Avicel		0.000	16.260	40.550	64.130	65.110
30	การเตรียมด้วยไมโครเวฟ ที่ 700 วัตต์	น้ำ (Control)	0.000	11.410	18.510	42.060	45.200
48	การเตรียมด้วยไมโครเวฟ ที่ 700 วัตต์	2% NaOH+H ₂ O ₂	0.000	11.256	17.364	29.892	52.272
ก่อนปรับสภาพ	-	-	0.000	0.860	2.134	2.950	4.199

3.4 การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส ไฮโดรไลสเสด ลำต้นปาล์มการประเมินมูลค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์ของงานวิจัย

จากศึกษาการผลิตเอทานอลในระดับขยายขนาดเป็น 1.5 ลิตรในการหมักโดยใช้สภาวะจากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสเสดลำต้นปาล์มด้วยยีสต์ในระบบการหมักแบบก เมื่อนำคิดค่าต้นทุนการผลิตมาเปรียบเทียบกับผลผลิตเอทานอลพบว่า ในระบบขยายขนาดเอทานอลจากน้ำหมักด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ผลตอบแทนสุทธิมากที่สุดคือ 15,922.26บาท รองลงมาคือ น้ำหมักด้วย น้ำกลั่นให้ผลตอบแทนสุทธิเท่ากับ 3141.70บาทและน้ำหมักของตัวอย่างก่อนปรับสภาพ ให้ผลตอบแทนสุทธิเท่ากับ -466.20บาท ซึ่งในส่วนนี้ของตัวอย่างก่อนปรับสภาพมีค่าติดลบแสดงว่าให้ผลผลิตไม่คุ้มค่ากับการลงทุน ดังตารางที่9

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ผลตอบแทนทางด้านเศรษฐศาสตร์ ของการผลิตเอทานอลจากลำต้นปาล์มน้ำมันโคลนทิ้งเพื่อการปลูกใหม่

รายการ	Pretreated ด้วย H ₂ O ร่วมกับ Microwave	Pretreated ด้วย 2%NaOH+H ₂ O ₂ ร่วมกับ Microwave	ตัวอย่างก่อน ปรับสภาพ	กากน้ำตาล	มันสำปะหลัง
ผลได้น้ำตาล (กรัมน้ำตาลต่อกรัมของแข็ง)	0.70	0.85	0.10	-	-
ของแข็งเหลือจากการPretreatment (%)	84.00	86.00	100.00	-	-
ผลได้เอทานอล (กรัมต่อกิโลกรัม)	502.00	577.00	44.00	-	-
ผลได้เอทานอล (กรัมต่อกรัม)	0.21	0.24	0.02	0.21	0.31
เอทานอลที่จะผลิตได้ (ลิตรต่อตัน)	212.08	731.31	55.77	550	370
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมด (บาท/ตัน)	2160.37	2360.37	1860.37	4000	3800
ผลตอบแทน (บาท/ตัน)	5302.07	18282.64	1394.17	13750	9250.00
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการจัดการวัตถุดิบ (บาท)	1000.00	1000.00	1000.00	-	-
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการผลิต (บาท)	560.37	560.37	560.37	-	-
รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการเตรียม (บาท)	600.00	800.00	300.00	-	-
ผลตอบแทนสุทธิ(บาท)	3141.70	15,922.26	-466.20	9750	5450.00

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

4.1 การเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์ม

จากการเตรียมด้วยวิธีทางเคมีจากการปรับสภาพด้วยกรดโดยกรดจะไปทำลาย Polysaccharides โดยเฉพาะ เฮมิเซลลูโลสที่ง่ายต่อการย่อยสลายเซลลูโลส แต่ก็ยังมีการผลิตของสารยับยั้งต่างๆ เช่น กรดอะซิติก ฟูฟอรัล และ 5 ไฮโดรเมทิลฟูฟอรัล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการหมัก และในการปรับสภาพด้วยด่าง วิธีนี้สามารถไฮโดรไลซ์ เฮมิเซลลูโลสและลดระดับลิกนิน ได้เซลลูโลสที่เอนไซม์สามารถไฮโดรไลซ์ได้ง่าย กลไกของการไฮโดรไลซ์ด้วยด่าง คือ การเกิดแซพอนิฟิเคชัน (Saponification) ของพันธะเอสเทอร์ระหว่างโมเลกุลของไขมัน และเฮมิเซลลูโลส ทำให้ช่องว่างของลิกโนเซลลูโลสเพิ่มขึ้น การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง (NaOH) เพื่อไฮโดรไลซ์ลิกโนเซลลูโลสทำให้เกิดการบวมน้ำเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวภายใน ลดระดับการเกิดพอลิเมอร์ ลดความสามารถของการสร้างผลึกมีการแยกโครงสร้างที่เชื่อมกันระหว่างลิกนินกับคาร์โบไฮเดรต และทำลายโครงสร้างลิกนิน กระบวนการปรับสภาพด้วยด่างจะใช้อุณหภูมิและความดันต่ำกว่าเทคโนโลยีอื่น ๆ (Sarkar, et al. 2012 : 22)

การทดลองเพื่อปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมี พบว่า ลำต้นปาล์มน้ำมันนำมาปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น ร้อยละ 2 ของกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในอัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลาย (w/v) 15% ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง อัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ 15% เวลา 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการปรับสภาพลำต้นปาล์มได้เหมาะสมที่สุดการเตรียมเซลลูโลสจากต้นปาล์มด้วยวิธีทางเคมีที่ดีที่สุดคือ การเตรียมด้วยร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ได้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 58 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 19 และปริมาณลิกนินร้อยละ 22 สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งได้มีการศึกษาการผลิตเอทานอลโดยใช้กรด/ด่างในการปรับสภาพทะลายปาล์มน้ำมัน (EPFB Fibre) พบว่า เมื่อปรับสภาพโดยใช้ 4% H₂SO₄/2N NaOH ของทะลายปาล์มน้ำมัน (EPFB Fibre) มีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน(%) เท่ากับ 85.2, 1.8 และ 9.2 ตามลำดับ (Kim and Kim 2012 : 1)

ในส่วนของการปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ ด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่อุณหภูมิ 700 วัตต์) อัตราส่วนของลำต้นปาล์มต่อสารละลายที่ 15% เวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพในการปรับสภาพ ลำต้นปาล์มได้เหมาะสมที่สุด โดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ (700 W) ร่วมกับร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 65.68 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 16.23 และปริมาณลิกนินร้อยละ 18.09 สอดคล้องการศึกษาที่ผ่านมาที่ได้ทำการศึกษการผลิตเอทานอลโดยใช้ 1% NaOH ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ ที่อุณหภูมิ 700 วัตต์ เป็นเวลา 25 นาที ในการปรับสภาพฟางข้าวสาลี พบว่า เมื่อปรับสภาพโดยใช้ 1% NaOH ของฟางข้าวสาลี มีปริมาณเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส (%) เท่ากับ 79.6±0.6 และ 7.8±0.5 ตามลำดับ (Zhu, et al. 2006:870) เนื่องการเตรียมโดยให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ เป็นวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยในการสกัด ร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย หลักการของวิธี MAE อาศัยการส่งผ่านคลื่นไมโครเวฟไปยังเซลล์พืช โดยทำให้โมเลกุลของน้ำหรือความชื้นที่มีอยู่ในเซลล์พืชสั่นสะเทือน เกิดแรงดันขึ้นภายในเซลล์ทำให้เซลล์แตก เป็นการทำลายโครงสร้างของเซลล์ในส่วนของการปรับสภาพลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยวิธีทางเคมีกายภาพร่วมกับการให้ความร้อนโดยการใช้หม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูง (ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 1 บาร์) อัตราส่วนของ ลำต้นปาล์มต่อสารละลาย

ที่ 15% เวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพในการปรับสภาพ ลำต้นปาล์มได้เหมาะสม โดยการเตรียมด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 53.19 ปริมาณ เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 17.15 และปริมาณลิกนินร้อยละ 29.66 สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาได้มีศึกษาการย่อยของเอนไซม์ในทะลายปาล์มน้ำมัน (EFB Fibre) ที่ผ่านการปรับสภาพสำหรับการ ย่อยร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสและเบต้า-กลูโคซิเดส พบว่า โดยการปรับสภาพด้วย 2.5 mol L⁻¹ NaOH ร่วมกับการระเบิดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที มีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน(%) 66.77, 24.5 และ 7.25 ตามลำดับและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (98.4 FPU ml⁻¹) และเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (11.8 IU ml⁻¹) อัตราส่วน 5: 1 ที่พีเอช 4.8 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ผลผลิตกลูโคสสูงสุด 2.7 g L⁻¹ ต่อ 8% (wv⁻¹) ของ EFB Fibre ที่เวลา 24 ชั่วโมง (Hamzah, Idris and Shuan 2011 : 1055) ซึ่งการเตรียมโดยให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ แรงดันสูง เป็นวิธีการปรับสภาพที่ทำให้มวลชีวภาพ เพื่อการเข้าถึงเอนไซม์เซลลูเลส โดยไม่ต้องใช้ ตัวเร่งปฏิกิริยาใด ๆ และโดยมวลชีวภาพจะให้ผลผลิตเป็น Levulinic Acid, Xylitol และ Alcohol วิธีการนี้มวลชีวภาพจะให้ความร้อนโดยใช้ความดันของไอน้ำ ใช้เวลาน้อย โดยปฏิกิริยาจะหยุดเร็วโดยการปิดอัดของความดันสูง เมื่อได้รับไอน้ำเกิดการขยายตัวภายในของมวลชีวภาพแยกเป็นเส้นสาย การให้ปริมาณไฮโดรเจนสูง (Sarkar, et al. 2012 : 21)

4.2 การย่อยเซลลูโลสจากลำต้นปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์ และการผลิตเอทานอล

4.2.1 ผลการปรับสภาพตัวอย่างลำต้นปาล์ม

จากการคัดเลือกตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพทั้ง 12 ตัวอย่าง เพื่อนำไป วิเคราะห์หองค์ประกอบเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และทำการหมักเอทานอลร่วมกับการ ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างก่อนปรับสภาพ ตัวอย่างที่ 5 ที่แช่ในน้ำกลั่น และ ตัวอย่างที่ 8 ที่แช่ในสารละลายร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีกายภาพโดยการใช้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) เป็น เวลา 30 นาที มีปริมาณองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่เหมาะสมคือ ตัวอย่าง ก่อนปรับสภาพ มีปริมาณองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน(%) เท่ากับ 41.18 36.58 และ 22 ตามลำดับ ตัวอย่างที่ 5 มีปริมาณองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน(%) เท่ากับ 38.81 25 และ 32 ตามลำดับ ตัวอย่างที่ 8 มีปริมาณองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน(%) เท่ากับ 61.91 19.43 และ 18.01 ตามลำดับ ผลของการเตรียมด้วยการ ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ให้ปริมาณเซลลูโลสในปริมาณสูง เนื่องจากกำจัดลิกนินได้มาก เนื่องจากเบสบางตัวสามารถใช้ในเตรียมวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งปัจจัยของการเตรียมขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนิน การเตรียมลิกโนเซลลูโลสด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เจือจางจะทำให้เกิดการพองตัว ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิว สลายการเป็นพอลิเมอร์ ลดความเป็นผลึก และทำลายโครงสร้างของลิกนิน และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถที่จะลดปริมาณลิกนินได้ (Millet et al., 1976 citing Sun and Cheng, 2002:5)

4.2.2 ผลการศึกษาการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ร่วมกับการหมักด้วยยีสต์

จากการศึกษาการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ โดยใช้ตัวอย่างในการย่อย 6% ซึ่งใช้เอนไซม์ 2 ชนิด คือ Cellulase และ β -Glucosidases ช่วยในการย่อยสลายเซลลูโลส ที่พีเอช 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่าง มาย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า การย่อยเซลลูโลส

