ศักยภาพและการใช้ประโยชน์จากเปลือกกระจับ (*Trapa natans* L.) เพื่อการผลิตเอทานอล

The Potential and Utilization of Water Caltrops (*Trapa natans* L.) Peel for Ethanol Production

ตะวัน มาดวง (Tawan Maduang)[*]
อรวรรณ ชุณหชาติ (Orawan Chunhachart)[**]
รัชพล พะวงศ์รัตน์ (Ratchapol Pawongrat)[****]

บทคัดย่อ

เปลือกกระจับเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 32.24, เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 9.23 และลิกนินร้อยละ 10.25 ซึ่งถูกนำมาใช้ในการศึกษาศักยภาพและการใช้ประโยชน์ เพื่อการผลิตเอทานอลโดยทำการศึกษาการปรับสภาพที่เหมาะสม และศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการผลิตเอทานอลด้วยการย่อยและหมักน้ำตาลแบบแยก (SHF) การย่อยและหมักน้ำตาลแบบพร้อมกัน (SSF) ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกกระจับคือ การปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 61.05 ของน้ำหนักแห้ง แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีและพันธะเคมีในโมเลกุลด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพและทางเคมีของเปลือกกระจับ สำหรับผลการผลิตเอทานอล พบว่า วิธี SSF ให้ผลผลิตเอทานอลใกล้เคียงกับวิธี SHF โดยผลผลิตคิดเป็น 1.94 และ 1.90 กรัมต่อลิตร ตามลำดับจากผลการวิจัยนี้กล่าวได้ว่า เปลือกกระจับเป็นอีกหนึ่งวัสดุเหลือทิ้งที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอล และสามารถนำมาประยุกต์ให้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกได้ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : เปลือกกระจับ, การปรับสภาพ, การผลิตเอทานอล, กระบวนการย่อยและหมักน้ำตาลแบบแยก, กระบวนการย่อยและหมักน้ำตาลแบบพร้อมกัน

[*] นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน
Master's degree students, Bioproduct Science Program, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus

[**] อาจารย์, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
Lecturer., Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus email: faasrpp@ku.ac.th

[****] อาจารย์ หลักสูตรวิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน
Lecturer, Bioproduct Science Program, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus email: ratchapol.p@ku.th

Abstract

Water caltrops peel, lignocellulosic material containing 32.24% of cellulose, 9.23 %, hemicellulose and 10.25 % of lignin, was used for study on of the potential and utilization of water caltrops (*Trapa natans* L.) peel for ethanol production. The optimum pretreatment conditions of water caltrops and the comparative study of ethanol production process by separate hydrolysis and fermentation (SHF) and simultaneous saccharification fermentation (SSF) were investigated. The result showed that the optimum condition was pretreatment with 30 % sodium hydroxide solution at 100 °C for 2 hours, which gave the maximum cellulose content of 61.05 % with statistically significant (P<0.05). Furthermore, the results from Scanning Electron Microscopy (SEM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) exhibited that the physical and chemical structures of water caltrops have been changed. For ethanol production, the ethanol content obtained from SSF was 1.94 g/L which was similar to SHF. According to these results, water caltrops peel is one of the potential materials for ethanol production and it can be applied as alternative energy in the future.

Keywords : Water caltrops, Pretreatment, Ethanol Production, Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF), Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)

บทนำ

พลังงานเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ พลังงานไม่เพียงแต่จะปรับปรุงและพัฒนาคุณภาพชีวิตของมนุษย์ให้ดีขึ้นเท่านั้น แต่ยังมีความสำคัญในการขับเคลื่อนประเทศชาติให้มีความก้าวหน้าในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านการคมนาคม ด้านเศรษฐกิจทั้งในส่วนของภาคการเกษตรและภาคอุตสาหกรรม เป็นต้น แต่เดิมแหล่งพลังงานที่มนุษย์ให้ความสนใจและนำมาใช้เป็นจำนวนมากคือ พลังงานฟอสซิล จัดเป็นแหล่งพลังงานสิ้นเปลืองหรือแหล่งพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป จากการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรอย่างไม่จำกัดนั้นส่งผลต่อการอุปโภคพลังงานฟอสซิลที่มีอยู่อย่างจำกัด ก่อให้เกิดปัญหาการขาดแคลนพลังงานดังนั้นจึงเกิดการศึกษาและค้นคว้าหาแหล่งพลังงานใหม่ที่ สิ่งที่สามารถตอบโจทย์ปัญหาดังกล่าวได้คือ พลังงานทดแทน อันได้แก่ พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานน้ำ และพลังงานจากชีวมวล

ชีวมวล คือ สารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งกักเก็บพลังงานจากธรรมชาติ ได้แก่ เศษวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรหรือการแปรรูปทางการเกษตร เช่น ซังข้าวโพด ฟางข้าว ชานอ้อย (สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน, 2554; รัชพล, 2554; 2558) รวมทั้งของเสียจากภาคการเกษตรและภาคอุตสาหกรรม เช่น มูลสัตว์ ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ของเสียจากชุมชน ทรัพยากรชีวมวลจากแหล่งต่างๆ เป็นทรัพยากรที่หาง่าย และราคาถูก สามารถนำมาเปลี่ยนเป็นพลังงานเพื่อใช้ประโยชน์ในหลายรูปแบบ เช่น การผลิตเชื้อเพลิง ได้แก่ ถ่านหิน ก๊าซธรรมชาติ เนื่องจากเป็นพลังงานที่สะอาด มีประสิทธิภาพ และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

