รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร

2. **โครงการวิจัย** : การผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ
   กิจกรรม : การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : **การผลิตไบโอเอทานอลจากพืชชีวมวลแบบครบวงจร**
   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : **Producing bio-ethanol from plant biomass to complete process.**

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	: นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	: นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น

5. **บทคัดย่อ**

ไบโอเอทานอลสามารถผลิตได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร กระทรวงพลังงานได้ทำการวิจัยหญ้าที่เหมาะเป็นพืชพลังงาน พบว่าหญ้าเนเปียปากช่อง 1 ให้ผลผลิตต่อไร่สูงสุดประมาณ 70-80 ตันสดต่อปีต่อไร่ ทำการออกแบบเพื่อการทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (hydrolysis) ให้กลายเป็นน้ำตาลในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้เอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้จากสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อ*Bacillus* sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส เชื้อ*Actinomyces* sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และ เชื้อ*Aspergillus niger* จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยเฮมิเซลลูโลส เมื่อนำมาทดสอบการผลิตพบว่าเชื้อ *Actinomyces* sp. เป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเซลลูเลสเอนไซม์ ที่ดีที่สุดโดยวัดค่าน้ำตาลได้ 0.058 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่เชื้อ *Aspergillus niger* วัดปริมาณค่าน้ำตาลได้ 0.029 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus* sp. จุลิน วัดปริมาณค่าน้ำตาลได้ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กระบวนการสร้างถังหมักเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล ได้สร้างถังขนาด 100 ลิตร จำนวน 1 ถัง สำหรับขยายเชื้อจุลินทรีย์ที่ในปริมาณที่มากพอ และนำไปสู่กระบวนการผลิตเอทานอลที่มีคุณภาพตามที่ต้องการต่อไป

Abstract

Bio-ethanol can be from agricultural waste. The Ministry of Energy has research suitable grasses as energy crops. Research results Napier Grass Pak Chong 1 the maximum yield per rai is about 70-80 tons per hectare per rai. Designed to test cellulose and hydrolysis degradation into sugar at the laboratory level. Using 3 types produced enzymes from microorganisms of Biotechnology Research and Development Office. Include *Bacillus* sp. Microorganisms with potential for production Xylanase enzymes, *Actinomyces* sp. Microorganisms with potential for production cellulase enzymes and *Aspergillus niger* Microorganisms with potential for production Hemicellulose. Result test the sugar content highest was 0.058 milligrams per milliliter for *Actinomyces* sp. Microorganisms with potential for production cellulase enzymes, Part test the sugar content was 0.029 milligrams per milliliter for *Aspergillus niger* and last test the sugar content lowest was 0.025 milligrams per milliliter for *Bacillus* sp. The process of creating a fermentation tank for ethanol production. a tank of 100 liters was built for the expansion of microorganisms in large quantities. This will lead to the production of quality ethanol as required.