ตัวเอนไซม์ ของตัวอย่างก่อนปรับสภาพ ตัวอย่างที่ 5 ที่แช่ในน้ำกลั่น และ ตัวอย่างที่ 8 ที่แช่ในสารละลายร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ โดยการใช้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่อุณหภูมิ 700 วัตต์) เป็นเวลา 30 นาที มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ที่เวลา 72 ชั่วโมง คือตัวอย่างก่อนปรับสภาพมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงอยู่ที่ 1.60 กรัมต่อลิตร ตัวอย่างที่ 5 ที่แช่ในน้ำกลั่นร่วมกับการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่อุณหภูมิ 700 วัตต์) เป็นเวลา 30 นาที มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงอยู่ที่ 14.800 กรัมต่อลิตร และตัวอย่างที่ 8 ที่แช่ในสารละลายร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่อุณหภูมิ 700 วัตต์) เป็นเวลา 30 นาที มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงอยู่ที่ 14.00 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการแช่ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ปริมาณน้ำตาลสูงกว่าการแช่ น้ำกลั่น และตัวอย่างก่อนการปรับสภาพ เนื่องจาก โซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดปฏิกิริยาที่รุนแรง สามารถย่อยเซลลูโลสได้ดี จึงส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลที่สูง ซึ่งปัจจัยที่ผลต่อการย่อยสลายเซลลูโลส คือ ความพรุน (porosity) ของชิ้นส่วนวัตถุดิบและปริมาณของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสที่มีผลทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์เซลลูเลสลดลงส่งผลให้ได้ปริมาณซัคเคอเรต่ำ ดังนั้นการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส การลดขนาดผลึกของเซลลูโลส และการเพิ่มช่องว่าง (ความพรุน) ระหว่างโมเลกุลของวัตถุดิบในกระบวนการเตรียมตัวอย่าง ทำให้เซลลูโลสตอบสนองต่อการย่อยของเอนไซม์ได้ดีขึ้น (Sarkar, et al. 2012 : 23)

ผลจากการผลิตเอทานอลโดยการใช้ยีสต์ด้วยวิธีการหมักแบบวิธีการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) ทำการทดลองโดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง พบว่า ที่ชั่วโมงที่ 96 ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลจะลดลงจากชั่วโมงเริ่มต้น แต่สำหรับเอทานอลความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามระยะเวลาของการหมัก ผลการทดลองพบว่า เมื่อมีการเติมยีสต์ลงไป ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลลดลง เนื่องจากถูกใช้ในการเจริญของยีสต์ และผลิตเอทานอลจึงทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น คือ ตัวอย่างที่ 8 ที่แช่ในสารละลายร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่อุณหภูมิ 700 วัตต์) เป็นเวลา 30 นาที มีความเข้มข้นของเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 9.5 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือตัวอย่างที่ 5 ที่แช่ในน้ำกลั่นร่วมกับการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่อุณหภูมิ 700 วัตต์) เป็นเวลา 30 นาที มีความเข้มข้นของ เอทานอล เท่ากับ 7.4 กรัมต่อลิตร และตัวอย่างก่อนปรับสภาพมีความเข้มข้นของเอทานอล เท่ากับ 1.8 กรัมต่อลิตร

4.3 การขยายการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลสแลดต้นปาล์ม

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลจากข้างต้น จึงได้ทำการคัดเลือกตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์ และผลิตเอทานอลได้ดีที่สุดมา 3 ตัวอย่างข้างต้น เพื่อทำการศึกษาการผลิต เอทานอล โดยการเพิ่มขยายขนาดการผลิต (Scale-up) ในขวดวัดปริมาตรขนาด 2 ลิตร ปริมาตรการทดลองจริง 1.5 ลิตร โดยใช้ตัวอย่างที่ 30 48 ตัวอย่างก่อนการปรับสภาพ และใช้ Avicle เป็นชุดควบคุม

จากการศึกษาการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ ซึ่งใช้เอนไซม์ 2 ชนิด คือ Cellulase และ β -Glucosidases ช่วยในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยเลือกตัวอย่างที่การย่อยดีที่สุด มาย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า Avicle (ชุดควบคุม) มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลสูงที่สุดเท่ากับ 192.418

กรัมต่อลิตร การย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ของตัวอย่างที่ 8 ผ่านการแช่ด้วย ร้อยละ 2 ของ โซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) เป็นเวลา 30 นาที มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลมากที่สุด เท่ากับ 127.692 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เซลลูโลสตัวอย่างที่ 5 ที่ผ่านการแช่ด้วยน้ำกลั่นร่วมกับการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ (ที่ 700 วัตต์) เป็นเวลา 30 นาที เท่ากับ 119.560 กรัมต่อลิตร และ เซลลูโลสจากตัวอย่างก่อนการปรับสภาพ เท่ากับ 109.011 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยวิธี (SSF) โดยใช้ยีสต์ช่วยในกระบวนการหมัก ซึ่งทำการทดลองต่อจากการย่อยด้วยเอนไซม์ ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลลดลง โดยน้ำหมัก ของ Avicel (ชุดควบคุม) เท่ากับ 11.78 กรัมต่อลิตร น้ำหมักตัวอย่างที่ 8 ด้วย ร้อยละ 2 ของ โซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 8.42 กรัมต่อลิตร น้ำหมักตัวอย่างที่ 5 ด้วย น้ำกลั่นเท่ากับ 10.16 กรัมต่อลิตร และ น้ำหมัก ของ ตัวอย่างก่อนปรับสภาพ เท่ากับ 10.27 กรัมต่อลิตร

สำหรับเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นเอทานอลของ Avicel (ชุดควบคุม) เท่ากับ 94 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นเอทานอลของสูงสุดได้จากน้ำหมักตัวอย่างที่ 8 ด้วยร้อยละ 2 ของ โซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 63 กรัมต่อลิตรรองลงมาคือ น้ำหมัก ตัวอย่างที่ 5 ด้วยน้ำกลั่นเท่ากับ 56 กรัมต่อลิตร และ น้ำหมักของตัวอย่างก่อนการปรับสภาพ เท่ากับ 53 กรัมต่อลิตร ซึ่งความเข้มข้นของน้ำตาลจะแปรผกผันกับปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักด้วยวิธี (SSF) เพราะยีสต์ใช้น้ำตาลในการเจริญและผลิตเอทานอล

4.4 การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลเสด ลำต้นปาล์มน้ำมัน

จากศึกษาการผลิตเอทานอลในระดับขยายขนาดเป็น 1.5 ลิตรในการหมักโดยใช้สภาวะจากการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลเสดลำต้นปาล์มด้วยยีสต์ในระบบการหมักแบบก เมื่อนำคิดค่าต้นทุนการผลิตมาเปรียบเทียบกับผลผลิตเอทานอลพบว่า ในระบบขนาด เอทานอลจากน้ำหมัก ด้วย ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ให้ผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 52.272 กรัมต่อลิตร และเมื่อคิดความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ให้ผลตอบแทนสุทธิมากที่สุดคือ 15,922.26 บาท รองลงมาคือ น้ำหมักด้วย น้ำกลั่นให้ผลผลิตเอทานอล เท่ากับ 45.200 กรัมต่อลิตร และให้ผลตอบแทนสุทธิเท่ากับ 3,141.70 บาท และน้ำหมักของตัวอย่างก่อนปรับสภาพ ให้ผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 4.199 กรัมต่อลิตร และให้ผลตอบแทนสุทธิเท่ากับ -466.20 บาทซึ่งในส่วนนี้ของ ตัวอย่างก่อนปรับสภาพมีค่าติดลบแสดงว่าให้ผลผลิตไม่คุ้มค่ากับการลงทุน และเมื่อเปรียบเทียบความคุ้มค่าในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบอื่น เช่น กากน้ำ และมันสำปะหลัง โดยคิด เอทานอลที่จะผลิตได้ หน่วย ลิตรต่อตัน และคิดค่าผลตอบแทนเป็น บาท/ตัน การผลิต พบว่า การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสไฮโดรไลเสดลำต้นปาล์มให้ผลตอบแทนสุทธิในทางเศรษฐศาสตร์มากกว่า กากน้ำ และ มันสำปะหลัง โดยกากน้ำตาลให้ผลตอบแทนสุทธิอยู่ที่ 9,750 บาท และมันสำปะหลังให้ผลตอบแทนสุทธิอยู่ที่ 5,450.00 บาท การผลิตเอทานอลจากการเตรียมลำต้นปาล์มโดยการแช่น้ำ และ ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ (700 W) เป็นเวลา 30 นาที มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ และค่าใช้จ่ายในการกำจัดต้นปาล์มแก่โคนทิ้งเพื่อการปลูกใหม่

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาแนวทางการเพิ่มปริมาณน้ำตาล และความเข้มข้นของเอทานอล ในการผลิตเอทานอลจากลำต้นปาล์มให้มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์
2. ควรทดลองหาวิธีการปรับสภาพด้วยวิธีอื่นๆ และใช้สารเคมีหลายช่วงความเข้มข้น เพื่อหาประสิทธิภาพในการปรับสภาพ และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2012). คู่มือการพัฒนาและการลงทุนผลิต พลังงานทดแทน ชุดที่ 7 เชื้อเพลิงเอทานอล. กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. สืบค้นเมื่อวันที่ 17 มกราคม 2555. จาก <http://issuu.com/energy2tomorrow/docs/name23dd64/47>
- เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, สิทธิโชค วัลลภาทิตย์, บุญเรียง ลำชัยภูมิ และกล้าณรงค์ ศรีรอด (2548). โอกาสมันสำปะหลังกับอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ: หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลัง และแป้ง ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ฉัตรชัย ไกรสรพงษ์ และศุภกานต์ วงศ์พานิช.(2548). การผลิตเอทานอลจากของเสียการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ: กรมการพลังงานทหาร กับบริษัท ลีอกซ์เลย์จำกัด (มหาชน)
- ฐปนวัชร หมั่นแจ้ง.(2551). การผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ทนร้อน *Issatchenkia* sp. S1. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ฐิตีมา วงศ์ชมพู.(2542). การเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อยโดยการหมักแบบกะ และกึ่งต่อเนื่อง โดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048. ขอนแก่น: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- พรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์ (2545). การผลิตเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลัง. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ: สืบค้นเมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2555. จาก <http://www.thaithesis.org/detail.php?id=1082545001061>
- มัลลิกา บุญมี ปวีณา พักพิง และประภัสสร พลโยธราช (2548). การผลิตเอทานอลโดยการหมักร่วมของจุลินทรีย์ที่ใช้กลูโคส และจุลินทรีย์ที่ใช้ไซโลส. ขอนแก่น: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ยุทธศักดิ์ สุภการี.(2550). สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มโดยวิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ลักขณา เหล่าไพบูลย์, กุลเชษฐ เพียรทอง, วรุณี ศรีดี, ประสิทธิ์ ใจศีล, มัลลิกา บุญมี และ พัฒนา เหล่าไพบูลย์.(2011). “การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานในระดับขยายขนาด,” *KKU Res J.* 16(8), 919-930
- วนิดา ปานอุทัย, นิคม แหลมสัก, สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล, วิรัตน์ วาณิชศรีรัตน และ ประมุข กระจุกสุขสถิตย์ (2553). “การผลิตเอทานอลจากไม้ยูคาลิปตัสโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน,” ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. (หน้า 392-400). วันที่ 3 กุมภาพันธ์ - 5 กุมภาพันธ์ 2553 ณ อาคารสารนิเทศ 50 ปี และอาคารศูนย์เรียนรวม 3 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: บริษัท ปรีชาธร อินเตอร์พรีน จำกัด.
- สกานต์ เหลืองเกรียงไกรและเชาว์ อินทร์ประสิทธิ์.(2554) การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในน้ำหมักด้วยเทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้สารละลายมาตรฐานภายใน. นครปฐม: ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- สมถวิล พรอินทร (2551).ความสามารถในการผลิตเอทานอลของ *Candida shehatae* จากกลูโคส และไซโลส.ขอนแก่น: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สมพงศ์ โอทอง และอลิศรา เรืองแสง(2552).การพัฒนากระบวนการผลิตพลังงานชีวภาพจากลำต้น ปาล์มอย่างมีประสิทธิภาพ.พัทลุง: รายงานการวิจัยภาควิชาชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553). ตัวชี้วัดทางเศรษฐกิจการเกษตรของประเทศไทย.เอกสารสถิติ การเกษตรเลขที่ 412. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.สืบค้น เมื่อวันที่ 11 ธันวาคม 2554.จาก <http://www.oae.go.th/pdf/indicator.pdf>
- สุชาดา สังวษ์พนา (2556).การใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้ของกระบวนการผลิตเอทานอล. กรุงเทพฯ: สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ.
- อริสรา รอดมัย, จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และ ยุวพิน ด่านดุสิตาพันธ์ (มปป). การศึกษาสภาวะการกวน ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลโดยเชื้อผสม.กรุงเทพฯ: คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า ธนบุรี.
- อรุณวรรณ นุชพ่วง(2547).การย่อยสลายหญ้าแฝกหอม *Vetiveria zizanioides* nash โดยใช้เชื้อราที่ ย่อยสลายเซลลูโลสได้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.
- 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.
- Avci, A and Donmez, S. (2006). "Effect of zinc on the anaerobic biodegradability of macropollutants," *Rev Environ Sci Biochem*. 41, 984-989
- Ballesteros, M., Oliva, J.M., Negro, M.J., Manzanares, P. and Ballesteros, I.(2004). "Ethanol form lignocelluloses materials by a Simultaneous saccharification and fermentation process (SSF) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875," *Proc.Biochem*.39,1843-1848
- Buchner, E. (1897). "Alkoholische gahrung ohne hefezellen (alcoholic fermentation without yeast)," *Berichteder Deutschen Chemischen Gesellschaft* 30, 117-124.
- Cazetta, M.L., Celligoi, M.A., Buzato, J.B. and Scarmino, I.S. (2007). "Fermentation of molasses by *Zymomonas mobilis*: effect of temperature and sugar concentration on ethanol production," *Biores. Technol*. 98, 2824-2828
- Chen, M., Xia, L.and Xue, P.(2007). "Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate," *International Biodeterioration & Biodegradation*.59, 85-89
- Chew, T. and Bhatia, S. (2008). "Catalytic processes towards the production of biofuels in a palm oil and oil palm biomass-based biorefinery," *Bioresource Technology* 99:7911-7922

