



การศึกษาความเป็นไปได้ของการหมักเอทานอลจากหญ้าขจรจบและวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้

อภิญา จันทรวิวัฒนะ

อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตรและการจัดการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตปทุมธานี

ปิยะรัชต์ กุลเมธี*

อาจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมและเทคโนโลยีการพัฒนามลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตปทุมธานี

* ผู้รับผิดชอบประสานงาน โทรศัพท์ 0-3721-7311 ต่อ 7913 อีเมล: piyarachk@kmutnb.ac.th

รับเมื่อ 20 มีนาคม 2558 ตอบรับเมื่อ 29 มิถุนายน 2558 เผยแพร่ออนไลน์ 22 ธันวาคม 2558

© 2016 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

การศึกษาการหมักเอทานอลจากชีวมวลที่มีมากในจังหวัดปทุมธานี ได้แก่ หญ้าขจรจบ และวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้ ซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลสเท่ากับ $24.8 \pm 1.1\%$ และ $2.5 \pm 0.5\%$ กรัม/กรัม ตามลำดับ และมีปริมาณลิกนินเท่ากับ $22.0 \pm 1.8\%$ และ $15.9 \pm 1.5\%$ กรัม/กรัม ตามลำดับ กระบวนการย่อยสลายโครงสร้างของชีวมวลให้กลายเป็นเอทานอลนั้นประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้ 1) กระบวนการแยกลิกนินด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้เป็นเซลลูโลส 2) กระบวนการไฮโดรไลซ์เซลลูโลสได้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (GC220) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำเร็จรูปจากเชื้อ *Trichoderma reesei* 3) กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้กลายเป็นเอทานอลโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5049 ด้วยการหมักแบบเบ็ดเสร็จ (Batch Fermentation) จากการทดลองพบว่า หญ้าขจรจบและวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้เมื่อผ่านกระบวนการแยกลิกนินและไฮโดรไลซ์เซลลูโลสให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสนั้นจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 34.1 ± 0.9 และ 34.7 ± 1.1 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักด้วยยีสต์โดยใช้ระยะเวลา 7 วัน พบว่าหญ้าขจรจบและวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้ผลิตเอทานอลได้ 0.3% และ 0.5% โดยปริมาตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: การหมักเอทานอล หญ้าขจรจบ วัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้



The Feasibility Study of Ethanol Fermentation from Biomass: Feather Pennisetum Grass (*Pennisetum pedicellatum* Trin.) and Residual Bamboo Shoot

Apinya Jantarawattana

Lecturer, Department of Agro-Industry Technology and Management, Faculty of Agro-industry, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Prachinburi Campus, Prachin Buri, Thailand

Piyarach Kullamethee*

Lecturer, Innovation and Technology of Product Development, Faculty of Agro-industry, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Prachinburi Campus, Prachin Buri, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 0-3721-7311 Ext. 7913, E-mail: piyarachk@kmutnb.ac.th
Received 20 March 2015; Accepted 29 June 2015; Published online: 22 December 2015
© 2016 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

The aim of this research was to study ethanol fermentation from biomasses: Feather pennisetum grass (*Pennisetum pedicellatum* Trin.) and residual bamboo shoot in Prachinburi province. Feather pennisetum grass and residual bamboo shoot contained $24.8 \pm 1.3\%$ and $2.5 \pm 0.5\%$ g/g cellulose, and $22.0 \pm 1.8\%$ and $15.9 \pm 1.5\%$ g/g lignin, respectively. The ethanol fermentation consisted of three stages. Firstly, biomass was pretreated with hydrogen peroxide to remove lignin (delignification). Secondly, cellulose was hydrolysed to obtain glucose using cellulase enzyme (GC220: instant enzyme from *Trichoderma reesei*). Lastly, glucose was converted into ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5049 using batch fermentation. The delignification and cellulose hydrolysis processes of Feather pennisetum grass and residual bamboo shoot could provide 34.1 ± 0.9 and 34.7 ± 1.1 g/l initial reducing sugar, respectively. After seven days of the batch fermentation, Feather pennisetum grass and residual bamboo shoot gave 0.3% and 0.5% ethanol, respectively by volume.