6. คำนำ

พลังงานจัดเป็นปัจจัยสำคัญและมีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ หลายๆประเทศทั่วโลกจึงแสวงหาแหล่งพลังงานทดแทนรูปแบบใหม่เพื่อเป็นหลักประกันความมั่นคงด้านพลังงานในระยะยาว ทั้งยังเป็นการลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จากการใช้พลังงานที่ได้จากฟอสซิล เช่น น้ำมัน และ ถ่านหิน อันเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะโลกร้อน การผลิตไบโอเอทานอลได้รับความสนใจทั่วโลก เนื่องจากเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการลดภาวะโลกร้อนและยังเป็นการรักษาความมั่นคงของพลังงานทั่วโลกอีกด้วย ในช่วงแรกนั้นการผลิตไบโอเอทานอลผลิตจากน้ำตาลและแป้งที่ได้จากพืชผลและธัญพืชจากการเกษตร แต่ในปัจจุบันไบโอเอทานอลสามารถผลิตได้จากวัสดุทดแทนประเภทอื่นๆ นอกเหนือจากแป้งและน้ำตาล เช่น วัสดุลิกโนเซลลูโลส ที่เรียกว่า ลิกโนเซลลูโลสิกเอทานอล ตัวอย่างเช่น เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เศษไม้ เศษวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและเศษขยะ และพืชพลังงานต่างๆ อย่างไรก็ดี รัฐบาลมีนโยบายทางด้านเศรษฐกิจที่จะส่งเสริมและผลักดันให้ปลูกพืชพลังงาน ซึ่งกระทรวงพลังงานได้ทำการวิจัยหญ้าที่เหมาะเป็นพืชพลังงานจำนวน 20 ชนิด พบว่าหญ้าเนเปียปากช่อง 1 ให้ผลผลิตต่อไร่สูงสุดประมาณ 70-80 ตันสดต่อปีต่อไร่ ซึ่งมากกว่าหญ้าชนิดอื่นเกือบ 7 เท่า จึงเป็นพืชที่เหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทน นอกจากนี้คณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ (กพช.) ได้ปรับเป้าหมายของแผนพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือกในระยะเวลา 10 ปี (พ.ศ.2555-2564) ของประเทศไทยโดยใช้พลังงานทดแทนจากหญ้าเนเปีย (ไกรลาศ, 2556 ; http://webkc.dede.go.th/testmax/node/152) และสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ได้ศึกษาโครงการวิจัยเรื่องการผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ ในปี พ.ศ.2556-2558 ได้ศึกษาถึงการคัดเลือกพืชและชีวมวลที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอล เอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ช่วยในการย่อยสลายเซลลูโลส ลิกโนเซลลูโลส เครื่องมือแปรสภาพชีวมวลในกระบวนการย่อยสลาย และเครื่องจักรกล

ในกระบวนการหมัก และเครื่องกลั่นในการผลิตเอทานอลจากชีวมวล ดังนั้นการศึกษาเทคโนโลยีแต่ละขั้นตอนมีประโยชน์อย่างยิ่ง จึงได้นำมาเข้าสู่กระบวนการผลิตรวมกันแบบครบวงจร เพื่อให้ได้ไบโอเอทานอลได้อย่างรวดเร็วและคุ้มค้าเชิงเศรษฐศาสตร์

โดยวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ผลิตได้ของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร เปรียบเทียบกับเอนไซม์การค้าในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (batch fermentation) เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตไบโอเอทานอลจากพืชชีวมวลในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตแอลกอฮอล์ในระบบการกลั่นจากเครื่องที่ได้ออกแบบในปี 2558 ของกรมวิชาการเกษตร และเพื่อศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลที่มีประสิทธิภาพและนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ได้

7. วิธีดำเนินการ

1. เตรียมตัวอย่างพืชชีวมวล

ทำการปลูกพืชชีวมวลที่ได้คัดเลือก ได้แก่ ต้นเลา หญ้าเนเปียร์ (ขอนแก่น) อ้อยพลังงาน (ลูกผสม KJ) และ หญ้าเนเปียร์ปากช่อง1 ในพื้นที่ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น เป็นระยะเวลาประมาณ 3-4 เดือน เก็บเกี่ยวพืชดังกล่าวนำมาบดด้วยเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลที่ได้จากการออกแบบ สับย่อยให้มีขนาดเล็กพร้อมที่จะนำมาทำการผลิตในขั้นตอนต่อไป

2. ปรับสภาพตัวอย่างพืชเบื้องต้น (Pre-treatment)

นำตัวอย่างพืชที่สับบดแล้วในข้อ 1 ลงในถังหมักขนาด 500 ลิตร ทำการกำจัดสารประกอบจำพวกลิกนินที่ห่อหุ้มเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสออกไป ได้เลือกวิธีการปรับสภาพตัวอย่างพืช ด้วยวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ (physic-chemical pretreatment) โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ในสัดส่วนเยื่อต่อด่าง 1:8 (กรัมเยื่อต่อมิลลิลิตรด่าง) และให้ความร้อนคงที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และปรับสภาพตัวอย่างให้อยู่ในสภาพเป็นกลางด้วยน้ำประปา

3. การย่อยสลาย (Hydrolysis)

ทำการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสตัวอย่างพืชที่ผ่านการ Pre-treatment แล้วในข้อ 2 ด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (enzyme hydrolysis) จากจุลินทรีย์ที่ผลิตได้เองในห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร เปรียบเทียบกับเอนไซม์ทางการค้าเริ่มต้นด้วยที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 15-35 ยูนิต/กรัมสารตั้งต้น และนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS

4. การหมัก (fermentation)

นำตัวอย่างพืชที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แล้วในข้อ 3 ทำการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (batch fermentation) การหมักซึ่งเป็นการย่อยสลายน้ำตาล โดยใช้เชื้อยีสต์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงจากห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร หรือชนิด *Saccharomyces cerevisiae* โดยการเตรียมน้ำหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลที่ยีสต์สามารถย่อยได้ร้อยละ

14-18 และปรับ pH ให้เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ประมาณ 4.5-5.0 เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ จากนั้นเติมยีสต์ร้อยละ 5-8 โดยปริมาตรลงไป แล้วหมักในสภาพที่ไร้อากาศที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ประมาณ 30-72 ชั่วโมง จะได้ความเข้มข้นของเอทานอลประมาณ 6-10 เปอร์เซ็นต์ นำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่องวิเคราะห์สารชีวภาพ (Multiparameter Bioanalytical System YSI 7100)

5. การกลั่น (distillation) และการกำจัดน้ำ (dehydration)

นำตัวอย่างพืชที่ผ่านการหมักในข้อ 4 ผ่านการกลั่น ซึ่งเป็นการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมักและน้ำส่า โดยใช้เครื่องเครื่องกลั่นในการผลิตเอทานอลจากชีวมวลที่ได้จากการออกแบบในปี 2558 ซึ่งจะให้ผลผลิตเอทานอลประมาณ 8-12 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และสามารถทำให้ได้เอทานอลบริสุทธิ์ด้วยการกลั่นแบบลำดับส่วน ให้มีความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่า 99.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และนำผลที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารชีวภาพ (Multiparameter Bioanalytical System YSI 7100)

6. การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันแก๊สโซฮอล์ที่ผลิตได้กับเครื่องยนต์

ทำการผสมน้ำมันเบนซินพื้นฐานกับเอทานอลแปลงสภาพที่ผลิตได้ให้ได้เป็นน้ำมันแก๊สโซฮอล์อี 10 คือ น้ำมันแก๊สโซฮอล์ที่ได้จากการผสมน้ำมันเบนซินพื้นฐานกับเอทานอลแปลงสภาพ ในสัดส่วน 90 ต่อ 10 โดยปริมาตร แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ น้ำมันแก๊สโซฮอล์อี 10 ออกเทน 91 (แก๊สโซฮอล์ 91) และน้ำมันแก๊สโซฮอล์อี 10 ออกเทน 95 (แก๊สโซฮอล์ 95) จากนั้นนำน้ำมันแก๊สโซฮอล์ที่ได้ไปทดสอบกับเครื่องยนต์เพื่อดูประสิทธิภาพการใช้งาน

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

ระยะเวลาทำการทดลอง ตุลาคม 2558 – กันยายน 2564 รวม 6 ปี

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ได้ทำการเตรียมปลูกตัวอย่างพืชชีวมวล ได้แก่ หญ้าเนเปียร์ ในบริเวณพื้นที่ของ ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น เป็นระยะเวลาประมาณ 3-4 เดือน ซึ่งได้ใช้ท่อนพันธุ์ที่มีอายุประมาณ 3 เดือน

ภาพที่ 1 ท่อนพันธุ์หญ้าเนเปียร์ เพื่อนำไปใช้ปลูกในพื้นที่ ศวศ.ขอนแก่น สำหรับเป็นวัตถุดิบในการหมักเป็นเอทานอล