- Dence, C.W. and Lin, S.Y. (1992). "The determination of lignin," In: Lin, S.Y., Dence, C.W. (Eds.), Methods in Lignin Chemistry. (33-61). Berlin: Springer-Verlag.
- Hamzah, F., Idris, A. and Shuan, T.K. (2011). "Preliminary study on enzymatic hydrolysis of treated oil palm (Elaeis) empty fruit bunches fibre (EFB) by using combination of cellulase and b 1-4 glucosidase," Biomass and Bioenergy. (35), 1055-1059.
- Harden, A. and Henley, F.R. (1992). "The equation of alcoholic fermentation II," Biochem J. 23(2), 230-236.
- Hipolito, C.N., Crabbe, E., Badillo, C.M., Zarrabal, O.C., Morales Mora, M.A. and Flores. G.P. (2008). "Bioconversion of industrial wastewater from plam oil processing to butanol by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564)," J Cleaner Production. 16(5), 632-638.
http://www.regional.org.au/au/asa/2004/poster/2/3/376_keekk.htm
- Hyum, B. S., Hyum, J. K., Oh, K. L., Ji, H. H., Hyeon, Y. L. and Kyung, H.J. (2009). "Measurement of ethanol concentration using solvent extraction and dichromate oxidation to bioethanol production process," Microbiol Biotechnol. 36,285-292.
- Kadar, Z., De Vrijek, T., van Noorden, G.E., Budde, M.A.W., Szengyel, Z. and Reczey, K. (2004). "Yields from glucose, xylose, and paper hydrolysate during hydrogen production by extremophile *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. Appl Biochem Biotechnol," 113(16), 497-508
- Kassim, M.A., Kheang, L.S., Bakar, N.A., Aziz, A.A. and Som, R.S. (2011). "Bioethanol Production from Enzymatically Saccharified Empty Fruit Bunches Hydrolysate using *Saccharomyces cerevisiae*" Research Journal of Environmental Sciences 5 (6), 573-586.
- Kee, K.K. (2004). Nutrient reserves and recycling from oil plam trunk at replanting. In: Proceedings of the Fourth International Crop Science Congress on New Direction For a Diverse Plant, Brisbane, Retrieved May 25,2011,from
- Knutson, B.L., Strobel, H.J., Nokes, S.E., Dawson, K., Berberich, J.A. and Jones, C.R. (1999). "Effect of pressurized solvents on ethanol production by the thermophilic bacterium *Clostridium thermocellum*," J Supercrit Fluids. 16,149-156
- Koba, Y. and Ishizaki, A. (1990). "Chemical composition of palm fiber and ist feasibility as cellulosic raw material for sugar production," Agric Biol Chem. 54(5) , 1183-1187
- Kosugi, A., Tanaka, R., Magara, K., Murata, Y., Arai, T., Sulaiman, O., Hashim, R., Hamid, Z.A.A., Yahya, M.K.A., Yusof, M.N.M., Ibrahim, W.A., and Mori, Y. (2010).

- “Ethanol and lactic acid production using sap squeezed from old oil palm trunks felled for replanting,” Bioscience and Bioengineering.110, 322–325
- Laitf, F. and Rajoka, M.I. (2001). “ Production of ethanol and xylitol from corn cobs by yeasts,” Bioresource Technology 77, 57-63
- Miller, G.L. (1959). “Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar,” Analytical Chemistry. 31(3), 426-428.
- Mosier, N., Hendrickson, R., Ho, N., Sedlak, M. and Ladisch, M.L.(2005). “Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover,” Biores Technol. 96, 1986-1993
- Murphy, J.D. and McCarthy, K. (2005). “Ethanol production from energy crops and wastes fir use as a transport fuel in Ireland,” Appl.Energ. 82,148-166.
- Nigam, J.N. (1999). “Continuous ethanol production from pineapple cannery waste,” J Biotechnol. 72(3), 197-202.
- Pattra, S., Sangyoka, S., Boonmee, M. and Reungsang, A. (2008). “Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum*,” Int J Hydrogen Energy.33(19),5256-5265.
- Pumiput, P., Chuntranuluck, S., Kitpreechavanich, V., Punsuvon, V. and Vaithanomsat, P. (2008). “Production Process of Hydrolysate from Steam Explosion of Oil Palm Trunk for Xylitol Fermentation,” Kasetsart J. (Nat. Sci.) 42, 73 - 78
- Punsuvon, V., Anpanurak, W., Vaithanomsat, P. and Tungkananuruk, N. (2005). Fraction of Chemical Components of Oil Palm Trunk by Steam Explosion. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology.18-20 October 2005
- Saha, B.C., Iten, L.B., Cotta, M.A. and Wu, Y.V. (2005). “Dilute acid pretreatment enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol,” Proc Biochem.40, 3693-3700.
- Sarkar, N., Ghosh, K. S., Bannerjee, S and Aikat, K (2012). “Bioethanol production from agricultural wastes: An overview” Renewable Energy. (37), 19-27.
- Sommer, P., Georgieva, T., Ahring B.K. (2003). “Potential for using thermophilic anaerobic bacteria for bioethanol production from hemicelluloses,” Biochem Soc Transact.32, 283-289.
- Sreenath, H.K. and Jeffries, T.W. (2000). “Production of ethanol form wood hydrolysate by yeasts,” Biores.Technol.72, 253-260.
- Sreenath, H.K., Koegel, R.G., Moldes, A.B., Jeffries, T.W. and Straub, R. J.(2001). “Ethanol production from alfalfa fiber fractions by saccharification and fermentation,” Process Biochemistry .36, 1199-1204.
- Sun.Y.and Cheng.J.(2002). “Hydrolysis of linocellulosic material for ethanol production : a review,” Biores.Technol.83,1-11.

- Yamada, H., Tanaka, R., Sulaiman, O., Hashim, R., Hamid, Z.A.A., Yahya, M.K.A., Kosugi, A., Arai, T., Murata, Y., Nirasawa, S., Yamamoto, K., Ohara, S., Yusof, M.N.M., Ibrahim, W.A. and Mori, Y. (2010). "Old oil palm trunk: A promising source of sugars for bioethanol production," Biomass and Bioenergy 34,1608-1613
- Young, H. J., Kim, I. J., Kim, J. J., Kyeong, K. O., Han, J. I., Choi, I. G. and Kim, K. H. (2011). "Ethanol production from oil palm trunks treated with aqueous ammonia and cellulose," Bioresource Technology 102, 7307-7312
- Yunus, R., Salleh, S.F., Abdullah, N. and Awg Biak, D.R. (2010). "Effect of ultrasonic pretreatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch" Bioresource Technology. (101), 9792-9796.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Liao, J. and Zhange, Y. (2005). "Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis," Proc Biochem.40, 3082-3086.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Zhang, Wang, C., Yu, F. and Jin. S.(2006). "Production of ethanol form microwave-assisted alkali pretreatment wheat straw," Proc Biochem.41, 869-873.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนอุดหนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์กรมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้มีส่วนช่วยให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีทุกคน ทั้งด้านข้อเสนอแนะทางวิชาการ แรงงาน หรืออำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือ สถานที่วิจัย ขอขอบคุณนิสิตปริญญาโทและเอกสาขาเทคโนโลยีชีวภาพที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างและทำงานวิจัยขึ้นนี้ให้ประสบผลสำเร็จ คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณอุตสาหกรรมจังหวัดกระบี่ และสหกรณ์ปาล์มน้ำมันจังหวัดกระบี่ สำหรับการให้ความอนุเคราะห์ลำต้นปาล์มในการวิจัยครั้งนี้ สุดท้ายขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับมหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ได้สนับสนุนสถานที่ทำวิจัยและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยทำให้โครงการวิจัยนี้สามารถดำเนินการแล้วเสร็จ