กระจับ (*Trapa natans* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง พบมากในจังหวัดสุพรรณบุรี, อ่างทอง และชัยนาท (บุญมา, 2550) การบริโภคกระจับจะบริโภคเพียงเนื้อด้านใน ดังนั้นในอุตสาหกรรมการผลิตกระจับกระป๋องนั้น จึงทำให้มีปริมาณเปลือกของกระจับที่เหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก ซึ่งนอกจากจะสามารถผลิตเป็นปุ๋ยได้แล้ว เปลือกกระจับยังเป็นหนึ่งในชีวมวลที่น่าสนใจ เป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสที่มีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบเหมาะสมแก่การนำมาศึกษาศักยภาพและใช้ประโยชน์ในการแปรรูปชีวมวลเป็นพลังงานคือ เอทานอล ซึ่งเป็นเชื้อเพลงที่มีบทบาทสำคัญในปัจจุบัน

จากวัตถุดิบที่กล่าวมาข้างต้น กระบวนการผลิตเอทานอลเป็นอีกส่วนสำคัญในการเพิ่มผลผลิตเอทานอล ซึ่งการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสนั้น จะประกอบไปด้วยขั้นตอนการปรับสภาพ (pretreatment) เป็นขั้นตอนที่สำคัญในการแยกหรือย่อยสลายลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากเซลลูโลส และยังเป็นการจัดระเบียบโครงสร้างของเซลลูโลส เพื่อให้เอนไซม์หรือกรดสามารถเข้าถึงและย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ได้ง่ายขึ้น และขั้นตอนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์*Saccharomyces cerevisiae* เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอล

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาศักยภาพและการใช้ประโยชน์จากเปลือกกระจับ เพื่อการผลิตเอทานอลโดยทำการศึกษาวิธีการในการปรับสภาพที่เหมาะสม ศึกษาและเปรียบเทียบกระบวนการผลิตด้วยกระบวนการย่อยและหมักน้ำตาลแบบแยก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF) และกระบวนการย่อยและหมักน้ำตาลแบบพร้อมกัน (Simultaneous Saccharification Fermentation, SSF)

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำเปลือกกระจับ (จากอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี) ไปตากแห้ง บดลดขนาดด้วยเครื่องปั่น (ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร) นำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักก่อนและหลังการอบ ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy; SEM) และวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีและพันธะเคมีในโมเลกุลด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุและสารประกอบ (Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FT-IR) เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทในโถดูดความชื้นเพื่อใช้วิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339

การเตรียมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 (จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)) ดัดแปลงมาจากวิธีการของ เวสารัช และคณะ (2556) นำเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 จากอาหารเหลว yeast malt extract medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำแรงดันสูง (autoclave) เขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 ชั่วโมง ทำการวัดจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer) ให้ได้จำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 10^7 เซลล์/มิลลิลิตร นำเชื้อยีสต์ไปใช้ในการผลิตเอทานอลต่อไป

Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University
Volume 5 Number 2 March – April 2018 ISSN 2408 - 1248

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกกระจับ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกกระจับ ดัดแปลงมาจากวิธีของ Pilanee *et al.* (2011) โดยนำเปลือกกระจับ จำนวน 20 กรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 20, 25 และ 30 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 และ 3 ชั่วโมง กรองและล้างน้ำสะอาดให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง (pH 7) นำส่วนของแข็งไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 25 (โดยน้ำหนัก) นำไปใส่ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำแรงดันสูง (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว กรองและล้างน้ำสะอาดให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง (pH 7) แยกส่วนที่เป็นของแข็งไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักก่อนและหลังการอบ ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยเครื่อง SEM และวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีและพันธะเคมีในโมเลกุลด้วยเครื่อง FT-IR เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ผ่านการปรับสภาพ) เก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกปิดสนิทในโถดูดความชื้น

4. การศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพ

4.1 การศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการย่อยและหมักน้ำตาลแบบแยก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)

การศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการ SHF ดัดแปลงมาจากวิธีของ เวสารัช และคณะ (2557) นำเปลือกกระจับที่ปรับสภาพ จำนวน 10 กรัม เติมเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า (accellerase 1500 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ 100 FPU/กรัมตัวอย่าง)(บริษัท SIAM VICTORY CHEMICALS CO., LTD) ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรด pH 4.8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่ช่วงเวลา 0 3 6 9 12 15 18 24 36 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalic colorimetric method (DNS method) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มาทำการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *s. cerevisiae* TISTR 5339 ในอาหารเหลว YM ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่ช่วงเวลาที่ 0 1 2 3 6 9 12 18 และ24 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือโดยวิธี dinitrosalic colorimetric method (DNS method) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นโดยวิธีไดโครเมท

4.2 การศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วย กระบวนการย่อยและหมักน้ำตาลแบบพร้อมกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

การศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการ SSF ดัดแปลงมาจากวิธีของเวสารัช และคณะ (2557) นำเปลือกกระจับที่ปรับสภาพ จำนวน 10 กรัม เติมเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า (accellerase 1500 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ 100 FPU/กรัมตัวอย่าง) ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรด pH 4.8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ *s. cerevisiae* TISTR 5339 ในอาหารเหลว YM ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที บ่มที่อุณหภูมิ

30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่ช่วงเวลาที่ 0 1 2 3 6 9 12 18 และ24 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือโดยวิธี dinitrosalic colorimetric method (DNS method) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นด้วยวิธีไดโครเมท

5. การวิเคราะห์

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกระจับก่อนและหลังการปรับสภาพ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC (1980) วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีและพันธะเคมีในโมเลกุล ด้วยเครื่อง Fourier transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) ใช้เทคนิค Attenuated Total Reflectance (ATR) และใช้ crystal เป็นเพชร (diamond crystal) โดยสแกนในช่วง 400 – 4000 คลื่นต่อวินาที และ resolution ที่ 4 เซนติเมตร วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Filter paper assay for saccharifying ตามวิธีของ Ghose (1987) วิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือโดยวิธี dinitrosalic colorimetric method (DNS method) ตามวิธีของ James (1995) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นโดยวิธีไดโครเมท ดัดแปลงวิธีมาจาก Seo *et al*. (2009)

6. การวางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิจัยทั้งหมด 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของสองชุดข้อมูลโดยวิธี t-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0 ($P< 0.05$)

ผลการศึกษา

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกระจับ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกระจับ พบว่า เปลือกกระจับมีปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุดคือ ร้อยละ 32.24 ของน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ ปริมาณลิกนินร้อยละ 10.25 ของน้ำหนักแห้ง และปริมาณเฮมิเซลลูโลสคือ ร้อยละ 9.23 ของน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 1) ปริมาณของลิกนินสามารถบ่งบอกถึงโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แข็งแรงของเปลือกกระจับ ซึ่งกระจับเป็นพืชที่มีเปลือกแข็ง (seed coat) เช่นเดียวกับพวกโอ๊ค และเฮเซลนัต Jing *et al*. (2015) ซึ่งหากต้องการนำมาใช้ประโยชน์จึงต้องอาศัยการปรับสภาพทั้งทางกายภาพและทางเคมีในการทำลายโครงสร้างของลิกนิน เพื่อแยกลิกนินออกจากพอลิแซ็กคาไรด์

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกระจับ

องค์ประกอบทางเคมี	ค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักแห้ง
เซลลูโลส	32.24 ± 0.12
เฮมิเซลลูโลส	9.23 ± 0.31
ลิกนิน	10.25 ± 0.37
อื่นๆ	46.81 ± 2.04

Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University
Volume 5 Number 2 March – April 2018 ISSN 2408 - 1248

2. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกกระจับ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพในสภาวะที่แตกต่างกัน จากตารางที่ 2 พบว่า การปรับสภาพสามารถแยกลิกนินออกจากเซลลูโลสได้ดี เนื่องจากโซเดียมไฮดรอกไซด์มีประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนิน ซึ่งทำให้เกิดจากการแตกหักของพันธะเอสเทอร์ระหว่างลิกนินและพอลิแซ็คคาไรด์ Yun *et al.* (2016) ส่งผลให้มีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (ชุดควบคุม) ที่มีปริมาณเซลลูโลสเป็นร้อยละ 32.24 ± 0.12 ของน้ำหนักแห้ง สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพเปลือกกระจับคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 30 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพราะได้ปริมาณเซลลูโลสเป็นร้อยละ 61.05 ± 0.78 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงที่สุด และมีประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนิน เซลลูโลส ภายหลังการปรับสภาพ พบว่า น้ำหนักที่ปรากฏนั้นเหลือเพียงร้อยละ 42 ของน้ำหนักทั้งหมด โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) แสดงให้เห็นว่า ในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลางนั้น มีผลทำให้ลิกนินและของแข็งบางส่วนถูกชะล้างหรือสูญเสียไปด้วย

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกระจับก่อนและหลังการปรับสภาพ

