

รายงานการวิจัย

การศึกษากระบวนการปรับสภาพกากปาล์มน้ำมันเพื่อเพิ่มผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนจาก
กระบวนการหมัก

Study of Pretreatment Processes on Hydrogen Production from Fermentation
Process

โดย
นิพนธ์ พิสุทธิไพศาล

แหล่งทุน
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
พ.ศ. 2550

โครงการเรื่อง การศึกษากระบวนการปรับสภาพกากปาล์มน้ำมันเพื่อเพิ่มผลผลิต
ก๊าซไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก

**Study of Pretreatment Processes on Hydrogen Production from
Fermentation Process**

ชื่อผู้วิจัย	นายนิพนธ์ พิสุทธิไพศาล	
หน่วยงานที่สังกัด	ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์	
หมายเลขโทรศัพท์	02-587-8257	
ได้รับทุนอุดหนุนประเภท	ทั่วไป	ประจำปี 2550
จำนวนเงิน	100,000- บาท (หนึ่งแสนบาทถ้วน)	

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเพิ่มมูลค่าให้แก่กากปาล์มน้ำมันส่วนเส้นใยผลโดยนำมาผลิตให้ได้ก๊าซไฮโดรเจนแล้วศึกษาสภาพของการเกิดก๊าซไฮโดรเจนเมื่อผ่านการปรับสภาพกากปาล์มด้วยการการบดและร่อนให้ได้ขนาดไม่ใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร ต่อจากนั้นทำการปรับสภาพ 3 แบบ คือ การปรับสภาพทางเคมีมี 2 วิธี คือ การต้มด้วยน้ำร้อนภายใต้ความดันและต้มด้วยกรดกรดซัลฟิวริกเจือจาง 1 เปอร์เซ็นต์ภายใต้ความดัน 15 บาร์ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง การปรับสภาพทางชีวภาพโดยใช้เอนไซม์ที่สกัดได้จากเชื้อรา *Pithomyces maydicus* BCC 5744, *Aspergillus sp.* BCC 4603 และเอนไซม์ผสมเข้มข้น 2 ชนิด คือ Celluclast และ Novozyme ในสารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.0 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการปรับสภาพ 72 ชั่วโมง และการปรับสภาพทางเคมีตามด้วยการปรับสภาพทางชีวภาพ จากนั้นนำกากปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพแต่ละวิธีมาหมักในสภาวะแบบไม่ใช้ออกซิเจนเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนในขวดซีรัมแก้วขนาด 100 มิลลิลิตรโดยใช้จุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียยูเอเอสบีของโรงงานเส้นไหมโฮงเองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน แล้วทำการวัดปริมาตรก๊าซรวมและวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซรวม จากผลการทดลองพบว่ากากปาล์มน้ำมันส่วนเส้นใยผลสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้และศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในการปรับสภาพแบบต่างๆ พบว่า การปรับสภาพแบบต่างๆมีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยการปรับสภาพกากปาล์มส่วนเส้นใยผลด้วยเอนไซม์จาก *Aspergillus sp.* BCC 4603 ทำให้ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นจากกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ 1.53 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นปริมาตรไฮโดรเจน 0.40 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม

Abstract

The purpose of study is to convert oil-palm solid waste to valuable biofuel, biohydrogen. Fiber residue from palm-oil fruit was utilized as a raw material for biohydrogen production. The dried fiber was ground to a size less than one millimeter in diameter, and pretreated with two different methods; hot water under pressure, and dilute acid hydrolysis under pressure. The pretreated fiber was incubated with three types of enzyme, i.e., fungal crude enzyme produced from *Pithomyces maydicus* BCC 5744, *Aspergillus sp.* BCC 4603; and a mixture of commercial enzymes of Celluclast and Novozyme to liberate free sugar from the fiber. The enzymatic reactions were setup in 100-mL serum bottles, and the pH of the fiber and enzyme was controlled by 50 mM citrate buffer pH 5.0. The reactor content was incubated at temperature of 45° C for 72 hours. After 72-h incubation period a hydrogen-producing microorganism consortium was dispensed to the reactor and the reactor was incubated at 37 ° C for 14 days. The evolvement of total volume of biogas and % hydrogen content was monitored. The result indicated that fiber with all three pretreatment methods followed by *Aspergillus sp.* BCC 4603 crude enzyme treatment increased the hydrogen volume by 1.53% (0.40 mL/ total volatile solid).