คณะผู้วิจัย
กันยายน 2557

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากกากของแข็งลำต้นปาล์มที่เหลือจากการคั้นน้ำโดยการเตรียมลำต้นปาล์มด้วยร้อยละ 2 ของ กรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และการระเบิดไอน้ำต่อปริมาณ และคุณภาพของเซลลูโลส การเตรียมลำต้นที่อัตราส่วนของแข็งร้อยละ 5-15 ให้ผลประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวของแข็ง และคุณภาพของเซลลูโลสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละสารเคมีที่ใช้ การเตรียมลำต้นปาล์มที่ความเข้มข้นของแข็งร้อยละ 15 ด้วยน้ำ ร้อยละ 2 ของ กรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ส่วนของแข็งที่ประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 33.8 49.5 54.5 และ 50.2 ตามลำดับ ให้น้ำตาล เมื่อทำการย่อยเซลลูโลสที่ได้ด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -glucosidases เท่ากับ 0.78 0.79 2.69 และ 6.54 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ ให้ เอทานอลจากการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 เท่ากับ 0.6 0.61 0.7 และ 2.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การเตรียมลำต้นปาล์มด้วยน้ำ ร้อยละ 2 ของ กรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟให้ส่วนของแข็งที่ประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 47.8 58.5 57.1 และ 61.9 ตามลำดับ ให้น้ำตาล เมื่อทำการย่อยเซลลูโลสที่ได้ด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -glucosidases เท่ากับ 14.8 2.0 7.6 และ 14.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ ให้เอทานอลจากการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 เท่ากับ 7.38 0.5 5.9 และ 9.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การเตรียมลำต้นปาล์มด้วยน้ำ ร้อยละ 2 ของ กรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับการระเบิดไอน้ำ ให้ส่วนของแข็งที่ประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 31.9 43.4 45.4 และ 53.0 ตามลำดับ ให้น้ำตาลเมื่อทำการย่อยเซลลูโลสที่ได้ด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -glucosidases เท่ากับ 14.1 6.4 5.6 และ 12.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ ให้เอทานอลจากการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 เท่ากับ 9.0 4.1 4.2 และ 9.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การเตรียมลำต้นปาล์มโดยการแช่น้ำและร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ (700 W) และร่วมกับการระเบิดไอน้ำ เป็นเวลา 30 นาที สามารถย่อยเอมิเซลลูโลสได้สูงสุด และเมื่อทำการย่อยเซลลูโลสที่ได้ด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -glucosidases ให้ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดสูงสุดถึง 14.8 14.0 14.1 และ 12.8 กรัมต่อลิตร และ ให้ผลเอทานอลจากการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 7.38 9.48 9.0 และ 9.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การขยายขนาดการย่อยลำต้นปาล์มที่เตรียมด้วยน้ำ และ ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ (700 W) เป็นเวลา 30 นาที ด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -glucosidases เป็น 1.5 ลิตร ให้ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด 95.9 และ 108.3 กรัมต่อลิตร จากนั้นเมื่อนำไปหมักต่อด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048 ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ให้ผลผลิตเอทานอล 45 และ 52 กรัมต่อลิตร การผลิตเอทานอลจากการเตรียมลำต้นปาล์มโดยการแช่น้ำ และ ร้อยละ 2 ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ (700 W) เป็นเวลา 30 นาที มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ และ ค่าใช้จ่ายในการกำจัดต้นปาล์มแกล้งทิ้งเพื่อการปลูกใหม่

Abstract

This research investigated the ethanol production from solid fraction of oil palm trunk treated by chemical pretreatment and physic-chemical pretreatment such as microwave-assisted and steam explosion assisted with water, 2% H₂SO₄, 2% NaOH and 2% NaOH in H₂O₂ presoaking followed simultaneous saccharification and fermentation by cellulase and β -glucosidases hydrolysis and ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048. Pretreatment of solids fraction from oil palm trunk at 5-15 % solids presoaking was shown not significant in solids recovery efficiency and solids quality in water, chemical and physic-chemical treatment. Pretreatment of solids fraction from oil palm trunk at 15 % solids presoaking in water, 2% H₂SO₄, 2% NaOH and 2% NaOH in H₂O₂ gave cellulose contain of 33.8, 49.5, 54.5 and 50.2%, respectively. Sugar concentration in cellulose hydrolysis by 15 CBU of β -Glucosidase and 60 FPU of cellulase per gram glucan of water, 2% H₂SO₄, 2% NaOH and 2% NaOH in H₂O₂ presoaking treated were 0.78, 0.79, 2.69 and 6.54 g/L respectively, and ethanol fermentation of cellulose hydrolysate by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 were 0.6, 0.61, 0.7 and 2.9 g/L, respectively. Pretreatment of solids fraction from oil palm trunk at 15 % solids presoaking in water, 2% H₂SO₄, 2% NaOH and 2% NaOH in H₂O₂ assisted with microwave gave cellulose contain of 47.8, 58.5, 57.1 and 61.9%, respectively. Sugar concentration in cellulose hydrolysis by 15 CBU of β -Glucosidase and 60 FPU of cellulase per gram glucan of water, 2% H₂SO₄, 2% NaOH and 2% NaOH in H₂O₂ presoaking with microwave assisted treated were 14.8, 2.0, 7.6 and 14.0 g/L respectively, and ethanol fermentation of cellulose hydrolysate by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 were 7.38, 0.5, 5.9, and 9.5 g/L, respectively. Pretreatment of solids fraction from oil palm trunk at 15 % solids presoaking in water, 2% H₂SO₄, 2% NaOH and 2% NaOH in H₂O₂ assisted with steam explosion gave cellulose contain of 31.9, 43.4, 45.4 and 53.0%, respectively. Sugar concentration in cellulose hydrolysis by 15 CBU of β -Glucosidase and 60 FPU of cellulase per gram glucan of water, 2% H₂SO₄, 2% NaOH and 2% NaOH in H₂O₂ presoaking with steam explosion assisted treated were 14.1, 6.4, 5.6 and 12.8 g/L respectively, and ethanol fermentation of cellulose hydrolysate by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 were 9.0, 4.1, 4.2 and 9.8 g/L, respectively. Pretreatment of solids fraction from oil palm trunk by presoaking in water and 2% NaOH in H₂O₂ assisted with microwave and steam explosion gave sugar concentration in cellulose hydrolysis of 14.8, 14.0, 14.1 and 12.8 g/L, respectively and ethanol fermentation of cellulose hydrolysate by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 were

7.38, 9.48, 9.0 and 9.8 g/L, respectively. Lab scale 1.5 liter simultaneous saccharification and fermentation of presoaking in water and 2% NaOH in H_2O_2 assisted with microwave treated oil palm trunk gave sugar concentration of 95.9 and 108.3 g/L and ethanol of 45 and 52 g/L.

สารบัญ

บทที่	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
ขอบเขตของการวิจัย	3
2 วิธีการดำเนินการวิจัย	4
วิธีการเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมัน	4
การเตรียมเซลล์จากกากของแข็งจากการคั้น	4
การย่อยเซลล์จากลำต้นปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์ และการผลิตเอทานอล	4
การขยายการผลิตเอทานอลจากเซลล์ไฮโดรไลสัดลำต้นปาล์ม	5
การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จากการผลิตเอทานอลจากเซลล์ไฮโดรไลสัด ลำต้นปาล์มน้ำมัน	6
3 รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย	7
ผลการเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์ม	7
ผลการย่อยเซลล์จากลำต้นปาล์มที่เตรียมแล้วด้วยเอนไซม์ และการผลิตเอทานอล	15
ผลการขยายการผลิตเอทานอลจากเซลล์ไฮโดรไลสัดลำต้นปาล์ม	25
การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์จากการผลิตเอทานอลจากเซลล์ไฮโดรไลสัดลำต้นปาล์มการประเมินมูลค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์ของงานวิจัย	31
4 สรุปและข้อเสนอแนะ	33
เอกสารอ้างอิง	38

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบชีวมวลจากส่วนต่างๆ ของต้นปาล์มน้ำมัน	2
2	ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันก่อนการปรับปรุงสภาพและหลังการปรับปรุงสภาพ	17
3	การย่อยลำต้นปาล์มที่ผ่านการปรับปรุงสภาพด้วยเอนไซม์ Cellulaseและ β -Glucosidasesโดยบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาทีและปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาล	19
4	ปริมาณและชนิดของน้ำตาลจากการย่อยลำต้นปาล์มที่ผ่านการปรับปรุงสภาพด้วยเอนไซม์ Cellulaseและ β -Glucosidases โดยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography	20
5	ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลหลัง การหมักเอทานอล	22
6	ความเข้มข้นของเอทานอล วิเคราะห์โดย Gas Chromatography	24
7	ตัวอย่างการขยายขนาดการผลิตโดยการย่อยลำต้นปาล์มที่ผ่านการปรับปรุงสภาพด้วยเอนไซม์ Cellulaseและ β -Glucosidases โดยบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาทีและปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาล	26
8	ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลหลังทำการหมักเอทานอล ของการขยายขนาดระดับ 1.5 ลิตร	28
9	ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลจากการขยายขนาดการผลิต ระดับ 1.5 ลิตร โดยเทคนิค Gas Chromatography	30
10	การวิเคราะห์ผลตอบแทนทางด้านเศรษฐศาสตร์ ของการผลิตเอทานอลจากลำต้นปาล์มน้ำมันโคนทิ้งเพื่อการปลูกใหม่	32

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	องค์ประกอบลำดับต้นจากการปรับสภาพตัวอย่างลำดับต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีการแช่ในสารละลาย H_2SO_4 NaOH NaOH ผสมกับ H_2O_2 และน้ำที่อุณหภูมิห้องที่อัตราส่วนของแข็งร้อยละ 10 15 และ 20	7
2	ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำดับต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธีทางเคมีเวลาที่ 24 ชั่วโมง	8
3	ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำดับต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ เวลาที่ 0 นาที	10
4	ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำดับต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ เวลาที่ 30 นาที	11
5	ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำดับต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยการ ระเบิดด้วยไอน้ำ เวลาที่ 0 นาที	13
6	ผลองค์ประกอบจากการปรับสภาพตัวอย่างลำดับต้นปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่เวลาที่ 30 นาที	14
7	ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลจากการย่อยตัวอย่างลำดับต้นปาล์มด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -Glucosidases	18
8	ปริมาณน้ำตาลหลังทำการหมักเอทานอลด้วยยีสต์	21
9	แสดงปริมาณเอทานอลจากการหมักเซลล์ูโลสลำดับต้นปาล์มด้วยเชื้อยีสต์	23
10	แสดงค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Cellulase และ β -Glucosidases จากการขยายขนาด	25
11	ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลก่อนเติมเชื้อยีสต์ในการขยายขนาดการหมักเอทานอล	27
12	เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของน้ำตาลก่อนและหลังการเติมเชื้อยีสต์	29
13	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอล (g/L) กับระยะเวลา	29



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การผลิตกรดแลคติกจากชีวมวลปาล์มน้ำมัน

Lactic Acid Production from Oil Palm Biomass

คณะผู้วิจัย

ดร.ศุภชัย นิตินันท์

ผศ.บุษกร อุตระภีชาติ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)



รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

การผลิตกรดแลคติกจากชีวมวลปาล์มน้ำมัน

Lactic Acid Production from Oil Palm Biomass

คณะผู้วิจัย

ดร.ศุภชัย นิตินันท์
ผศ.บุษกร อุตระภิชาติ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร
(องค์การมหาชน)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ ต้องขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตรจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (สวก) สนับสนุนเงินทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง และหน่วยวิจัยการจัดการทรัพยากรจุลินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ทำวิจัย รวมทั้งนิสิตปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทุกคน สำหรับการเก็บตัวอย่างและช่วยเก็บข้อมูลการวิจัย

คณะผู้วิจัย
กันยายน 2557

บทคัดย่อ

ชีวมวลปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยการแช่ตัวอย่างในสารละลายร้อยละ 2 ของ H_2SO_4 ในอัตราส่วนของตัวอย่างต่อสารละลายร้อยละ 10 (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ร่วมกับการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam Explosion) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์ 30 นาที ได้เอมิเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 25.54 นาเอมิเซลลูโลสไฮโดรไลสเสตผสมกับอาหาร MRS ในการผลิตกรดแลคติกด้วยเชื้อ *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 ในอัตราส่วนร้อยละ 50:50, 60:40, 70:30 และ 80:20 (v/v) เลี้ยงในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลที่พบในแต่ละส่วนผสม เท่ากับ 11.704 9.920 10.661 และ 11.959 กรัมต่อลิตร ปริมาณกรดแลคติก 4.253 3.668 3.557 และ 3.928 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ค่าพีเอช อยู่ในช่วง 4.14-4.16 จากนั้นศึกษาอัตราส่วนของน้ำคั้นจากลำต้นปาล์มมาเป็นส่วนผสม โดยมีอัตราส่วนที่ของเอมิเซลลูโลสไฮโดรไลสเสต น้ำคั้น และอาหาร MRS เป็นอัตราส่วนร้อยละ 50:25:25 60:20:20 70:15:15 และ 80:10:10 พบว่าให้ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 8.854 9.037 10.685 และ 11.043 กรัมต่อลิตร หลังจากผลิตกรดแลคติกด้วยเชื้อ *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 ในสภาวะไร้อากาศ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบปริมาณกรดแลคติก เท่ากับ 3.985 4.587 3.870 และ 4.201 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าพีเอช อยู่ในช่วง 4.16-4.19

Abstract

Palm oil biomass was pretreated using 10% (w/v) of biomass with 2% H₂SO₄ at room temperature for 24 hours and steam explosion at 121^oC, pressure 1 bar for 30 minutes. This pretreatment could produce higher hemicellulose as 25.54%. The pretreated hemicellulose was mixed with MRS medium to use for Lactic acid production by *Lactobacillus pentosus* TISTR 853. Mixture of hemicellulose and MRS medium for ratio 50:50, 60:40, 70:30 and 80:20 (v/v) were inoculated *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 in anaerobic condition for 120 hours. Each mixture was found initial total sugar 11.704 9.920 10.661 and 11.959 g/l and after 12 hours fermentation was found lactic acid 4.253 3.668 3.557 and 3.928 g/l, respectively, pH around 4.14-4.16. After that palm oil sap was used to mix with pretreated hemicellulose and MRS medium as ratio 50:25:25 60:20:20 70:15:15 and 80:10:10 (v/v) for Lactic acid production by *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 in anaerobic condition for 120 hours. The initial total sugar of mixtures were 8.854 9.037 10.685 and 11.043 g/l, respectively. Lactic acid was found 3.985 4.587 3.870 and 4.201 g/l, pH around 4.16-4.19.