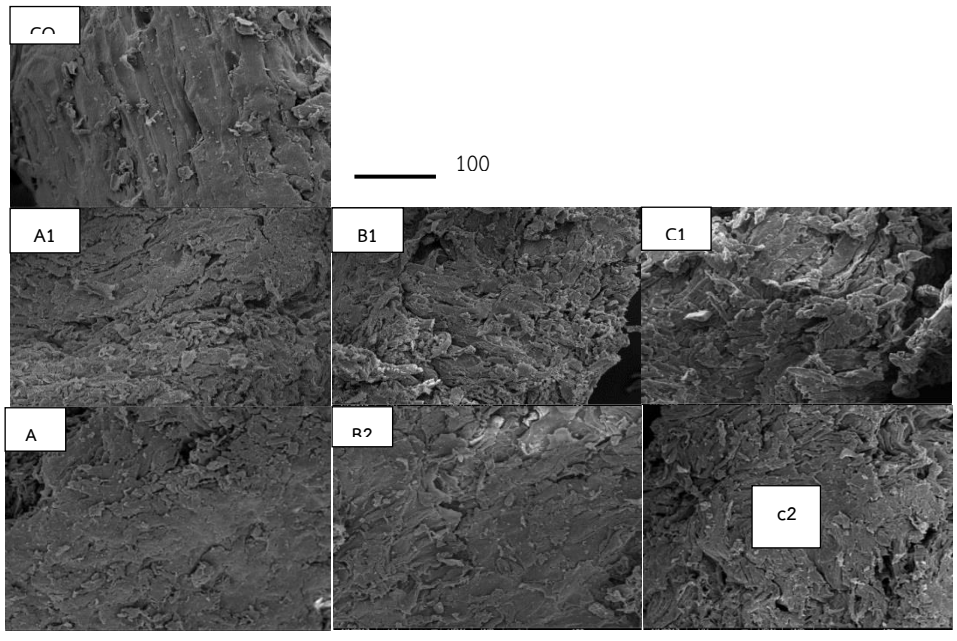
วิธีการปรับสภาพ	เวลา (ชั่วโมง)	องค์ประกอบทางเคมี (ค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักแห้ง)			ร้อยละน้ำหนักที่เหลืออยู่
		เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	
ชุดควบคุม	-	32.24 ± 0.12^{e}	9.23 ± 0.31^{a}	10.25 ± 0.37^{e}	100.00 ± 0.00^{b}
NaOH ร้อยละ20	2	58.74 ± 0.35^{b}	5.58 ± 0.49^{b}	8.71 ± 0.37^{c}	42.48 ± 0.40^{a}
NaOH ร้อยละ25	2	59.43 ± 0.88^{b}	3.02 ± 0.38^{c}	8.24 ± 0.69^{cd}	42.32 ± 0.23^{a}
NaOH ร้อยละ30	2	61.05 ± 0.78^{a}	3.05 ± 0.13^{c}	7.26 ± 0.71^{d}	42.77 ± 0.50^{a}
NaOH ร้อยละ20	3	51.11 ± 0.38^{d}	2.26 ± 0.24^{cd}	7.67 ± 0.27^{a}	42.23 ± 0.30^{a}
NaOH ร้อยละ25	3	55.45 ± 0.74^{c}	1.64 ± 0.74^{d}	4.74 ± 0.05^{b}	42.67 ± 0.46^{a}
NaOH ร้อยละ30	3	55.28 ± 0.74^{c}	2.55 ± 0.84^{cd}	4.01 ± 0.16^{b}	42.91 ± 0.68^{a}

หมายเหตุ: $^{a, b, c,..}$ แสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ในแต่ละคอลัมน์

ผลการทดลองใน ข้อ 2 สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพในสภาวะที่แตกต่างกันด้วย เครื่องSEM (ภาพที่ 1A-C) ซึ่งพบว่า ภายหลังการปรับสภาพทุกสภาวะนั้นเส้นใยมีลักษณะแตกออก มีลักษณะขรุขระ พื้นผิวด้านนอกไม่สม่ำเสมอ และแบ่งแยกชั้นของเส้นใยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ผ่านการปรับสภาพ)

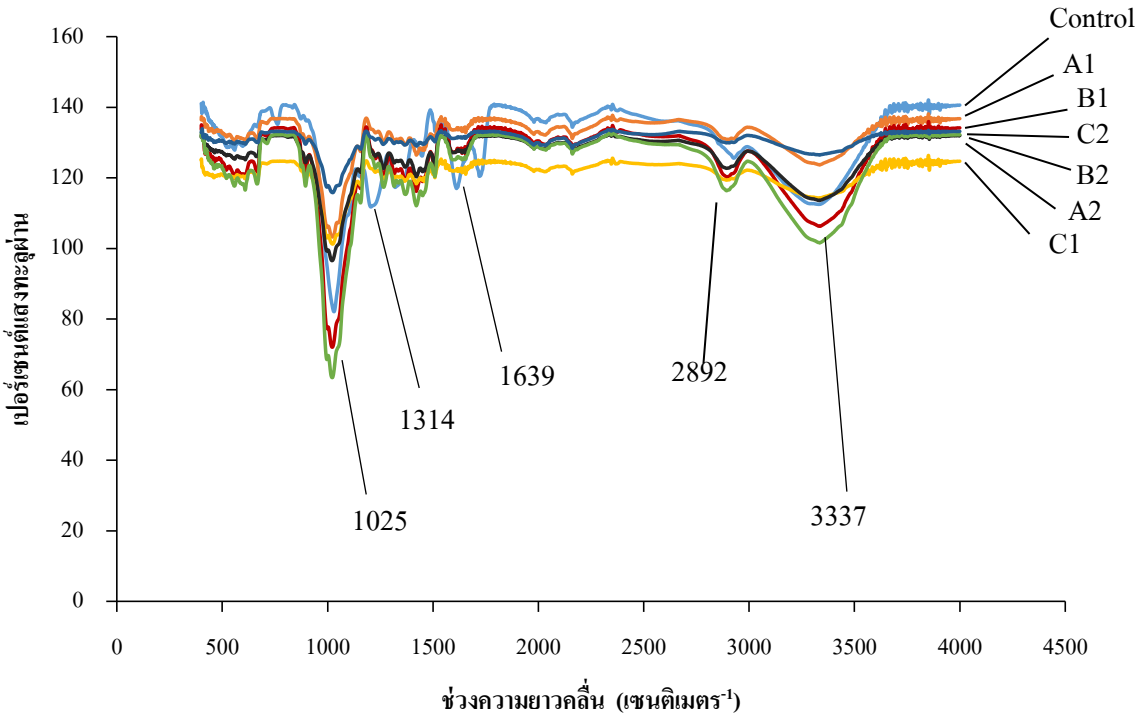
การปรับสภาพทำให้วัสดุมีความพรุนเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saksit *et al.* (2015) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของการปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับความร้อนชื้นในฟางข้าว พบว่า การปรับสภาพจะช่วยกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส เมื่อโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสกับลิกนิน ถูกทำลายลง จะทำให้เอนไซม์เข้าถึงโครงสร้างภายในของเซลลูโลสได้ง่าย จึงส่งผลให้เอนไซม์สามารถย่อยเซลลูโลสผลิตน้ำตาลได้มากขึ้น