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจากมหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ประจำปี 2540 จำนวนเงิน 100,000- บาท (หนึ่งแสนบาทถ้วน) งานวิจัยนี้จะมีอาจสำเร็จ ลุล่วงไปได้โดยปราศจากนักศึกษา นายกษิตศ ระวังสัจ และนางสาวจุฑามาศ บุญมาช่วย นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดลอม ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ที่ทำหน้าที่เป็นผู้ช่วยวิจัย นอกจากนี้ผู้วิจัยขอแสดงความขอบคุณไปยัง คุณศิริอร บุญญวนิช นักวิทยาศาสตร์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดลอม ที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องการหาข้อมูลและแหล่งในการสื่อสารเคมีที่ใช้ในการงานวิจัย นอกจากนี้ยังขอขอบคุณ บริษัท สุขสมบูรณ์น้ำมันปาล์ม จำกัด ที่เอื้อเฟื้อคากปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการทดลอง และบริษัท โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด ที่เอื้อเฟื้อเชื้อจุลินทรีย์ในการทำวิจัย

นิพนธ์ พิสุทธิไพศาล

กุมภาพันธ์ 2551

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1. บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและความเป็นมา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2. ทฤษฎี	3
2.1 ปาล์มน้ำมัน	4
2.2 องค์ประกอบของกากของแข็งที่เหลือจากอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมัน	7
2.3 การปรับสภาพชีวมวลก่อนนำไปใช้ประโยชน์	14
2.4 ศักยภาพในการนำชีวมวลที่มีองค์ประกอบเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินมาใช้ประโยชน์	19
2.5 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีชีวภาพ	20
บทที่ 3. ระเบียบวิจัย	28
3.1 วัสดุและสารเคมี	28
3.2 วิธีทดลอง	34
3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	37
บทที่ 4. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	43
4.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมดและปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด	43
4.2 ปริมาณองค์ประกอบชีวมวล	44
4.3 ปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมและปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสะสม	47
4.4 ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรเจน	51

สารบัญเรื่อง(ต่อ)

บทที่ 5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	56
5.1 สรุปผลการทดลอง	56
5.2 ข้อเสนอแนะ	57
บรรณานุกรม	58
ภาคผนวก	61
ภาคผนวก ก.การวิเคราะห์ทางเคมี	62
ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์และกราฟเส้นมาตรฐาน	65
ภาคผนวก ค. ข้อมูลดิบและการคำนวณค่า	72
ประวัติผู้วิจัย	98

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบของเสียที่เป็นของแข็งต่อต้านของผลปาล์มสด	7
2.2 แสดงปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน ในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	9
2.3 ปริมาณเซลลูโลสในพืชและส่วนต่างๆของพืช	12
2.4 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูโลส	16
3.1 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและ เทคโนโลยีชีวภาพ แห่งชาติ (BIOTEC Central Research Unit)	29
3.2 แสดงค่าแอกติวิตีของเอนไซม์	30
3.3 แสดงปริมาตรกากปาล์ม ปริมาตรซิเตรทบัฟเฟอร์ ปริมาตรเอนไซม์ และปริมาตรจุลินทรีย์ที่ใส่ในขวดปฏิกรณ์	35
3.4 องค์ประกอบและความเข้มข้นของก๊าซมาตรฐานที่ใช้ฉีดเพื่อเปรียบเทียบกับ ก๊าซที่เกิดขึ้นในการทดลอง	42
4.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดในกากปาล์มส่วน เส้นใยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ	43
4.2 องค์ประกอบชีวมวลของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ	45