สารบัญ

บทที่	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	3
2 วิธีการดำเนินการวิจัย	4
การเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมัน	4
การเตรียมเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตจากลำต้นปาล์มน้ำมัน	4
การผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตโดยแบคทีเรียแลคติก	4
3 รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย	6
เปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับอาหารเลี้ยง	6
เชื้อในการผลิตกรดแลคติก	
ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ	9
MRS ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดยแบคทีเรียแลคติก	
4 สรุปและข้อเสนอแนะ	13
เอกสารอ้างอิง	14

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาตรตัวอย่างต่อสารอาหารการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซต	5
2 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 50:50	6
3 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 60:40	7
4 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 70:30	8
5 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 80:20	8
6 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ที่อัตราส่วน 50:25:25	10
7 การศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 60:20:20	10
8 การศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 70: 15;15	11
9 การศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 80:10:10	12

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 50:50	7
2	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 60:40	7
3	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 70:30	8
4	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 80:20	9
5	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ที่อัตราส่วน 50:25:25	10
6	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ที่อัตราส่วน 60:20:20	11
7	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ที่อัตราส่วน 70: 15;15	11
8	การศึกษาลักษณะของพืชเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ที่อัตราส่วน 80:10:10	12

1. บทนำ

ชีวมวลปาล์มน้ำมัน (Oil Palm Biomass) เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ได้แก่ ทางใบ ปาล์มน้ำมันและต้นปาล์มน้ำมัน ซึ่งเกษตรกรจะตัดทางที่รองรับทะลายปาล์มน้ำมันทิ้งก่อนเก็บเกี่ยว ทุก ๆ 15-20 วัน ส่วนต้นปาล์มน้ำมันมีอายุประมาณ 25 ปี ผลผลิตลดลงทำให้ต้องมีการโค่นต้นทิ้งเพื่อปลูกใหม่แทน ในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันพร้อมโค่นทิ้งประมาณ 20,000-45,000 ไร่ต่อปี ดังนั้นในแต่ละปีจะมีมวลชีวภาพจากลำต้นปาล์มประมาณ 1 ล้านตันต่อปี (สมพงศ์ และอลิศรา, 2552) และทางปาล์มน้ำมันมีประมาณ 11 ล้านตันต่อปี (กรมปศุสัตว์, 2557) ซึ่งชีวมวลเหล่านี้เป็นวัสดุประเภท ลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วย เซลลูโลสร้อยละ 30-50 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-35 และลิกนินร้อยละ 10-29 (Goh et al., 2010; Hamzah et al., 2011:1057 ; Khunrong et al., 2011; Kim and Kim, 2012) เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสสามารถใช้เป็นซับสเตรตสำหรับการหมักผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรมได้ ได้แก่ เอทานอล ไฮโดรเจล และ กรดแลคติก เป็นต้น สำหรับชีวมวลปาล์มน้ำมันที่เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ที่ยังไม่มีการใช้ประโยชน์ให้ได้มูลค่าเท่าที่ควร ซึ่งเกษตรกรจะนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบสำหรับเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง (กรมปศุสัตว์, 2557) และบางส่วนนำไปใช้ในการเลี้ยงตัวสามารถสร้างรายได้เสริมให้กับเกษตรกร และย่อยสลายเพื่อเป็นปุ๋ยในสวนปาล์มได้ แต่ยังคงเป็นการใช้ทรัพยากรอย่างไม่คุ้มค่า

การผลิตกรดแลคติกจากชีวมวล โดยกระบวนการหมักเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการใช้ประโยชน์จากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เนื่องจากกรดแลคติกนั้นสามารถใช้ประโยชน์ได้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ พบว่าร้อยละ 85 ของกรดแลคติกที่ผลิตได้จากกระบวนการหมัก ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง เนื่องจากมีบทบาทในการปรับความเป็นกรดของอาหาร เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส และใช้เป็นสารป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารได้ นอกจากนี้ ยังมีการใช้ในอุตสาหกรรมยา ใช้ทำเป็นอาหารเสริม ในการสังเคราะห์ยาโรควิพหวัดและสำหรับการต่อกระดูก หรือใช้เป็นไหมเย็บแผลที่สลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ในทางการแพทย์ ใช้ในส่วนของเครื่องสำอางความงามซึ่งทำให้ผิวมีความชุ่มชื้น และใช้ในการผลิตของผลิตภัณฑ์สุขอนามัยใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ รวมถึงสามารถใช้กรดแลคติกเป็นสารตั้งต้น ในอุตสาหกรรมพอลิเมอร์ สำหรับการผลิต โพลีแลคเตท (Polylactate, PLA) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ (Biodegradable Polymer) สามารถใช้ทดแทนพลาสติกที่ผลิตจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมีที่ย่อยสลายได้ยาก และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Martinez et al., 2013) ปัจจุบันการผลิตกรดแลคติกเกือบทั้งหมด ทั่วโลกมาจากการผลิตด้วยกระบวนการหมัก สำหรับประเทศไทยความต้องการใช้กรดแลคติก มีอัตราขยายตัวเพิ่มขึ้น ปัจจุบันสถานการณ์ความต้องการใช้ประโยชน์กรดแลคติกของอุตสาหกรรมต่าง ๆ และตลาดทั่วโลกยังมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น สังเกตได้จากปริมาณการผลิตกรดแลคติกในตลาดโลกที่เพิ่มขึ้นทุกปี ซึ่งคาดการณ์ว่าจะมีความต้องการของกรดแลคติกเพิ่มขึ้นต่อปี ร้อยละ 5.0-8.0 พบว่า ปริมาณการผลิตกรดแลคติก ในตลาดโลกเพิ่มจาก 50,000 ตันต่อปี ในปี 1996 เป็น 180,000 ตันต่อปี ในปี 2002 เพิ่มขึ้นเป็น 250,000 ตันต่อปีในปี 2004 (ศศิธร, 2556) เพิ่มขึ้นเป็น 442,000 ตันต่อปี ในปี 2011 และคาดการณ์ว่าจะเพิ่มขึ้นถึง 713,282 ตันต่อปีในปี 2016 ปัจจุบันมีปริมาณกรดแลคติกสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในตลาดโลกอยู่ที่ระดับประมาณ 589,489 ตันต่อปีของปี 2014 ซึ่งชี้ให้เห็นว่า กรดแลคติกเป็นที่ต้องการของตลาดทั่วโลก รวมถึงแนวโน้มความต้องการที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามการขยายตัวของอุตสาหกรรมต่าง ๆ (Abdel-Rahman et al., 2013)

จากการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากวัสดุชีวมวล ลิกโนเซลลูโลสโดยกระบวนการหมักที่มีรายงานการผลิตกรดแลคติกโดยแบคทีเรียกรดแลคติกชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Moldes และคณะ (2006) ศึกษาการใช้น้ำตาลเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรในการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus pentosus* ซึ่งวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรได้แก่ แกลบข้าวบาร์เลย์ ชังข้าวโพด และ ต้นยูคาลิปตัส นำมาผ่านการเตรียมน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสด้วยร้อยละ 2 กรดซัลฟูริก จากนั้นนำไปหมักกรดแลคติกในปฏิกรณ์ขนาด 2 ลิตร ที่มีการทำงานปริมาณ 1 ลิตร อัตราการกวนอยู่ที่ 150 รอบต่อนาที ควบคุมพีเอชที่ 6.0 พบว่าให้ผลผลิตกรดแลคติกจากแกลบข้าวบาร์เลย์ ชังข้าวโพด และ เศษไม้ ต้นยูคาลิปตัสเป็น 33.7 24.7 และ 14.5 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิต 0.60, 0.34 และ 0.28 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้กรดแลคติก 0.57, 0.53 และ 0.70 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ และ Li และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเซตรำข้าวสาลี 40 กรัมต่อลิตร โดย *Lactobacillus rhamnosus* พบว่าให้ผลผลิตกรดแลคติก 79 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตอยู่ที่ 3.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้กรดแลคติก 0.98 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ กรดแลคติกที่ได้เป็น L(+)-Lactic Acid เป็นต้น ซึ่งข้อเสียดรที่ใช่และ กระบวนการเปลี่ยนวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลที่แตกต่างกัน รวมทั้งรูปแบบของการหมักและกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักกรดแลคติกในสภาวะที่เหมาะสมต่อ กระบวนการหมักกรดแลคติกจึงมีความจำเป็นอย่างสูงในการผลิตกรดแลคติกจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลส

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นในการพัฒนาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลส ไฮโดรไลเซต เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งจากกระบวนการปรับสภาพชีวมวลปาล์มน้ำมันในการผลิตเอทานอล ซึ่งเป็นส่วนที่ยังไม่ได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ โดยในเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตนั้นประกอบด้วย น้ำตาลไซโลสและกลูโคสเป็นหลัก จึงสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดแลคติกได้ และช่วยลดการนำเข้ากรดแลคติกจากต่างประเทศอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับน้ำคั้นโดย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853
2. ศึกษาอัตราส่วนของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับน้ำคั้นจากลำต้นปาล์มน้ำมันสำหรับการผลิตกรดแลคติกโดย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853
3. เพื่อหาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมัก ทางปาล์มน้ำมัน ใบปาล์มน้ำมัน และลำต้นปาล์มน้ำมันโดย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลวิธีการเตรียมเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus pentosus* TISTR 853
2. ทราบถึงอิทธิพลของสารพิษที่อยู่ในเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตต่อการผลิตกรดแลคติกจากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus pentosus* TISTR 853
3. สามารถผลิตกรดแลคติกจากมวลชีวภาพปาล์มน้ำมัน เพื่อเพิ่มมูลค่าของเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

4. ลดต้นทุนการผลิตกรดแลคติกโดยใช้เอมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตจากมวลชีวภาพปาล์มน้ำมันเป็นแหล่งคาร์บอน แทนการใช้น้ำตาลกลูโคสทางการค้า
5. เพื่อเป็นแนวทางสำหรับงานวิจัยต่อไปในอนาคต