Keywords: Ethanol Fermentation, Feather Pennisetum Grass (*Pennisetum pedicellatum* Trin.), Residual Bamboo Shoot

1. บทนำ

ปัจจุบันนี้ปัญหาการขาดแคลนพลังงานนับว่าเป็นปัญหาสำคัญที่จำเป็นต้องตระหนักถึงเป็นอันดับต้นๆ จึงเป็นเหตุผลที่กระตุ้นให้มีการศึกษาวิจัยด้านพลังงาน และพลังงานทดแทนเพื่อรองรับปริมาณการใช้พลังงานที่นับวันยิ่งทวีคูณความต้องการขึ้นอย่างรวดเร็ว เอทานอลเป็นพลังงานทางเลือกหนึ่งที่สามารถแก้ไขปัญหาวิกฤตขาดแคลนพลังงานด้านเชื้อเพลิงได้เป็นอย่างดี สามารถนำมาผสมกับน้ำมันเชื้อเพลิงในการขับเคลื่อนเครื่องยนต์ หรือนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เพื่อเป็นเชื้อเพลิงทดแทนได้อีกทางหนึ่ง [1], [2] เอทานอลสามารถผลิตได้จากการหมักน้ำตาลหรือชีวมวล (Biomass) ใดๆ ที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบโดยเฉพาะจากพืชซึ่งมีน้ำตาลจำพวกเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณสูง ซึ่งจัดเป็นวัสดุ Cellulosic Biomass [3], [4]

มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการผลิตเอทานอลโดยนำพืชหลากหลายชนิดมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้น เช่น Swain และคณะ [5] ศึกษาการหมักเอทานอลจากดอกไม้ *Madhuca latifolia* L. ซึ่งเป็นพืชที่พบในแถบอินเดีย โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) พบว่าการหมักแบบเซลล์อิสระ (Free Cell) จากดอกสด มีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 193 กรัม/กิโลกรัม และสำหรับวัตถุดิบที่เก็บไว้ 12 เดือน เมื่อนำมาผลิตเอทานอลจะให้ปริมาณเท่ากับ 148 กรัม/กิโลกรัม นอกจากนี้ Benchawattananon [6] ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากหยวกกล้วยโดยยีสต์ด้วยวิธีการหมักแบบเบ็ดเสร็จ (Batch Fermentation) พบว่าการหมักหยวกกล้วยโดยใช้กรดเกลือย่อยเซลลูโลสก่อนเป็นเวลา 15–30 นาที ที่ pH 4.5–5 ระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 20 ปริกซ์ ใช้ระยะเวลาหมัก 5–7 วัน ได้เอทานอล 80.7% (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นจึงมีพืชเขตร้อนเป็นพื้นที่กว้าง ซึ่งพืชเหล่านี้เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และทำลายไถยาก ก่อให้เกิดปัญหาใน

พื้นที่เกษตรกรรมทั่วประเทศ หญ้าขจรจบเป็นหนึ่งในพืชชนิดที่มักก่อให้เกิดปัญหาในพื้นที่เกษตรกรรม และพบได้ทั่วไปในประเทศไทย เนื่องจากไม่มีศัตรูตามธรรมชาติ [7] การปราบวัชพืชประเภทนี้โดยทั่วไปมักใช้สารเคมีซึ่งทำให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างและสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากนี้วัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งผลผลิตทางการเกษตรก่อนนำออกจำหน่ายหรือแปรรูปนั้นยังเป็นหนึ่งในกระบวนการที่ก่อให้เกิดขยะจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตัดแต่งหน่อไม้ในเขตพื้นที่จังหวัดปราจีนบุรี และเนื่องด้วยองค์ประกอบของพืชเหล่านี้ส่วนมากเป็นน้ำตาลเซลลูโลส [8], [9] ดังนั้นวัตถุดิบเหล่านี้จึงอาจมีความเป็นไปได้ในการนำมาศึกษาทดลองเพื่อใช้ผลิตเป็นเอทานอล

การผลิตเอทานอลจากหญ้าขจรจบหรือเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้อาจจะช่วยให้เกิดการจัดการทรัพยากรแบบ Win-Win โดยได้ประโยชน์ทั้งในด้านการผลิตพลังงานทางเลือกเพื่อแก้ไขและส่งเสริมการผลิตเอทานอลซึ่งเป็นเชื้อเพลิงที่ประเทศไทยมีศักยภาพสูงด้านวัตถุดิบในการผลิต และยังได้ประโยชน์ในด้านการลดการนำเข้าสารเคมี การใช้สารเคมีเพื่อปราบวัชพืชหรือการกำจัดขยะ ซึ่งจะสามารถลดต้นทุนในการดำเนินงานได้เป็นอย่างมากหากท้ายที่สุดมีการส่งเสริมการผลิตพลังงานทดแทนโดยใช้ชีวมวลเหล่านี้เป็นวัตถุดิบในการผลิต