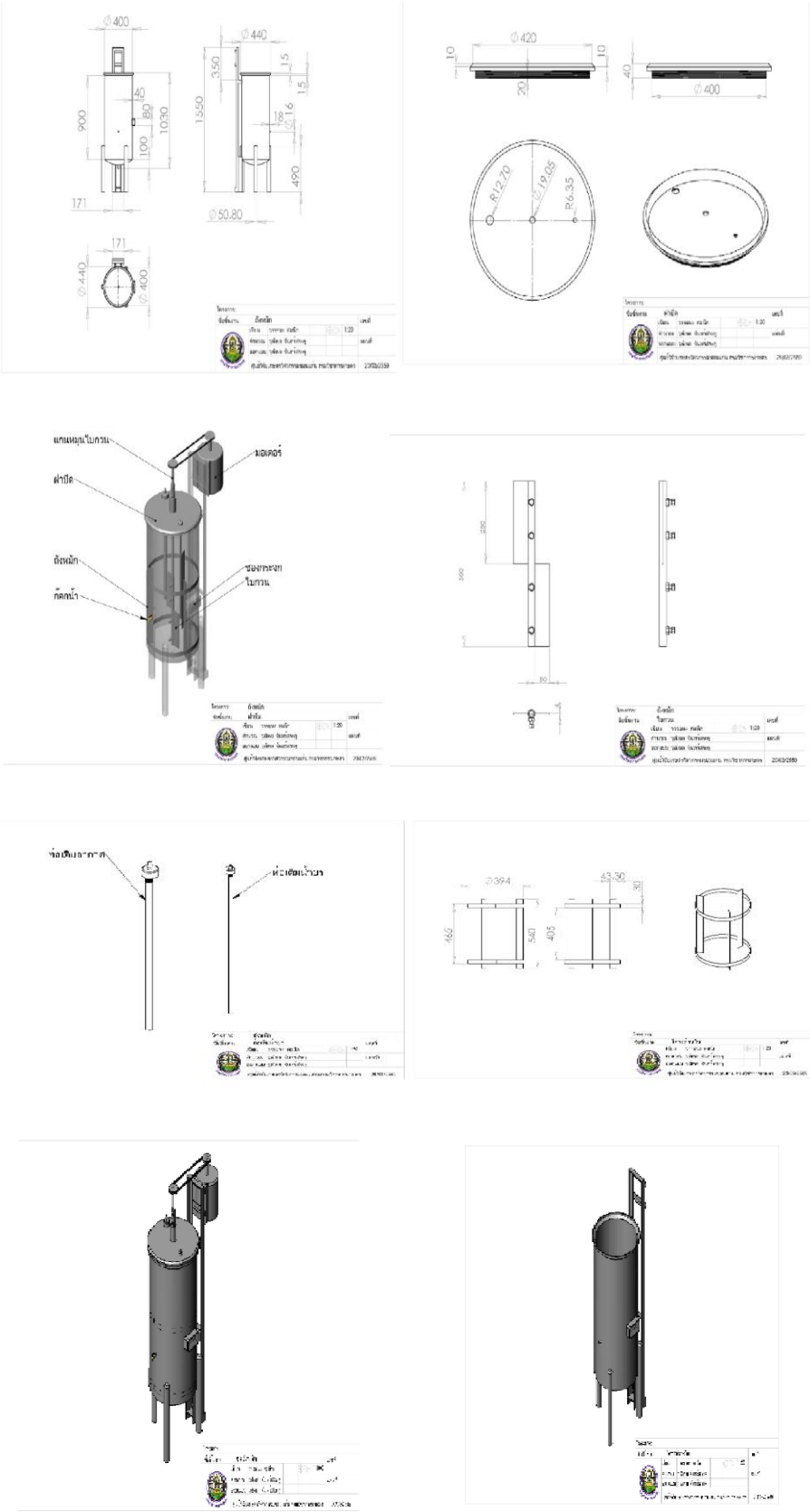
2. ได้ทำการทดสอบเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลที่ได้จากการออกแบบในปี 2558 ของกรมวิชาการเกษตร โดยนำตัวอย่างหญ้าเนเปียร์มาบดด้วยสับย่อยให้มีขนาดเล็กพร้อมที่จะนำมาทำการผลิตในขั้นตอนต่อไปได้

ภาพที่ 2 ทดสอบเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลที่ได้จากการออกแบบของกรมวิชาการเกษตร

3. ศึกษาถังหมักและเครื่องกลั่นต้นแบบที่ได้เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอล

ภาพที่ 3 ถังหมักและเครื่องกลั่นต้นแบบของกรมวิชาการเกษตรเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอล

4. การสร้างถังหมักขนาด 100-500 ลิตร จำนวน 2 ถัง ที่ออกแบบได้จากนักวิจัย ศวศ.ขอนแก่น สำหรับผลิตเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากพืชชีวมวล



ภาพที่ 4 แบบตัวอย่างถังหมักที่ออกแบบจากนักวิจัย ศวศ.ขอนแก่น

5. ได้ถังหมักขนาด 100 ลิตร จำนวน 1 ถัง ที่ออกแบบได้สำหรับขยายเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ ได้เพื่อใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอล

6. ทำการออกแบบเพื่อการทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในฟลาสต์สำหรับทดสอบการหมักขนาด2 ลิตรก่อนเพื่อให้ได้ conditions ในการหมัก ได้แก่ ความเข้มข้นและปริมาณหัวเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในถังหมักขนาด 100 ลิตร จากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในที่ผลิตได้จาก สทช. ในระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่

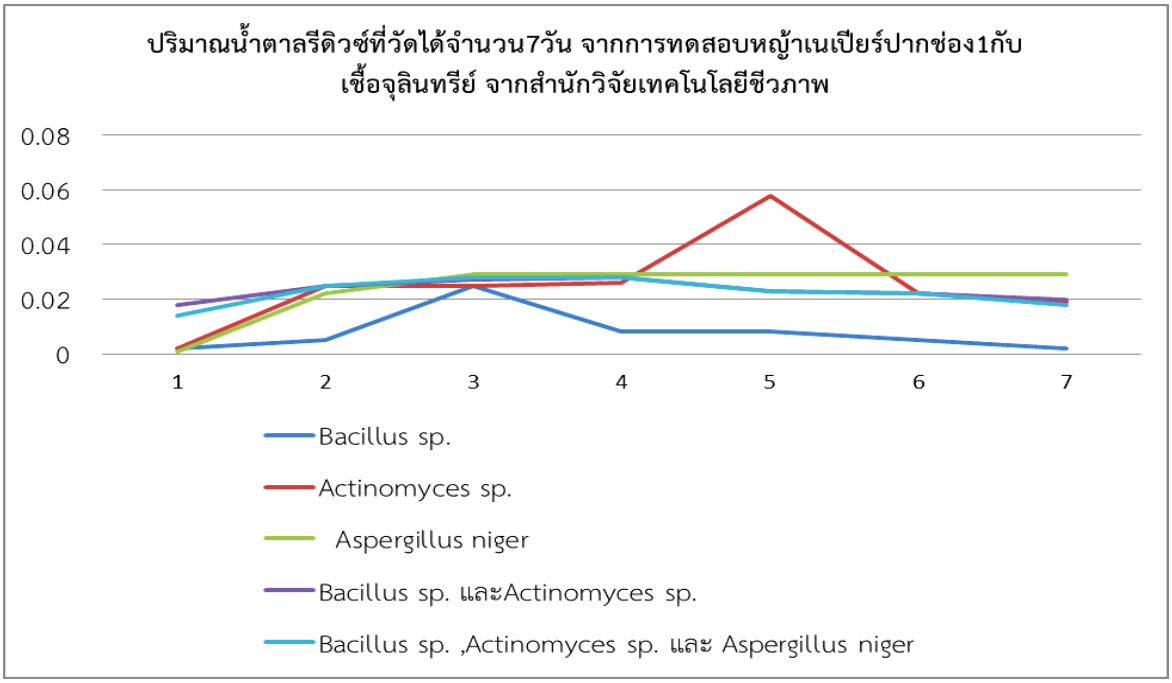
1) *Bacillus* sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส
2) *Actinomyces* sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส
3) *Aspergillus niger* จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยเฮมิเซลลูโลส

ทำการทดสอบกับพืชพลังงาน 1 ชนิด คือหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 ทำการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้และเลือก conditions ที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ทดสอบในถังหมักขนาด 100 ลิตร ซึ่งอยู่ระหว่างการทดสอบและวิเคราะห์ผล

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการทดสอบหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1 กับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิต เอนไซม์ไซลาเนส เอนไซม์เซลลูเลส และการย่อยเฮมิเซลลูโลสจากสำนักวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ

วันที่	*Bacillus* sp.	*Actinomyces* sp.	*Aspergillus niger*	*Bacillus* sp. และ*Actinomyces* sp.	*Bacillus* sp. ,*Actinomyces* sp. และ *Aspergillus niger*
1	0.002	0.002	0.001	0.018	0.014
2	0.005	0.025	0.022	0.025	0.025
3	0.025	0.025	0.029	0.027	0.028
4	0.008	0.026	0.029	0.028	0.028
5	0.008	0.058	0.029	0.023	0.023
6	0.005	0.022	0.029	0.022	0.022
7	0.002	0.019	0.029	0.020	0.018

ตารางที่ 5 ปริมาณค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จำนวน7วัน จากการทดสอบหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1กับเชื้อจุลินทรีย์จากสำนักวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ



ภาพที่ 6 กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จำนวน7วัน จากการทดสอบหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1กับเชื้อจุลินทรีย์ จากสำนักวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ

จากการทดสอบหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1 กับเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus* sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส วัดปริมาณค่าน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS พบว่าในวันที่สามของการหมักสามารถวัดค่าได้ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อ *Actinomyces* sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส วัดปริมาณค่าน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS พบว่าในวันที่ห้าของการหมักสามารถวัดค่าได้ 0.058 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อ *Aspergillus niger* จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยเฮมิเซลลูโลส วัดปริมาณค่าน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS สามารถวัดค่าได้ 0.029 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการ ผลิตเอนไซม์ไซลาเนส เอนไซม์เซลลูเลส และการย่อยเฮมิเซลลูโลสได้จากสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีในระดับห้องปฏิบัติการ จำนวนสามชนิด นำเชื้อ *Bacillus* sp. และเชื้อ *Actinomyces* sp. ทดสอบกับหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1 วัดปริมาณค่าน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS พบว่าในวันที่สี่ของการหมักสามารถวัดค่าได้ 0.028 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และหากนำ เชื้อ *Bacillus* sp. เชื้อ *Actinomyces* sp. และเชื้อ *Aspergillus niger* ทดสอบกับหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1 วัดปริมาณค่าน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS พบว่าในวันที่สี่ของการหมักสามารถวัดค่าได้ 0.028 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ทั้งนี้ในการทดสอบหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1กับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการ ผลิตเอนไซม์ไซลาเนส เอนไซม์เซลลูเลส และการย่อยเฮมิเซลลูโลสได้ จากสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ในระดับห้องปฏิบัติการนั้นผ่านปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (physical pretreatment) เป็นการทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออกโดยวิธีการบด (Mussatto *et al*., 2008) ส่วนกระบวนการย่อยสลาย (hydrolysis) คือการย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส และการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส (Bosch *et al*., 2010) ซึ่งหญ้าเนเปียร์ปากช่อง1 เป็นพืชบกจึงมีไซแลนถึง 80-95 % การย่อยสลายด้วยเชื้อ *Actinomyces* sp. จุลินทรีย์ที่มี

ศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเอนไซม์ ค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้โดยวิธี DNS ในวันที่ห้าจึงสามารถวัดค่าได้ 0.058 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากพืชชีวมวลแบบครบวงจร ได้เริ่มจากการนำพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอล ได้แก่ หญ้าเนเปียร์ อ้อยพลังงาน ฯลฯ นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลให้ได้ปริมาณที่มากพอกับถังหมักขนาด 500 ลิตร และนำมาปรับสภาพเบื้องต้น (pretreatment) ซึ่งเป็นกระบวนการกำจัดสารประกอบจำพวกลิกนินที่ห่อหุ้มเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสออกไป โดยวิธีทางเคมี ปรับสภาพให้เป็นด่างโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้จากสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อปรับเปลี่ยนโครงสร้างของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้ย่อยสลาย (hydrolysis) ให้กลายเป็นน้ำตาล ในระดับห้องปฏิบัติการ เชื้อ *Actinomyces* sp. เป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพดีที่สุดในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเอนไซม์ วัดค่าน้ำตาลได้ 0.058 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 6 จากค่าน้ำตาลที่วัดได้ในระดับห้องปฏิบัติการ หากมีปริมาณที่มาก จึงสามารถนำไปสู่กระบวนการหมักและกลั่นเพื่อให้ได้เอทานอลที่มีคุณภาพ และมากพอต่อปริมาณที่คุ้มค่าต่อไปได้