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้แบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus* ในการผลิตกรดแลคติกจากเอมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซต เพื่อศึกษาหาลำดับประกอบทางเคมีและทางชีวภาพ เพื่อศึกษาหาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมัก โดยใช้แบคทีเรียแลคติก และศึกษาการดูดซับสารพิษที่มีผลต่อการผลิตแลคติก ตลอดจนเพื่อศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเอมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตโดยการเพิ่มขยายขนาด (Scale-up)

2. วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

2.1 การเตรียมตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมัน

นำตัวอย่างลำต้นปาล์มน้ำมันที่โคนทิ้งเพื่อปลูกใหม่ (อายุประมาณ 25 ปี) โดยทำการตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ เก็บตัวอย่างหาความชื้นเริ่มต้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบด (Hammer Mill) ให้มีความละเอียดขนาด 0.5 มิลลิเมตร และนำตัวอย่างที่ผ่านการบดไปแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องโดยปริมาตรนำคำนวณจากความชื้นเริ่มต้น จากนั้นนำไปคั้นน้ำ โดยเอาส่วนที่เป็นของเหลวไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใช้วิธี Anthrone Method (Ashwell, 1957) เพื่อนำไปใช้ผลิตกรดแลคติก ส่วนที่เป็นของแข็ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งที่ระเหยง่าย (Total Solids; TS and Volatile Solids; VS) (APHA, 1995) และวิเคราะห์องค์ประกอบ ของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน ใช้วิธี AOAC (1980) นำไปเก็บใส่ในถุงพลาสติกไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การเตรียมเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตจากลำต้นปาล์มน้ำมัน

2.2.1 การเตรียมเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ร่วมกับการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam Explosion)

นำตัวอย่างของแข็งที่ผ่านการเตรียมในขั้นตอนที่ 3.5.1 แช่ตัวอย่างในสารละลาย NaOH ความเข้มข้นร้อยละ 2 อัตราส่วนของตัวอย่างต่อสารละลายร้อยละ 10 (20g: 200 ml) ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยการระเบิดไอน้ำ (Steam Explosion) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที (สุรียัพร, 2556) นำตัวอย่างไปกรองเก็บส่วนของเหลวซึ่งเป็นเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซต เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เพื่อใช้ในขั้นตอนการหมักกรดแลคติก) ส่วนหนึ่งนำมาวิเคราะห์ผลดังนี้ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใช้วิธี Anthrone Method (Ashwell, 1957) วิเคราะห์องค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน ใช้วิธี AOAC (1980) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งที่ระเหยง่าย (Total Solids; TS and Volatile Solids; VS) (APHA, 1995)

2.3 ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตโดยแบคทีเรียแลคติก

2.3.1 ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ต่อน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853

จากการเตรียมเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยนำ *L. pentosus* TISTR 853 นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในอัตราส่วนร้อยละต่าง ๆ ดังนี้ 50:50 60:40 70:30 และ 80:20 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในขวดซีรัมขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำตาลไซโลสจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเป็นแหล่งคาร์บอน ไล่ออกซิเจนภายใต้การปลอดเชื้อ เพื่อทำให้เกิดสภาพไร้อากาศ ปิดด้วยจุกยาง ฝาลูมิเนียม และใช้แคลัมฟล็อกให้ขวดปิดสนิท บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ผลดังนี้ วัดค่าพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใช้วิธี

Anthrone Method (Ashwell, 1957) ปริมาณกรดแลคติกใช้วิธี Colorimetric Determination (Barker and Summerson, 1941)

2.3.2 ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลสเตร่วมกับน้ำคั้นและอาหารเลี้ยงเชื้อในอัตราส่วนที่ต่างกันโดย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853

ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก โดยนำ *L. pentosus* TISTR 853 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสำหรับการหมักซึ่งใช้เฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลสเตร่วมกับน้ำคั้นจากลำต้นปาล์มแทนอาหาร MRS ในอัตราส่วนของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลสเตร่วมกับน้ำคั้นจากลำต้นปาล์มดังตารางที่ 3.2 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในขวดซีรัมขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่ออกซิเจนภายใต้การปิดผนึก เพื่อทำให้เกิดสภาพไร้อากาศ ปิดด้วยจุกยาง ฝาอลูมิเนียม และใช้แคลมป์ล็อกให้ขวดปิดสนิท บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ผลดังนี้ วัดค่าพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใช้วิธี Anthrone Method (Ashwell, 1957) ปริมาณกรดแลคติกใช้วิธี Colorimetric Determination (Barker and Summerson 1941)

ตารางที่ 1 ปริมาตรตัวอย่างต่อสารอาหารในการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลสเตร่วมกับน้ำคั้น

Medium No	Composition
1	50 % Volume Hemi-Hydrolysate +25 % Volume Sap Squeezed+25% MRS
2	60 % Volume Hemi-Hydrolysate + 20 % Volume Sap Squeezed+20% MRS
3	70 % Volume Hemi-Hydrolysate + 15 % Volume Sap Squeezed+15% MRS
4	80 % Volume Hemi-Hydrolysate + 10 % Volume Sap Squeezed+10% MRS

3. รายละเอียดทางวิชาการที่ได้รับจากการวิจัย

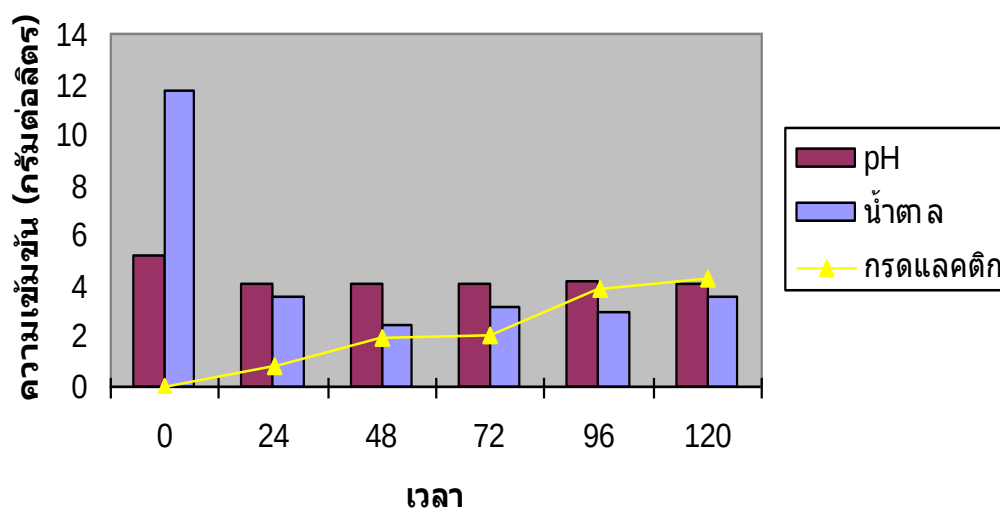
3.1 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดแลกติก

จากการศึกษาเปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดแลกติกโดย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 นำมาหมักกรดแลกติกในอาหารเหลวสำหรับการหมัก ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 60:40 70:30 และ 80:20 โดยใช้น้ำตาลไซโลสจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเริ่มต้น เท่ากับ 11.704 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลกติกได้เท่ากับ 4.253 กรัมต่อลิตรที่พีเอช 4.14 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 1 ในอัตราส่วนร้อยละ 60:40 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเริ่มต้น เท่ากับ 9.920 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลกติกได้เท่ากับ 3.668 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4.16 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 2 ในอัตราส่วนร้อยละ 70:30 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเริ่มต้น เท่ากับ 10.661 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลกติกได้เท่ากับ 3.557 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4.15 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 3 และ ในอัตราส่วนร้อยละ 80:20 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเริ่มต้น เท่ากับ 11.959 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลกติกได้เท่ากับ 3.928 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4.16 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 4 ซึ่งเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างเห็นได้ชัด แต่ปริมาณกรดแลกติกเพิ่มขึ้นเนื่องจาก *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 ใช้น้ำตาล เฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดแลกติกทำให้ปริมาณน้ำตาลลดลง โดยปริมาณกรดแลกติกเท่ากับ 4.253 3.668 3.557 และ 3.928 ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาของญานิกา และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากไฮโดรไลเซตของกระดาษหนังสือพิมพ์ โดยแบคทีเรีย *L. plantarum* พบว่า เชื้อสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีไฮโดรไลเซตเข้มข้นร้อยละ 40-60 โดยมีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 24-48 ชั่วโมง และปริมาณน้ำตาลจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 48 ชั่วโมงของการหมัก ปริมาณกรดแลกติกเท่ากับ 0.70 และ 0.95 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฮโดรไลเซตให้สูงขึ้นเป็นร้อยละ 80 และ 100 พบว่า *L. plantarum* มีการเจริญลดลงมาก และใช้น้ำตาลได้น้อยมากหรือไม่ใช้เลย

ตารางที่ 2 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลกติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 50:50

ตัวอย่าง HH;MRS	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแลกติก (กรัม/ลิตร)
50;50	0	5.23	11.704	0.049
	24	4.12	3.623	0.834
	48	4.12	2.460	1.920
	72	4.13	3.169	2.027
	96	4.16	2.914	3.923
	120	4.14	3.567	4.253

อัตราส่วน 50:50

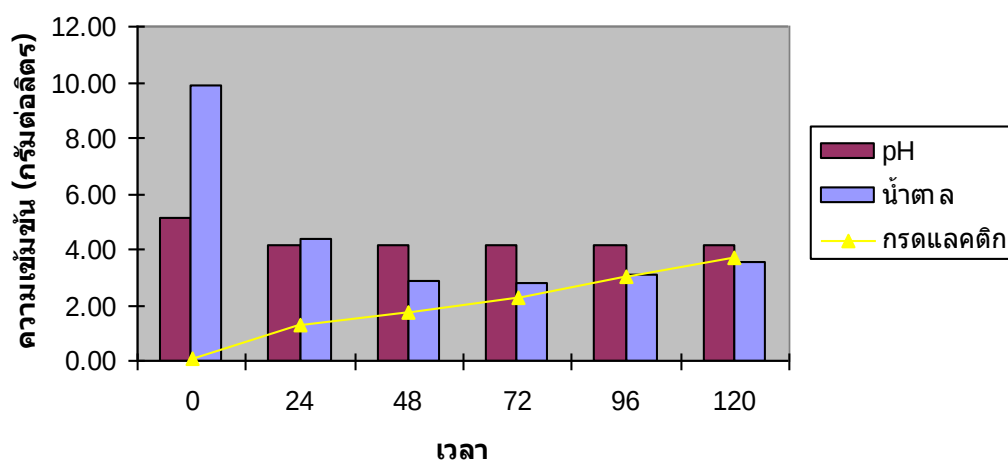


ภาพที่ 1 แสดงการศึกษามลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 50:50

ตารางที่ 3 แสดงการศึกษามลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 60:40

ตัวอย่าง HH;MRS	เวลา(ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)
60;40	0	5.15	9.920	0.088
	24	4.13	4.379	1.316
	48	4.12	2.842	1.731
	72	4.14	2.803	2.270
	96	4.16	3.081	3.035
	120	4.16	3.519	3.668