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดลองผลิตเอทานอลจากหญ้าขจรจบและเพื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ผลิตจากหญ้าขจรจบกับเศษวัสดุที่เหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้ และกำหนดขอบเขตการวิจัยคือ ผลิตเอทานอลจากหญ้าขจรจบทั้งต้นแบบแห้ง โดยใช้วิธีการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. Cerevisiae* TISTR5049 ในระบบการหมักแบบ Batch Fermentation เลี้ยงเชื้อแบบอิสระ (Free Cell) และวิเคราะห์หาปริมาณ (Yield) ของการผลิตเอทานอลจากต้นหญ้าขจรจบเปรียบเทียบกับปริมาณเอทานอลจากวัตถุดิบชนิดอื่นๆ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้คือเศษวัสดุที่เหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้

2. วัสดุ อุปกรณ์

2.1 วัสดุ

1) หย้าขจรจบทั้งต้นแบบแห้งที่เก็บเกี่ยวในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือวิทยาเขตปทุมธานี

2) วัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้ จากตลาดวงเวียนนเรศวร ต.เนินหอม อ.เมือง จ.ปทุมธานี

3) *S. cerevisiae* TISTR5049 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย)

4) 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)

5) Yeast extract-Malt extract (YM) broth

6) เอนไซม์เซลลูเลสสำเร็จรูปจากเชื้อ *Trichoderma reesei* (GC220) (Genencor International Inc., อเมริกา)

2.2 อุปกรณ์

1) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง (Ohaus รุ่น Explorero EP 2140, สวิตเซอร์แลนด์)

2) เครื่องดูดสุญญากาศ (EYELA รุ่น A-35, ญี่ปุ่น)

3) Ebulliometer (Dujardin-salleron รุ่น Seul Veritable, ฝรั่งเศส)

4) Hand Refractometer (Alago รุ่น N-1E, ญี่ปุ่น)

5) pH Meter (Inolab รุ่น pH level1, เยอรมัน)

6) Spectrophotometer (Optima รุ่น Sp-3000 plus, ญี่ปุ่น)

7) อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3. วิธีการวิจัย

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสและลิกนิน (ดัดแปลงจาก Van Soest and Wine [10])

1) ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ประมาณ 1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 600 มิลลิลิตร

2) เติมน้ำละลาย Acid Detergent 100 มิลลิลิตร และ Decahydronaphthalene 2 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนเดือดเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นลดความร้อนลงให้

เดือดเบาๆ เป็นเวลา 60 นาที

3) กรองผ่านครุชชีเบลที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว (W_1) โดยใช้แรงดูดสุญญากาศเบาๆ ล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ในบีกเกอร์ให้หมดด้วยน้ำร้อน 3-5 ครั้ง ขณะล้างให้เขี่ยก้อนเยื่อที่อยู่ในครุชชีเบลให้กระจายออกโดยใช้แท่งแก้ว หลังจากนั้นจึงดูดด้วยเครื่องดูดสุญญากาศ และล้างต่อด้วยอะซิโตนปริมาณเล็กน้อย 2-3 ครั้ง แล้วใช้เครื่องดูดสุญญากาศดูดให้แห้ง

4) นำครุชชีเบลไปอบที่ 100°C นาน 12 ชั่วโมง หรืออบจนกระทั่งชั่งน้ำหนักได้คงที่ (W_2)

5) นำครุชชีเบลวางในภาชนะที่แห้งสนิท เติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (ก่อนใช้ให้แช่เย็นอุณหภูมิประมาณ 15°C) ใส่ลงในครุชชีเบลประมาณครึ่งหนึ่ง คนด้วยแท่งแก้ว เพื่อให้เยื่อเปียกอย่างทั่วถึง เติมน้ำกรดลงไปทุกๆ 1 ชั่วโมง พร้อมคนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

6) นำมากรองเอากรดออกโดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศ แล้วล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด

7) อบครุชชีเบลที่ได้ที่อุณหภูมิ 100°C ซ้ำอีกครั้ง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น และนำไปชั่งน้ำหนัก (W_3)

8) นำครุชชีเบลไปเผาที่อุณหภูมิ 500°C นาน 2 ชั่วโมง หรือจนกว่าไม่มีคาร์บอน ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_4) การคำนวณมีดังนี้

$$\text{ADF} = [(W_2 - W_1) \times 100] / S$$

$$L = [(W_3 - W_4) \times 100] / S$$

$$C = \text{ADF} - L$$

โดยที่

ADF = Acid Detergent Fiber (%)

C = ปริมาณเซลลูโลส (%)

L = ปริมาณลิกนิน (%)

W_1 = น้ำหนักครุชชีเบลเปล่า (กรัม)

W_2 = น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างหลังผ่านสารละลาย Acid Detergent (กรัม)

W_3 = น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างหลังผ่านกรด

ซัลฟิวริก (กรัม)

W_4 = น้ำหนักซูชิเบิลและตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

S = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

3.2 การหมักหญาจรรจบ และวัสดุเศษเหลือจากการ การตัดแต่งหน่อไม้เพื่อผลิตเอทานอลและการเก็บเกี่ยว ผลิตภัณฑ์

3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้น

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักเอทานอล *S. cerevisiae* TISTR5049 การเตรียมเชื้อตั้งต้นสำหรับใช้ในการหมักเอทานอลจะถ่ายเชื้อลงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract-Malt Extract (YM) Broth ป่มเชื้อ 24 ชั่วโมง ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C นำมาใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้น

3.2.2 การเตรียมวัสดุชีวมวลเพื่อหมักเอทานอล

1) ในการเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอลนั้นจะมีกระบวนการกำจัดสารในกลุ่มลิกนินออกก่อน โดยใช้วิธี Alkaline Pretreatment [11] เริ่มโดยการแช่วัตถุดิบในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2% pH 13 นาน 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วล้างด้วยการให้น้ำผ่านโดยใช้ น้ำกลั่น นานประมาณ 30 นาที อบกากที่ 100°C ประมาณ 12 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักแห้งหลังจากการสกัดลิกนิน

2) การผลิตเอทานอล โดยใช้วิธีการหมักวัตถุดิบด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในระบบการหมักแบบ Batch Fermentation เลี้ยงเชื้อแบบ Free Cell โดยใช้กากแห้ง 5.0% (กาก: 0.037 M Acetate Buffer pH 4.8) ใส่ในขวดฝาเกลียว นำไปฆ่าเชื้อที่ 121°C นาน 15 นาที เติมเอนไซม์เซลลูเลส (GC220) เพื่อย่อยโครงสร้างเซลลูโลสของชีววัสดุที่ศึกษาให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กบางส่วนในอัตราส่วนตัวอย่าง 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อเอนไซม์ 0.0003 กรัม ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง เติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ 5.0% ต่อ batch หมักเป็นเวลา 7 วัน โดยเก็บตัวอย่างน้ำหมักมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณแอลกอฮอล์ ทุก ๆ 2 วัน

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณ แอลกอฮอล์

3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS Colorimetric [12] ในระหว่างการหมักทุก ๆ 2 วัน คือ วันที่ 1, 3, 5 และ 7

1) เติมน้ำตาลละลาย DNS 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดฝาเกลียวที่มีตัวอย่างอยู่ 3 มิลลิลิตร ปิดหลอดเพื่อป้องกันการระเหยในระหว่างการวิเคราะห์ ผสมให้สารเข้ากันดี แล้วให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 90°C เป็นเวลา 5–15 นาที จนได้สารสีน้ำตาลแดง

2) เติมน้ำตาลละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 40% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำให้สีเสถียร

3) ทำให้เย็นในอ่างน้ำเย็นจนเป็นอุณหภูมิห้อง นำไปหาค่าการดูดกลืนแสงที่ 575 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์

วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักทุก ๆ 2 วัน คือ วันที่ 1, 3, 5 และ 7 โดยใช้ Ebulliometer

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS15 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างหญาจรรจบและวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้โดยวิธี t-test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างแต่ละช่วงเวลาของการหมักทดสอบด้วย Duncan's New Multiple Range Test