กระบวนการสร้างถังหมักเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลนั้น ได้สร้างถังขนาด 100 ลิตร จำนวน 1 ถัง ที่ออกแบบสำหรับขยายเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ในปริมาณที่มากพอ และนำไปสู่กระบวนการผลิตเอทานอลที่มีคุณภาพตามที่ต้องการต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ประโยชน์ที่จะได้รับ

1. เผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารวิชาการต่าง ๆ
2. สามารถผลิตไบโอเอทานอลจากพืชและนำไปใช้ประโยชน์กับเครื่องยนต์ได้
3. หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้แก่ หน่วยงานภายในกรมวิชาการเกษตร เกษตรกรที่ร่วมโครงการหรือภาคเอกชนรายย่อยที่สนใจ

แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

1. นำเสนอผลงานวิจัยในที่ประชุมต่าง ๆ
2. ส่งเสริมให้มีการผลิตไบโอเอทานอลในระดับชุมชนและเกษตรกร

11. คำขอบคุณ

การทำกิจกรรมของการทดลองการผลิตไบโอเอทานอลจากพืชชีวมวลแบบครบวงจร ในทุกกิจกรรมครั้งนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยจากความกรุณา โดยเจ้าหน้าที่จากศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น ตลอดจนบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยครั้งนี้ ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือในการประสานงาน ให้ข้อมูล เก็บรวบรวมข้อมูล ให้คำแนะนำ และคอยอำนวยความสะดวกในทุกกิจกรรมให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

ไกรลาส เขียวทอง, วีรชัย อาจหาญ, อิทธิพลเผ่าไพศาล, เรืองเดช ปั่นด้วง และสรยุทธ วินิจฉัย. 2556. คู่มือการปลูกหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1. มิตรภาพการพิมพ์. นครราชสีมา. 32 น.

ชัชนันท์ นิวาสวงษ์ และ เฉลิม เรือวิริยะชัย. 2555. การผลิตเซลลูโลสิกเอทานอลในประเทศไทย. KKU Sci. J.40 (4) 1073-1088 (2012).

ธราพงษ์ วิฑิตศานต์, นวดล เหล่าศิริพจน์ และประเสริฐ เรียบร้อยเจริญ. 2553. รายงานสถานภาพของงานวิจัยและผลิตเอทานอลไบโอดีเซล ไบโอแก๊ส และน้ำมันชีวภาพในประเทศไทย. สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.)

ประเวศ ตุ้ยเต็มวงศ์, จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร, ปิยรัตน์ บุญแสวง และธีรภัทร ศรีนรคุตร. 2552. การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส. สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

อรุณี ศุภสินสาธิต. 2555. พลังงานจากชีวมวลที่มีลิกโนเซลลูโลสสูง. วารสารสิ่งแวดล้อม. ปีที่ 16 เล่มที่ 2. 8 น.

Bosch P., Wallberg O., Joelsson E., Galbe M. and G. Zacchi. 2010. Impact of dual temperature profilein dilute acid hydrolysis of spruce for ethanol production. Biotechnology for Biofuels. 3: 15.

Jeffries T.W., Grigoriev I.V., Grimwood J., Laplaza J.M., Aerts A., Salamov A., Schmutz J., Lindquist E., Dehal P., Shapiro H., Jin Y.S., Passoth V. and Richardson P.M. 2007. Genome sequence of the lignocelluloses-bioconverting ans xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis*. Nature Biotechnology. 25 (3) : 319-326.

Kusch S. and M.V. Morar. Integration of lignocellulosic biomass into renewable energy generation concepts. ProEnvironment 2, 32-37.

Mussatto S.I., Fernandes M., Milagres A.M.F. and Roberto I.C. 2008. Effect of hemicelluloses and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. Enzyme and Microbial Technology. 43 : 124-129.

Ververis C., Georghiou, K., Danielidis D., Hatzinikolaou D.G., Santas P., Santas R. and Corleti V. 2007. Cellulose, hemicelluloses, lignin and ash content of some organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements. Bioresource Technology 98 : 296-301.

Wang Z., Keshwani D.R., Redding A.P. and Cheng J.J. 2010. Sodium hydroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass. Bioresource Technology. 101 : 3583-3585.