อัตราส่วน 60:40

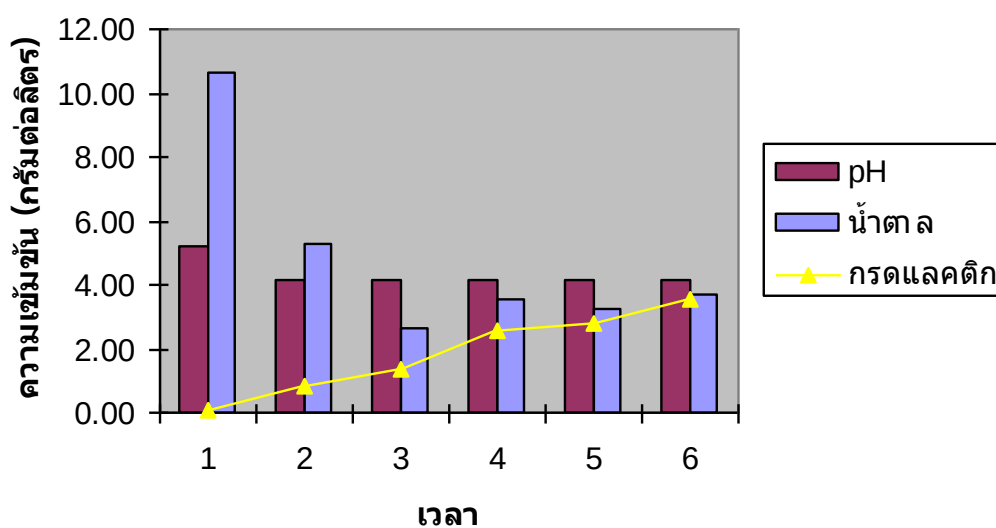


ภาพที่ 2 แสดงการศึกษามลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 60:40

ตารางที่ 4 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 70:30

ตัวอย่าง HH;MRS	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)
70;30	0	5.22	10.661	0.105
	24	4.14	5.318	0.828
	48	4.12	2.627	1.379
	72	4.14	3.535	2.591
	96	4.17	3.217	2.815
	120	4.15	3.734	3.557

อัตราส่วน 70:30

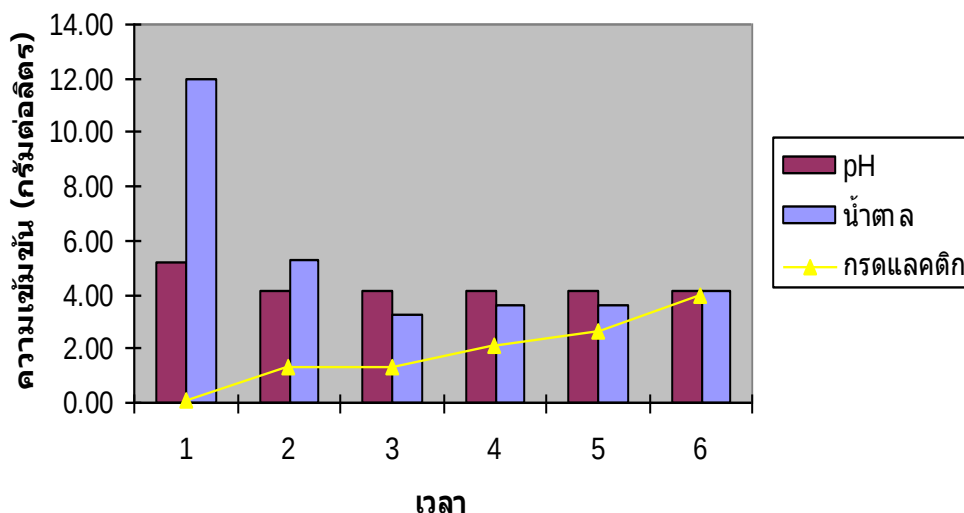


ภาพที่ 3 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 70:30

ตารางที่ 5 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 80:20

ตัวอย่าง HH;MRS	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)
80;20	0	5.16	11.959	0.088
	24	4.15	5.326	1.316
	48	4.13	3.225	1.360
	72	4.15	3.631	2.078
	96	4.18	3.631	2.624
	120	4.16	4.132	3.928

อัตราส่วน 80:20



ภาพที่ 4 แสดงการศึกษาค่าผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 80:20

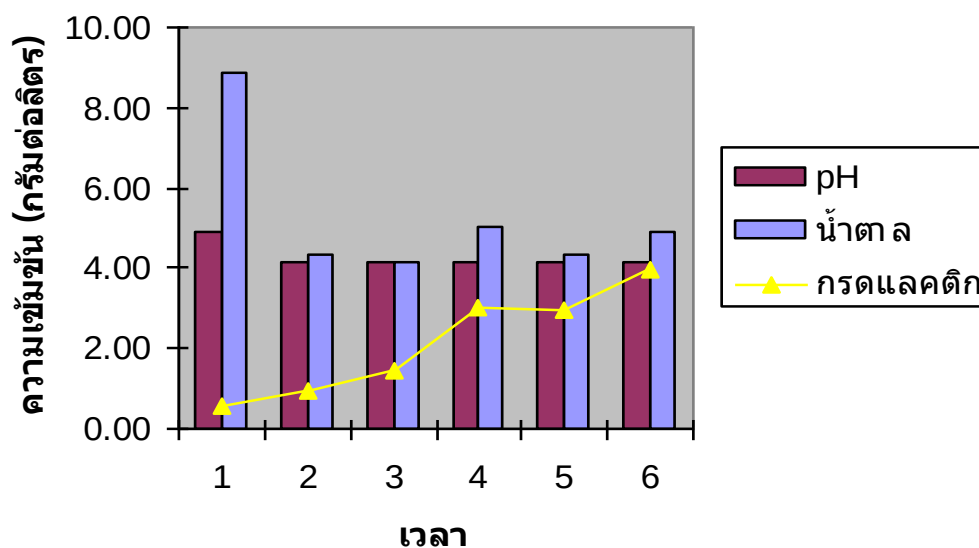
3.2 ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดยแบคทีเรียแลคติก

จากการศึกษาเปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตกรดแลคติกโดย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 นำมาหมักกรดแลคติกในอาหารเหลวสำหรับการหมัก ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในอัตราส่วนร้อยละ 50:25:25 60:20:20 70:15:15 และ 80:10:10 ตามลำดับ พบว่า ในอัตราส่วนร้อยละ 50:25:25 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตเริ่มต้น เท่ากับ 8.854 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลคติกได้เท่ากับ 3.985 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4.16 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 5 ในอัตราส่วนร้อยละ 60:20:20 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตเริ่มต้น เท่ากับ 9.037 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลคติกได้เท่ากับ 4.587 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4.16 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 6 ในอัตราส่วนร้อยละ 70:15:15 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตเริ่มต้น เท่ากับ 10.685 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลคติกได้เท่ากับ 3.870 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4.17 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 7 และ ในอัตราส่วนร้อยละ 80:10:10 ของเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ให้ปริมาณน้ำตาลเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตเริ่มต้น เท่ากับ 11.043 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตกรดแลคติกได้เท่ากับ 4.201 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4.19 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังรูปและตารางที่ 8 ซึ่งจากการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตต่อน้ำคั้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดยแบคทีเรียแลคติก มีผลไม่แตกต่างกันของผลผลิตกรดแลคติก จะเห็นได้ว่า เฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดแลคติกได้

ตารางที่ 6 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 50:25:25

อัตราส่วน HH:SS:MRS	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)
50;25;25	0	4.91	8.854	0.564
	24	4.13	4.355	0.969
	48	4.13	4.132	1.432
	72	4.15	5.024	3.016
	96	4.16	4.355	2.950
	120	4.16	4.920	3.985

อัตราส่วน 50:25:25

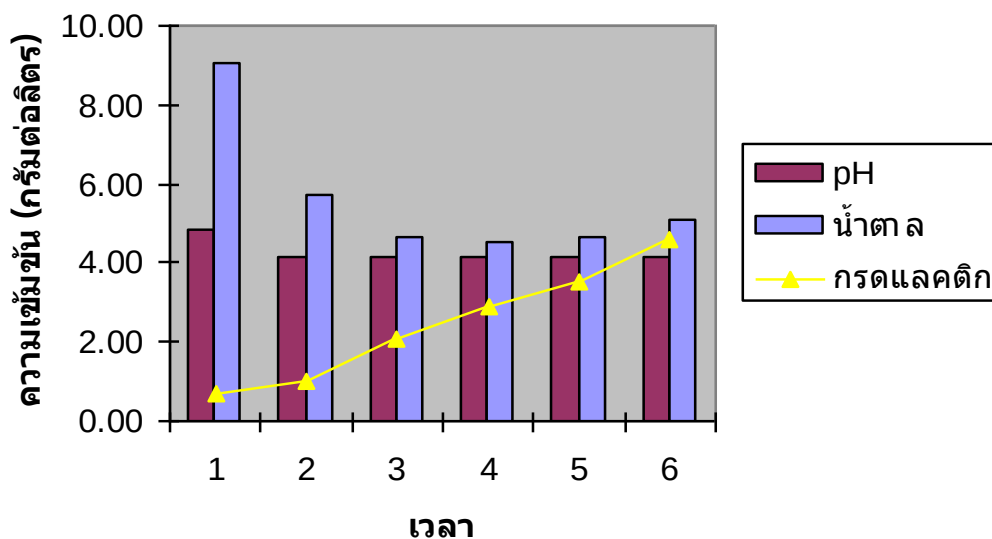


ภาพที่ 5 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 50:25:25

ตารางที่ 7 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 60:20:20

ตัวอย่าง HH:SS:MRS	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)
60;20;20	0	4.87	9.037	0.662
	24	4.14	5.701	0.977
	48	4.15	4.634	2.106
	72	4.16	4.546	2.918
	96	4.17	4.650	3.524
	120	4.16	5.064	4.587

อัตราส่วน 60:20:20

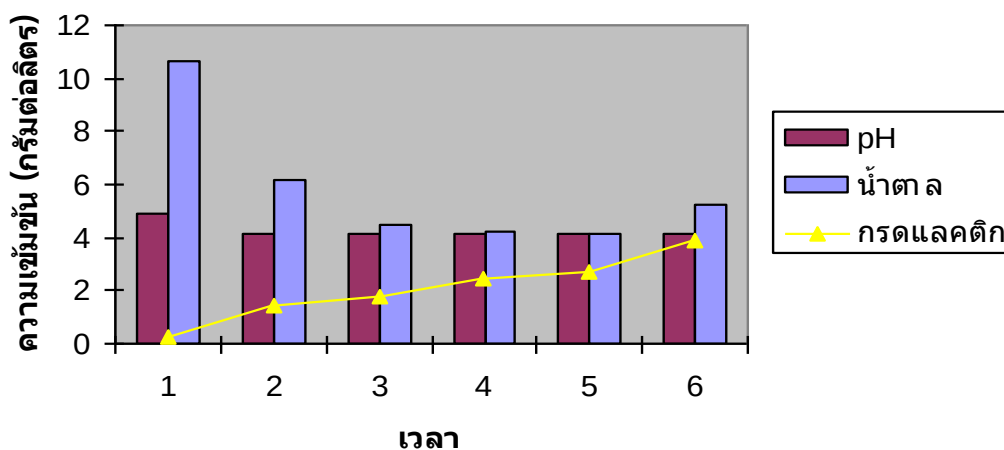


ภาพที่ 6 แสดงการศึกษาค่าผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแอสคอร์บิกที่ได้ ที่อัตราส่วน 60:20:20

ตารางที่ 8 แสดงการศึกษาค่าผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแอสคอร์บิกที่ได้ ที่อัตราส่วน 70: 15;15

ตัวอย่าง HH;SS;MRS	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแอสคอร์บิก (กรัม/ลิตร)
70;15;15	0	4.93	10.685	0.244
	24	4.15	6.186	1.429
	48	4.16	4.506	1.744
	72	4.16	4.244	2.422
	96	4.18	4.164	2.709
	120	4.17	5.199	3.870