4. ผลการทดลองและอภิปรายผล

การศึกษาการผลิตเอทานอลจากการหมักชีว-วัสดุหญาจรรจบ และเศษวัสดุจากการตัดแต่งหน่อไม้ด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR5049 ในระบบการหมักแบบ Batch Fermentation เลี้ยงเชื้อแบบ Free Cell ได้ผลการศึกษาดังต่อไปนี้

4.1 ปริมาณเซลลูโลส และลิกนินในหญ้าขจรจบและเศษวัสดุจากการตัดแต่งหน่อไม้

ในการศึกษานี้มีการศึกษาองค์ประกอบของชีว-วัสดุที่สำคัญในการเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลสำหรับเป็นสารอาหารในการผลิตเอทานอลของยีสต์คือ เซลลูโลส และศึกษาปริมาณลิกนินซึ่งเป็นสารที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต (Non-carbohydrate) เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาในครั้งต่อไป

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสและลิกนินในหญ้าขจรจบพบว่า มีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ $24.8 \pm 1.3\%$ กรัม/กรัม และมีปริมาณลิกนินเท่ากับ $22.0 \pm 1.8\%$ กรัม/กรัม สำหรับวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้พบว่า มีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ $2.5 \pm 0.50\%$ กรัม/กรัม และปริมาณลิกนินเท่ากับ $15.9 \pm 1.5\%$ กรัม/กรัม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Han [13] ในการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของชีววัสดุที่ไม่ใช่ไม้ (Non-wood) โดยเปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลส และลิกนินในพืชดังนี้ พืชตระกูลหญ้า Esparto (เซลลูโลส; 33–38%, ลิกนิน; 17–19%) และฟางข้าว (Rice Stalk) (เซลลูโลส; 28–48%, ลิกนิน; 12–16%) นอกจากนี้ Han ยังพบว่าพืชตระกูลหญ้า Bluestem มีกลูโคสประมาณ 34.2–35.1% ของปริมาณองค์ประกอบทั้งหมด โดยปกติแล้วการที่พืชมีองค์ประกอบของเซลลูโลสในระดับสูงนั้นแสดงถึงการมีปริมาณกลูโคสในระดับที่สูงเช่นเดียวกันด้วย ในขณะที่การพบปริมาณลิกนินสูงนั้นมักจะพบปริมาณเซลลูโลสน้อย [13] ดังนั้นปริมาณเซลลูโลสที่พบในหญ้าขจรจบในระดับสูงจึงสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานโดยมีความเป็นไปได้ในการนำมาเป็นชีววัสดุเพื่อผลิตเอทานอลต่อไป

4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล

หลังจากการเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักโดยการกำจัดสารในกลุ่มลิกนินออกก่อน ด้วยวิธี Alkaline Pretreatment และใช้เอนไซม์เซลลูเลส (GC220) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำเร็จรูปจากเชื้อ *Trichoderma reesei*



รูปที่ 1 การหมักชีววัสดุ (A) หญ้าขจรจบ และ (B) วัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้

เพื่อย่อยโครงสร้างเซลลูโลสของชีววัสดุที่ศึกษาให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กลง ใช้เวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ 24 ชั่วโมง แล้วจึงเติมเชื้อจุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ที่เตรียมไว้ 5.0% ต่อ Batch หมักเป็นเวลา 7 วัน (รูปที่ 1) ติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลได้ผลดังต่อไปนี้

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการผลิตเอทานอลจากหญ้าขจรจบและวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้

เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำหมักหลังจากย่อยชีววัสดุ ณ วันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า การหมักหญ้าขจรจบมีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นหลังจากย่อยด้วยเอนไซม์แล้วเท่ากับ 34.073 ± 0.924 กรัม/ลิตร ในส่วนการหมักวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้นั้นมีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นหลังจากย่อยด้วยเอนไซม์แล้วเท่ากับ 34.739 ± 1.054 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 1) และเมื่อผ่านการหมักเป็นระยะเวลาหนึ่งวันหลังจากนั้นพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงในกระบวนการหมักของหญ้าขจรจบ แต่วัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้นั้นยังคงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นและสูงกว่าหญ้าขจรจบ อาจเนื่องมา

จากวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งมีส่วนผสมของหน่อไม้ส่วนที่กินได้ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นคาร์โบไฮเดรตอยู่ด้วย [14] อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์นั้นจะเริ่มเกือบคงที่ในวันที่ 3 และ 5 ของการหมักในทั้งสองตัวอย่างเนื่องจากเชื้อยีสต์มีการใช้น้ำตาลในระหว่างการเจริญเติบโตและเปลี่ยนน้ำตาลนั้นให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ [4] ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทางเลือกได้ในอนาคตและเป็นจุดมุ่งหมายในการศึกษาครั้งนี้

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในหญ้าขจรจบและวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 24 ชั่วโมง จนถึงสิ้นสุดการหมัก

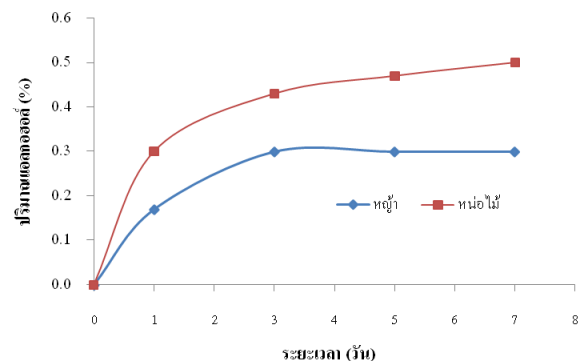
ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	
	หญ้าขจรจบ	หน่อไม้
เริ่มต้นการหมัก ^{ns}	34.073+0.924 ^B	34.739+1.054 ^C
วันที่ 1	27.390+3.769 ^{bc}	38.947+2.346 ^{aB}
วันที่ 3	34.851+1.709 ^{bb}	42.194+2.242 ^{aB}
วันที่ 5	34.943+2.133 ^{bb}	42.334+2.594 ^{aB}
วันที่ 7	45.146+1.720 ^{ba}	57.298+0.703 ^{aA}

หมายเหตุ :

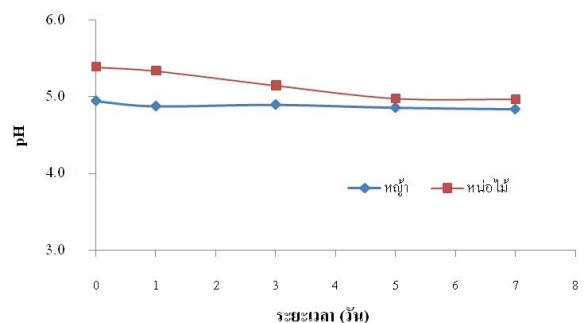
- ตัวอักษรพิมพ์เล็ก a และ b ที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
- ns หมายถึง ค่าเฉลี่ยในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
- ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ A, B และ C ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2.2 ปริมาณเอทานอลจากหญ้าขจรจบและวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้

ติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลระหว่างการหมักโดยใช้ Ebuliometer ในการวัด ซึ่งจะให้ค่าเป็นเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ ณ วันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 ผลที่ได้ดังรูปที่ 2 จะเห็นได้ว่าการหมักชีววัสดุทั้งสองด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถให้ผลผลิตเป็นเอทานอลได้ โดย



รูปที่ 2 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักชีววัสดุ



รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ระหว่างการหมักชีววัสดุ

การหมักวัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้จะสามารถผลิตเอทานอลได้สูงกว่าหญ้าขจรจบ คือ ในวันสิ้นสุดการหมักที่ระยะเวลาการหมัก 7 วัน วัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0.5% โดยปริมาตร ส่วนหญ้าขจรจบให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0.3% โดยปริมาตร นอกจากนี้ได้ทำการวัดค่า pH เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบสในระหว่างการหมักพบว่ามีความที่ประมาณ pH 5 ดังรูปที่ 3

5. สรุป

การศึกษาการผลิตเอทานอลจากหญ้าขจรจบและเศษวัสดุจากการตัดแต่งหน่อไม้ โดยเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Alkaline Pretreatment ด้วยการแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร่วมด้วยการย่อยโครงสร้างเซลลูโลสของตัวอย่างโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสเพื่อให้

ได้นำตาลโมเลกุลเล็กที่เชื้อยีสต์สามารถใช้แล้วสร้างเอทานอลได้ ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. หย้าขจรจบ มีปริมาณเซลลูโลส เท่ากับ $24.8 \pm 1.3\%$ กรัม/กรัม มีปริมาณลิกนิน เท่ากับ $22.0.0 \pm 1.8\%$ กรัม/กรัม และเมื่อใช้หย้าขจรจบเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลตามวิธีข้างต้นในวันที่ 7 ของการหมัก ได้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0.3% โดยปริมาตร