นอกจากนี้ยังพบว่าผลการปรับสภาพของเปลือกกระจับ (ตารางที่ 2) มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาโครงสร้างทางเคมีและพันธะเคมีในโมเลกุลของเปลือกกระจับชุดผ่านการปรับสภาพในสภาวะที่แตกต่างกันด้วยเครื่อง FT-IR (ภาพที่ 2) จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงจุดยอดของเปลือกกระจับที่ปรับสภาพในสภาวะแตกต่างกัน ในช่วงความยาวคลื่น 3,600 – 3,200 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ -OH และในช่วงความยาวคลื่น 3,000 – 2,800 cm^{-1} แสดงการสั่นของ aliphatic -CH_x ซึ่งเป็นโครงสร้างของเซลลูโลส เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า จุดยอดทั้ง 2 จุดยังคงปรากฏอยู่ แสดงให้เห็นว่า การปรับสภาพในสภาวะที่แตกต่างไม่มีผลต่อเซลลูโลส ในช่วงความยาวคลื่น 1,765 – 1,715 cm^{-1} แสดงหมู่ C=O ในเฮมิเซลลูโลส พบว่า จุดยอดภายหลังการปรับสภาพนั้นลดลง แสดงถึงการทำลายโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส ทำนองเดียวกัน ในช่วงความยาวคลื่น 1,100 –1,000 cm^{-1} เป็นช่วงการวิเคราะห์ของเฮมิเซลลูโลส แสดงถึงการโค้งงอของหมู่ฟังก์ชั่น C-OH ในเฮมิเซลลูโลส ส่งผลในทางเดียวกัน คือเกิดการทำลายโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส ขณะที่ช่วงความยาวคลื่น 1,250 cm^{-1} แสดงหมู่ของ C-O-C ใน Arty-alkyl ether ของลิกนิน ทำให้เห็นว่า การปรับสภาพนั้น สามารถทำลายโครสร้างและกำจัดลิกนิน จากการศึกษาการปรับสภาพเปลือกกระจับในสภาวะที่แตกต่างกัน พบว่า เปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพ ส่งผลให้ปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลสลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh *et al.* (2017) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการปรับสภาพเปลือกหมากด้วยการใช้ความร้อนและคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่าง พบว่า การใช้ความร้อนร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์จะส่งผลต่อโครงสร้างทางเคมีของตัวอย่าง โดยสภาวะที่เป็นด่างนั้นจะส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี ทำให้หมู่ฟังก์ชั่นที่พบในองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่าง เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเกิดการเปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างทางกายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 200 เท่า ของเปลือกกระจับชุดควบคุม (co) และชุดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ (A) ร้อยละ 20, (B) ร้อยละ 25 และ (C) ร้อยละ 30 และเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาต่างกัน คือ (1) 2 ชั่วโมง และ (2) 3 ชั่วโมง ตามลำดับ

Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University
Volume 5 Number 2 March – April 2018 ISSN 2408 - 1248



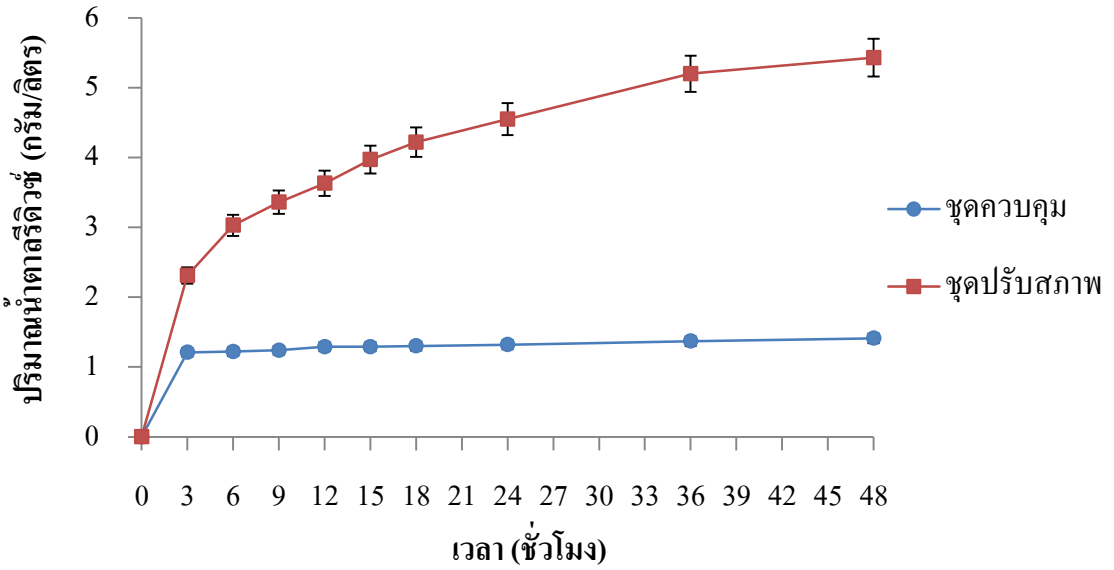
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีและพันธะเคมีในโมเลกุลด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) ของเปลือกกระจับชุดควบคุม (control) และชุดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ (A) ร้อยละ 20, (B) ร้อยละ 25 และ (C) ร้อยละ 30 และเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาต่างกัน คือ (1) 2 ชั่วโมง และ (2) 3 ชั่วโมง ตามลำดับ

3. ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.1 ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการย่อยและหมักน้ำตาลแบบแยก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพ โดยการย่อยและหมักน้ำตาลแบบแยก (SHF) จากภาพที่ 3 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายเปลือกกระจับที่ผ่านปรับสภาพมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงกว่าชุดควบคุม ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ย่อยสลายพอลิเมอร์ของเซลลูโลสซึ่งเป็นโมเลกุลสายโซ่ยาว ให้เปลี่ยนเป็นโมเลกุลเดี่ยว ผ่องศรี และคณะ (2555) และพบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมงนั้น เปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเป็น 5.43 กรัม/ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาอื่นๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ส่วนกระบวนการผลิตเอทานอล จากตารางที่ 3 พบว่า เปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 1.90 กรัม/ลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่เปลือกกระจับชุดควบคุม ได้ปริมาณ เอทานอลสูงสุดเป็น 0.28 กรัม/ลิตร แสดงเห็นได้ว่าเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพนั้น ส่งผลให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น ทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าชุดควบคุม ทำให้เชื้อยีสต์สามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไปหมักเพื่อผลิตเป็นเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากเปลือกกระจับชุดควบคุมและชุดผ่านการปรับสภาพ ย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า (accellerase 1500 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ 100 FPU/กรัมตัวอย่าง) เขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University
Volume 5 Number 2 March – April 2018 ISSN 2408 - 1248

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือและปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ SHF ของเปลือกกระจับชุดควบคุมและชุดผ่านการปรับสภาพ โดยย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า จากนั้นนำไปหมักโดยเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR5339 เขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ(กรัม/ลิตร)		ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น(กรัม/ลิตร)	
	ชุดควบคุม	ชุดผ่านการปรับสภาพ	ชุดควบคุม	ชุดผ่านการปรับสภาพ
0	$1.67 \pm 0.01^{a,b}$	$5.47 \pm 0.05^{a,a}$	$0.00 \pm 0.00^{h,a}$	$0.00 \pm 0.00^{i,a}$
1	$1.64 \pm 0.03^{a,b}$	$4.91 \pm 0.02^{b,a}$	$0.00 \pm 0.00^{h,b}$	$0.12 \pm 0.03^{h,a}$
2	$1.56 \pm 0.02^{b,b}$	$4.60 \pm 0.03^{c,a}$	$0.02 \pm 0.01^{g,b}$	$0.28 \pm 0.06^{g,a}$
3	$1.35 \pm 0.09^{c,b}$	$4.31 \pm 0.07^{d,a}$	$0.07 \pm 0.03^{f,b}$	$0.38 \pm 0.01^{f,a}$
6	$1.19 \pm 0.04^{d,b}$	$3.49 \pm 0.04^{e,a}$	$0.12 \pm 0.04^{ef,b}$	$0.70 \pm 0.09^{e,a}$
9	$1.06 \pm 0.03^{e,b}$	$1.56 \pm 0.11^{f,a}$	$0.17 \pm 0.01^{de,b}$	$1.40 \pm 0.05^{d,a}$
12	$0.97 \pm 0.05^{fg,b}$	$1.22 \pm 0.01^{g,a}$	$0.20 \pm 0.03^{c,b}$	$1.55 \pm 0.02^{c,a}$
18	$0.95 \pm 0.01^{g,b}$	$1.13 \pm 0.06^{g,a}$	$0.22 \pm 0.05^{b,b}$	$1.67 \pm 0.07^{b,a}$
24	$0.80 \pm 0.06^{h,b}$	$1.04 \pm 0.02^{g,a}$	$0.28 \pm 0.02^{a,b}$	$1.90 \pm 0.05^{a,a}$

หมายเหตุ: $^{a, b, c,..}$ แสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในแต่ละคอลัมน์