อัตราส่วน 70:15:15

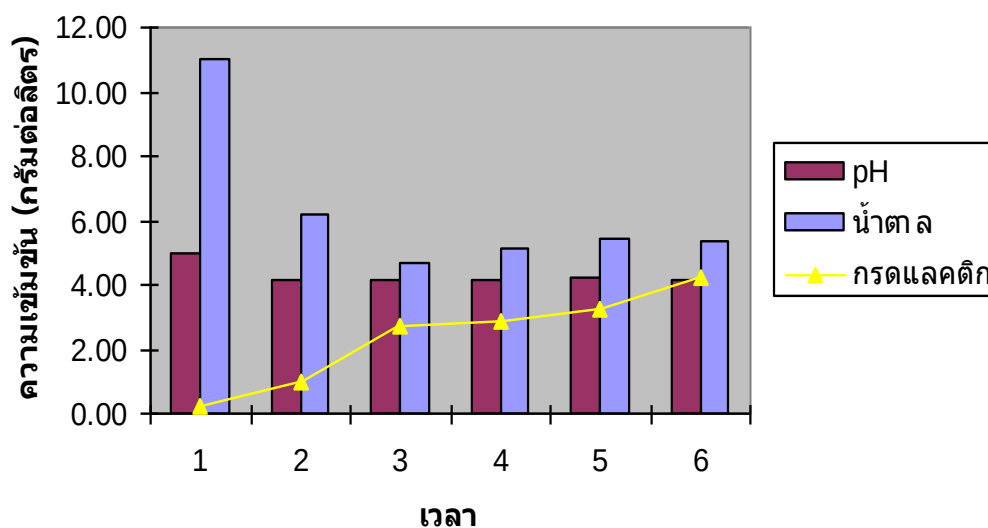


ภาพที่ 7 แสดงการศึกษาค่าผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแอสคอร์บิกที่ได้ ที่อัตราส่วน 70: 15;15

ตารางที่ 9 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 80:10:10

ตัวอย่าง HH;SS;MRS	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)
70;15;15	0	4.95	11.043	0.243
	24	4.18	6.210	0.945
	48	4.18	4.650	2.727
	72	4.18	5.159	2.888
	96	4.20	5.446	3.261
	120	4.19	5.382	4.201

อัตราส่วน 80:10:10



ภาพที่ 8 แสดงการศึกษาผลของพีเอช ปริมาณน้ำตาลและกรดแลคติกที่ได้ ที่อัตราส่วน 80:10:10

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

แบคทีเรีย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 ซึ่งมีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตจากการย่อยลำต้นปาล์มน้ำมันด้วยไซโตียมไฮดรอกไซด์ จากการทดลองการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *Lactobacillus pentosus* TISTR 853 สามารถผลิตกรดแลคติกได้ในอาหาร MRS ที่มีเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตเป็นองค์ประกอบ และเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตต่อน้ำคั้นต่ออาหาร อย่างไรก็ตามผลผลิตกรดแลคติกยังค่อนข้างต่ำ จึงควรมีการพัฒนากระบวนการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้นต่อไป โดยศึกษาถึงปริมาณกล้ำเชื้อที่เหมาะสม นอกจากนี้จึงควรศึกษาถึงชนิดของน้ำตาลหลังสิ้นสุดกระบวนการหมักซึ่งคาดว่าจะป็นน้ำตาลชนิดที่แบคทีเรียนำไปใช้ได้ยาก เช่น น้ำตาลไซโลส ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไม่สามารถเพิ่มผลผลิตของกรดแลคติกให้สูงขึ้นได้ ดังนั้นการพัฒนาในการเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการผลิตกรดแลคติกจากเฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเซตให้คุ้มทุนและสามารถพัฒนาไปสู่อุตสาหกรรมได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์ 2557. สืบค้นเมื่อ 21 กรกฎาคม 2557, จาก <http://www.dld.go.th>
- กรมวิชาการเกษตร. (2555). พืชไร้เศรษฐกิจ. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชไร้นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สืบค้นเมื่อ 29 กันยายน 2557 <http://www.doa.go.th>
- คลังข้อมูลสารสนเทศระดับภูมิภาคภาคใต้ (2550) การปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทย. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. สืบค้นเมื่อ 29 กันยายน 2557, จาก <http://www.arda.or.th/kasetinfo/south>
- ญาณิกา วัชรเทวินทร์กุล, จุริรัตน์ พุดตาลเล็ก, วิไล รังสาดทอง และ ดุษฎี อุดมภาพ (2006). การผลิตกรดแลกติกจากไฮโดรไลเซตของหนังสือพิมพ์โดยแบคทีเรีย *Enterococcus faecium* SU-1. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. ปีที่ 29(ฉบับที่ 3), 301-317
- ปาล์มน้ำมัน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สืบค้นเมื่อ 29 กันยายน 2557, จาก <http://share.psu.ac.th/blog/tai1/24162>.
- ศศิธร นนทา. (2556). ผลผลิตกรดแลกติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต.ชลบุรี : มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
- สถานวิจัยพืชปาล์มน้ำมัน (2555). ปาล์มน้ำมัน... วันวาน วันนี้และวันหน้า. สงขลา : สถานวิจัยพืชสมพงศ์ โอทอง และอลิศรา เรืองแสง. (2552). การพัฒนากระบวนการผลิตพลังงานชีวภาพจากลำต้นปาล์มอย่างมีประสิทธิภาพ. รายงานการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ภาควิชาชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- สุขใจ ชูจันทร์. (2554). การผลิตกรดอินทรีย์จากวัสดุเหลือใช้มวลชีวภาพ (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุรีย์พร กำเนิดกลาง. (2556). การผลิตเอทานอลจากลำต้นปาล์มน้ำมันแก่โดยกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลควบคู่กับการหมัก. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. พัทลุง : มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- Abdel-Rahman, M.A., Tashiro, Y. and Sonomoto, K. (2011). "Lactic Acid Production from Lignocelluloses Derived Sugars using Lactic Acid Bacteria," Overview and Limits J Biotechnol. 156, 286-301.
- Abdel-Rahman, M.A., Tashiro, Y. and Sonomoto, K. (2013). "Recent Advances in Lactic Acid Production by Microbial Fermentation Processes," Biotechnology Advances. 31, 877-902.
- APHA. (1995). "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater," 19th ed, American Public Health Association, Washington, DC, USA
- Ashwell, G. (1957). "Colorimetric analysis of sugars," Methods Enzymol. 3, 73-105.
- Chin, K.L., Hing, P.S., Wong, L.J., Tey, B.T and Paridah, M.T. (2011). "Production of glucose from oil palm trunk and sawdust of rubberwood and mixed hardwood" Applied Energy. (88), 4222-4228.

- Fernandes, E.N., Pires, R.A., Mano, J.F. and Reis, R.L. (2013). "Bionanocomposites from Lignocellulosic Resources Properties Applications and Future Trends for Their use in the Biomedical Field," Progress in Polymer Science. 38, 1418-1419.
- Goh, C.S., Tan, H.T., Lee, K.L. and Mohamed, A.R. (2010). "Optimizing Ethanolic Hot Compressed Water (EHCW) Cooking as a Pretreatment to Glucose Recovery for the Production of Fuel Ethanol from Oil Palm Frond (OPF)" Fuel Processing Technology. 91, 1146-1151.
- Hamzah, F., Idris, A. and Shuan, T.K. (2011). "Preliminary study on enzymatic hydrolysis of
- Hanim, S. S., Noor, M.A.M. and Rosma, A. (2011). "Effect of autohydrolysis and enzymatic treatment on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) frond fibres for xylose and xylooligosaccharides production" Bioresource Technology. (102), 1234-1239.
- Hassan, M.A. (2012). "Effect of steam pretreatment on oil palm empty fruit bunch for the production of sugars," Biomass and Bioenergy. 36, 280-288.
- Hideno, A., Inoue, H., Tsukahara, K., Fujimoto, S., Minowa, T., Inoue, S., Endo, T. and Sawayama
- Hong, L.S., Ibrahim, D. and Omar, I.C. (2012). "Oil Palm Frond for the Production of Bioethanol," International Journal of Biochemistry and Biotechnology. 1, 7-11.
- Khunrong, T., Punsuvon, V., Vaithanomsat, P. and . Pomchaitaward, C. (2011). "Production of from pulp obtained by steam explosion pretreatment of oil palm trunk," Energy Sources.: 33, 221-228.
- Kim, S. and Kim, C.H. (2012). "Bioethanol Production using the Sequential Acid/Alkali-Pretreated Empty Palm Fruit Bunch Fiber," Renewable Energy. 3, 1-6.
- Kwon, S., Lee, P.C., Lee, E.G., Chang, Y.K. and Chang, Y.K. (2001). "Production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus* with vitamin-supplemented soybean hydrolysate," Enzyme and Microbiology Technology. 36, 209-215.
- Li, Z., Han, L., Ji, Y., Wang, X. and Tan, T. (2010). "Fermentative production of l-lactic acid from hydrolysate of wheat bran by *Lactobacillus rhamnosus*," Biochemical Engineering Journal. 49, 138-142.
- Martinez, F.A.C., Balciunas, E.M., Salgado, J.M., Gonzalez, J.M.G., Attilio Converti, A. and Oliveira, R.P.D.S. (2013). "Lactic Acid Properties, Applications and Production: A Review," Trends in Food Science & Technology. 30, 70-83.
- Moldes, A.H., Torrado, A., Converti, A., and Domínguez, J.M. (2006). "Complete Bioconversion of Hemicellulosic Sugars From Agricultural Residues Into Lactic

- Acid by *Lactobacillus pentosus*.” Applied Biochemistry and Biotechnology. 135, 1559-0291.
- Mood, S.H., Golfeshan, A.H., Tabatabaei, M., Jouzani, G.S., Najafi, G.H., Gholami, M., and Ardjmand, M. (2013). “Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, a Comprehensive Review with a focus on pretreatment,” Renewable and Sustainable Energy Reviews. 27, 77–93.
- Narayanan, N., Roychoudhury, P.K. and Srivastava, A. (2004). “L(+)Lactic Acid Fermentation and it is
- Nguyen, C.M., Choi, G.J., Chai, Y.H., Jang, K. S. and Kim, J-C. (2013). “D- and L-Lactic Acid Production from Fresh Sweet Potato through Simultaneous Saccharification and Fermentation,” Biochemical Engineering Journal. 81, 40–46.
- Piarpuzan, D., Quintero, J.A. and Cardona, C.A. (2011). “Empty Fruit Bunches from Oil Palm as a Potential Raw Material for Fuel Ethanol Production,” Biomass and Bioenergy. 35, 1130-1137.
- Product Poly Merization. Electronic,” Journal of Biotechnology. 2, 167-179.
- S. (2009). “Wet Disk Milling Pretreatment without Sulfuric Acid for Enzymatic Hydrolysis of Rice Straw,” Bioresource Technology. 100, 2706–2711.
- Shamsudin, S., Shah, U.K.M., Zainudin, H., Abd-Aziz, S., Mazlina, S., Kamal, M., Shirai Y. and
- Tan, H.T., Lee, K.T. and Mohamed, A.R. (2011). “Pretreatment of Lignocellulosic Palm Biomass using a Solvent-Ionic Liquid [BMIM] Cl for Glucose Recovery: An Optimisation Study using Response Surface Methodology,” Carbohydrate Polymers. 83, 1862–1868.
- treated oil palm (Elaeis) empty fruit bunches fibre (EFB) by using combination of cellulase and b 1-4 glucosidase” Biomass and Bioenergy. (35), 1055-1059.
- Xu, K. and Xu, P. (2014). “Efficient Production of L-Lactic Acid using Co-Feeding Strategy Based on Cane Molasses/Glucose Carbon Sources,” Bioresource Technology. 153, 23–29.
- Yoo, I., G. H. Seong, H. N. Chang and J. K. Park. (1997) “Encapsulation of *Lactobacillus casei* cells in liquid-core alginate capsules for lactic acid production”. Enzyme Microb. Technol. 19: 428-433.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Liao, J. and Zhange, Y. (2005). “Pretreatment by Microwave/Alkali of Rice Straw and its Enzymic Hydrolysis,” Proc Biochem. 40, 3082-3086.