2. วัสดุเศษเหลือจากการตัดแต่งหน่อไม้ มีปริมาณเซลลูโลส เท่ากับ $2.5 \pm 0.5\%$ กรัม/กรัม มีปริมาณลิกนิน เท่ากับ $15.9 \pm 1.5\%$ กรัม/กรัม และเมื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลตามวิธีข้างต้นในวันที่ 7 ของการหมัก ได้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0.5% โดยปริมาตร

ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะคือ 1) การศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งหากมีการศึกษาในครั้งต่อไปควรมีการขยายขนาดให้สูงขึ้น และควรมีการศึกษาถึงงบประมาณและความเป็นไปได้ในอนาคต และ 2) การจะได้มาซึ่งเอทานอลที่สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้นั้น หลังจากการหมักชีววัสดุด้วยเชื้อยีสต์แล้ว จะต้องนำของเหลวที่ได้มาผ่านขั้นตอนการทำให้เป็นเอทานอลบริสุทธิ์ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่ง จึงควรมีการศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการทำเอทานอลให้บริสุทธิ์อย่างต่อเนื่องต่อไป

6. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ สำหรับทุนสนับสนุนนักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปี 2550 และคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตปทุมธานี ในการสนับสนุนเครื่องมือและสถานที่ทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] Department of Alternative Energy Development and Efficiency. (2015, March 1). *Ethanol's alternative energy development plan for 15 years*

(2008–2022) [Online]. Available: http://www.enconfund.go.th/pdf/index/REDP_15_yrs.pdf (in Thai).

- [2] S. Yokoyama, T. Ogi, and A. Nalampoon, "Biomass energy potential in Thailand," *Biomass Bioenerg*, vol. 18, pp. 405–410, 2000.
- [3] W. Krusong, *Biotechnology*, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok: Odeon Store, 1986 (in Thai).
- [4] L. R. Lynd, J. H. Cushman, R. J. Nichols, and C. E. Wyman, "Fuel ethanol from cellulosic biomass," *Science*, vol. 251, pp. 1318–1323, 1991.
- [5] M. R. Swain, S. Kar, A. K. Sahoo, and R. C. Ray, "Ethanol fermentation of mahula (*Madhuca latifolia* L.) flowers using free and immobilized yeast *Saccharomyces cerevisiae*," *Microbiological Research*, vol. 162, no. 2, pp. 93–98, 2007.
- [6] R. Benchawattananon, "Study of ethanol production from pseudostem of banana by *Saccharomyces cerevisiae* batch fermentation," *Research and Development Journal Loei Rajabhat University*, vol. 3, no. 6, pp. 29–36, 2009 (in Thai).
- [7] V. Jamsawat and S. Srisawat, "Study on possibility of using Feather pennisetum as roughage for cattle in day season," M.S. thesis, Rajamangala University of Technology Tawan-ok., Chonburi, Thailand, 1995 (in Thai).
- [8] P.C. Badger, "Ethanol from cellulose: a general review," in *Trends in new crops and new uses*, J. Janick and A. Whipkey, Eds. ASHS Press, Alexandria, VA, 2002, pp. 17–21.
- [9] Y. Lin and S. Tanaka, "Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 69, pp. 627–642, 2006.



- [10] P. J. Van Soest and R. H. Wine, "Use of detergents in analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell walls constituents," *Journal of AOAC International*, vol. 50, no. 1, pp. 50–55, 1967.
- [11] L. Dawson and R. Boopathy, "Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production," *Bioresource Technol*, vol. 98, no. 9, pp. 1695–1699, 2007.
- [12] G. L. Miller, "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar," *Analytical Chemistry*, vol. 31, no. 3, pp. 426–428, 1959.
- [13] J. S. Han, "Properties of Non-wood fiber," in *The Korean society of wood science and technology annual meeting*, Atanata, GA, 1998, pp. 3–12.
- [14] N. Chongtham, M. S. Bisht, and S. Haorongbam, "Nutritional properties of bamboo shoots: potential and prospects for utilization as a health food," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 10, pp. 153–169, 2011.