3.2 ผลการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการย่อยและหมักน้ำตาลแบบพร้อมกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 เวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา 2 ชั่วโมงด้วยกระบวนการ SSF จากตารางที่ 4 พบว่าเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพสามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่าเปลือกกระจับชุดควบคุม โดยเปลือกกระจับชุดควบคุมมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 1.55 กรัม/ลิตร และมีอัตราการถูกใช้ไปของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงช้า โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เป็น 0.33 กรัม/ลิตร ในขณะที่เปลือกกระจับชุดที่ผ่านการปรับสภาพ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 0.89 กรัม/ลิตร และและมีอัตราการถูกใช้ไปของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป พบว่า ที่ 24 ชั่วโมงมีปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 1.94 กรัม/ลิตร จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพนั้นมีผลทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น จึงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าชุดควบคุม

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือและปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ SSF ของเปลือกกระจับชุดควบคุมและชุดที่ผ่านการปรับสภาพ โดยย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า พร้อมหมักโดยเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 เขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (กรัม/ลิตร)		ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น (กรัม/ลิตร)	
	ชุดควบคุม	ชุดผ่านการปรับสภาพ	ชุดควบคุม	ชุดผ่านการปรับสภาพ
0	$1.55 \pm 0.06^{a,a}$	$0.89 \pm 0.04^{bcd,b}$	$0.00 \pm 0.00^{b,a}$	$0.00 \pm 0.00^{g,a}$
1	$1.57 \pm 0.02^{a,a}$	$0.95 \pm 0.01^{abc,b}$	$0.00 \pm 0.00^{b,b}$	$0.02 \pm 0.09^{g,a}$
2	$1.63 \pm 0.10^{a,a}$	$1.04 \pm 0.01^{a,b}$	$0.12 \pm 0.21^{ab,b}$	$0.17 \pm 0.09^{g,a}$
3	$1.57 \pm 0.02^{a,a}$	$1.01 \pm 0.07^{ab,b}$	$0.17 \pm 0.10^{ab,b}$	$0.46 \pm 0.04^{f,a}$
6	$1.39 \pm 0.03^{b,a}$	$0.90 \pm 0.16^{bcd,b}$	$0.19 \pm 0.09^{ab,b}$	$0.72 \pm 0.09^{e,a}$
9	$0.96 \pm 0.02^{c,a}$	$0.85 \pm 0.06^{cd,b}$	$0.21 \pm 0.19^{ab,b}$	$0.97 \pm 0.24^{d,a}$
12	$0.92 \pm 0.06^{cd,a}$	$0.78 \pm 0.04^{de,b}$	$0.24 \pm 0.13^{ab,b}$	$1.19 \pm 0.07^{c,a}$
18	$0.86 \pm 0.07^{de,a}$	$0.72 \pm 0.04^{ef,b}$	$0.27 \pm 0.01^{ab,b}$	$1.42 \pm 0.06^{b,a}$
24	$0.78 \pm 0.02^{e,a}$	$0.64 \pm 0.06^{f,b}$	$0.33 \pm 0.24^{a,b}$	$1.94 \pm 0.06^{a,a}$

หมายเหตุ: $^{a, b, c,...}$ แสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในแต่ละคอลัมน์

จากการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพ 2 กระบวนการ คือ SHF และ SSF พบว่า ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเอทานอลจากกระบวนการ SSF สูงกว่าปริมาณเอทานอลจากกระบวนการ SHF คิดเป็น 1.94 กรัม/ลิตร และ1.90 กรัม/ลิตร ตามลำดับ บ่งบอกถึงศักยภาพของกระบวนการ SSF ในการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Maria *et al*. (2015) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอทานอลจากพืชคาร์ดูน (*cynara cardunculus*) ด้วยกระบวนการ SHF และ SSF พบว่ากระบวนการ SSF ได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการ SHF คิดเป็น 20.1

จากวิจัยในครั้งนี้เมื่อพิจารณาในเรื่องของต้นทุนในการผลิตและขั้นตอนที่ใช้ในการหมัก พบว่ากระบวนการ SSF มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลจากเปลือกกระจับมากกว่ากระบวนการ SHF เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ใช้ cellulotic enzyme ย่อยสลายร่วมกับการใช้เชื้อยีสต์ในการหมัก เป็นการลดภาวะการสะสมน้ำตาลในระหว่างกระบวนการ ทำให้มีอัตราการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น เชื้อยีสต์จึงสามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายมาใช้เพื่อผลิตเอทานอลได้สูงขึ้น ซึ่งนอกจากจะเป็นกระบวนการที่สะดวกและลดขั้นตอนในการหมักแล้ว ยังสามารถลดต้นทุนการผลิตอีกด้วย ชริดา และนารีรัตน์(2551); เวสารัช และคณะ (2557)

สรุปผลการวิจัย

จากศึกษาวิจัยในครั้งนี้พบว่า เปลือกกระจับมีปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุดคือ ร้อยละ 32.24 ของน้ำหนักแห้ง โดยสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกกระจับ คือ การปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และกำจัดลิกนิน ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้น คิดเป็นร้อยละ 61.05 ของน้ำหนักแห้ง เปรียบเทียบกับเปลือกกระจับที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และจากการศึกษาการผลิตเอทานอล พบว่าปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ผลิตได้จากเปลือกกระจับที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการ SSF ให้ผลใกล้เคียงกับกระบวนการ SHF คิดเป็น 1.94 กรัม/ลิตร และ 1.90 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งหากมองในแง่ของต้นทุนการผลิตและขั้นตอนการดำเนินการแล้ว พบว่า กระบวนการ SSF จะเป็นกระบวนการที่สะดวกและลดขั้นตอนในการหมักมากกว่ากระบวนการ SHF ทั้งก็ยังขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ที่แตกต่างกันอีกด้วย

จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เปลือกกระจับเป็นอีกหนึ่งวัตถุดิบที่เหลือทิ้งจากภาคเกษตรกรรมที่มีศักยภาพสามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอล ซึ่งหากมีการศึกษาในเชิงลึก หรือพัฒนาต่อยอดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต ก็จะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะสามารถพัฒนาได้ในระดับที่สูงขึ้นไปต่อในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากหน่วยวิจัยจุลินทรีย์เพื่อการเกษตร คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

ชริดา ปุกหุต และนารีรัตน์ มูลใจ. (2551). “**การผลิตเอทานอลจาดวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยวิธีการย่อยสลายเซลลูโลสโดยเชื้อรา**”. โครงการวิจัย, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บุญมา นิยมวิทย์. (2550). “กระจับพืชโบราณอาหารพื้นบ้าน”. **อาหาร (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)** 37 (4):315-317.

สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน. 2554. ชีวมวลจากวัสดุเหลือใช้สู่พลังงานทดแทน. **วารสารนโยบายพลังงาน** 93: 13-17.

รัชพล พะวงศ์รัตน์. (2554). “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลเสทผักตบชวาโดยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตเอทานอล” **Veridian E-Journal SU** 4,1: 891-901.

รัชพล พะวงศ์รัตน์. (2558). “กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส”. **Veridian E-Journal SU** 2, 1: 143-157.

เวสารัช สุนทรชัยบรูณ์ และ รัชพล พะวงศ์รัตน์. (2556). การใช้ประโยชน์วัสดุพยุงจากขยะธรรมชาติสำหรับการตรึงเซลล์ และประยุกต์ใช้ในการผลิตเอทานอล. **Veridian E-Journal, SU** 6(1):795-807

เวสารัช สุนทรชัยบูรณ์, จิราภรณ์ แก้วใสเสียง และรัชพล พะวงศ์รัตน์. (2557). “ศักยภาพของปอคิวบา (*Hibiscus cannabisnus* L.) ในการผลิตเอทานอล โดยยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5019”. **วารสารเกษตรพระพิรุณ** 11 (2): 167-174.

ผ่องศรี ศิวราศักดิ์, ณัฐวรรณ คุปพิทยานันท์, สมพร เพลินใจ และประดับรัฐ ประจันเขตต์. (2555). “กระบวนการหมักเอทานอลแบบรวมปฏิกิริยาสองขั้นจากกากผลไม้เหลือทิ้งอุตสาหกรรมเกษตรโดยใช้เอนไซม์ผสมที่ได้จากการหมักแข็งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเดี่ยว”. **รายงานวิจัย**, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ภาษาต่างประเทศ

AOAC. (1980). “**Official methods of analysis**. 13th ed”. AOAC, Washington, DC.

Ghose. T.K. (1987). “Measurement of cellulose activities”. **Pure&Appl. Chem**. 59 (2): 257-268.

Jame, C.S. (1995). **Analytical chemistry of foods**. London: Blackie A&P.

Jing Yang, Jianchun Jiang, Ning Zhang,Chuncun Miao, Min Wei and Jian Zhao. 2015. “Enhanced enzyme saccharification of Sawtooth Oak shell using dilute alkali pretreatment”. **Fuel** 139: 102-106.

Maria C. Fernandes, Miguel D. Ferro, Ana F.C. Paulino, Joana A.S. Mendes, Janis Gravitis, Dmitry V. Evtuguin and Ana M.R.B. Xavier. (2015). “Enzymatic saccharification and bioethanol production from *cynara cardunculus* pretreated by steam explosion”. **Bioresource Technology** 186: 309-315.

Pilanee Vaithanomsat, Waraporn Apiwatanapiwat, Nanthaya Chuchuent, Wuttinunt Kongtud and Sarima Sundhrarajun. (2011). "The potential of coconut Husk utilization for bioethanol production". **Kasetsart J. (Nat. Sci)** 45: 159-164.

Singh.R.D., K. Bhuyan, J.Banerjee, J. Muir and A. Arora. (2017). "Hydrothermal and microwave assisted alkali pretreatment for fractionation of arecanut husk". **Industrial Crops and Products** 102: 65-74.

Saksit Imman, Jantima Arnthong, Vorakan Burapatana, Verawat Champreda and Navadol Laosiripojana. (2015). "Influence of alkaline catalyst addition on compressed liquid hot water pretreatment of rice straw". **Chemical Engineering Journal** 278:85-91.

Seo. B.H., H. Kim., P. Lee. and K.H. Jung. (2009). "Measurement of ethanol concentration using solvent extraction and dichromate oxidation and its application to bioethanol production process". **J. Ind. Microbiol. Biotechnol** 36: 285-292.

Yun-Yun L., J-L. Xu, Y. Zhang, C-Y. Liang, M-C. He, Z-H. Yuan and J. Xie. (2016). "Reinforced alkali-pretreatment for enhancing enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse". **Fuel Processing Technology** 143: 1-6.