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 ส่วนปาล์มน้ำมันจังหวัดชุมพร	3
2.2 ส่วนประกอบของทะเลลายปาล์มน้ำมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	5
2.3 แสดงส่วนประกอบของกากปาล์มน้ำมัน	5
2.4 กากปาล์มน้ำมันส่วนทะเลลายเปล้า เนื้อใน เส้นใยและเนื้อในผล	7
2.5 แสดงส่วนประกอบในผนังเซลล์พืช	8
2.6 แสดงการแยกองค์ประกอบในเซลล์พืช	8
2.7 ก) สูตรโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส	10
ข) ลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลกลูโคสในเซลลูโลส	10
2.8 การเชื่อมโยงโมเลกุลของเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจน	10
2.9 แสดงลักษณะของไมโครไฟบริล (microfibril)	11
2.10 โครงสร้างเซลลูโลสที่พบในผนังเซลล์ของพืชทั่วไป	11
2.11 โครงสร้างเฮมิเซลลูโลส	13
2.12 โมเลกุลลิกนินที่ยึดติดกับไมโครไฟบริลของเซลลูโลส	13
2.13 สูตรโครงสร้างของลิกนิน	14
2.14 โครงสร้างของเซลลูโลสและตำแหน่งที่เอนไซม์ต่างๆเข้าทำปฏิกิริยา	18
2.15 เปรียบเทียบการใช้พลังงานของเชื้อเพลิงชนิดต่างๆ	19
2.16 การถ่ายทอดอิเล็กตรอนใน light reaction	20
2.17 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายของปฏิกิริยาไม่ใช้ออกซิเจน	24
2.18 ขั้นตอนการย่อยสลายในกระบวนการไฮโดรไลซิส	25
3.1 แสดงลักษณะจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้จากระบบบำบัดน้ำเสียยูเอเอสบีของโรงงานเส้นไหมชื่อเอง จำกัด กำลังขยาย 10X	31
3.2 ขวดปฏิกรณ์	31
3.3 ขั้นตอนโดยย่อในการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืชการวิเคราะห์โดยละเอียดแสดงในภาคผนวก ก	37
3.4 การแยกก๊าซมาตรฐานโดยเครื่องโครมาโทกราฟี	42
4.1 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดในกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อน	45

สารบัญภาพ(ต่อ)

4.2 เปรียบเทียบปริมาณเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน เซลลูโลส ในกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับและการปรับสภาพต่างๆ	46
4.3 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ	48
4.4 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสะสมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ	49
4.5 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ	52
4.6 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ	53
4.7 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ	55

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและความเป็นมา

ปัจจุบันผลผลิตทางการเกษตรมีจำนวนมากและถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์ม อุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลจากอ้อย อุตสาหกรรมผลไม้กระป๋อง เป็นต้น ก่อให้เกิดของเหลือทิ้งทางการเกษตรจำนวนมาก เช่น กากปาล์ม ชานอ้อย เปลือกสับปะรด ชังข้าวโพด ฯลฯ ของเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้มีองค์ประกอบหลักของชีวมวล คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน รวมเรียกว่า ลิกโนเซลลูโลส โดยมีปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด ซึ่งโครงสร้างนี้เป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน ดังนั้นการนำของเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุดจึงทำได้ยาก ส่วนใหญ่แล้วจะนำมาทำเป็นเชื้อเพลิง ปุ๋ยหมักหรือเป็นอาหารสัตว์ ซึ่งมีมูลค่าน้อย

งานวิจัยนี้จึงสนใจการเพิ่มมูลค่าให้แก่กากปาล์มน้ำมันที่เหลือทิ้งจำนวนมากจากอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์ม เนื่องจากน้ำมันปาล์มเป็นที่ต้องการของตลาดเพราะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มาก เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมผลิตสบู่ สารซักล้าง อุตสาหกรรมการผลิตไบโอดีเซล เป็นต้น โดยนำกากปาล์มมาผลิตให้ได้ก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีทางชีวภาพซึ่งก๊าซไฮโดรเจนเป็นก๊าซที่นำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมปิโตรเคมี อุตสาหกรรมผลิตแอมโมเนีย อุตสาหกรรมอาหารมีการนำก๊าซไฮโดรเจนมาใช้ในปฏิกิริยาเปลี่ยนไขมันไม่อิ่มตัวให้เป็นไขมันอิ่มตัวเพื่อป้องกันการเหม็นหืนเมื่ออาหารสัมผัสกับอากาศ เป็นต้นซึ่งก๊าซไฮโดรเจนที่นำมาใช้นั้นมีราคาแพงเพราะการแยกก๊าซไฮโดรเจนออกจากน้ำใช้ต้นทุนสูง นอกจากนี้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นทางเลือกหนึ่งในด้านพลังงานทดแทนคือเป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์เชื้อเพลิง (fuel cell) สามารถผลิตเป็นกระแสไฟฟ้าได้ เนื่องจากปฏิกิริยาอิเล็กโทรไลซิส ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแยกโมเลกุลของน้ำให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนและออกซิเจนโดยใช้กระแสไฟฟ้า หากทำการผันกลับปฏิกิริยาอิเล็กโทรไลซิสโดยใช้ก๊าซไฮโดรเจนและออกซิเจนเป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาจะทำให้สามารถผลิตกระแสไฟฟ้าและน้ำโดยไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม จากงานวิจัยอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้มาซึ่งก๊าซไฮโดรเจนที่มีต้นทุนต่ำเพราะวัตถุดิบในการผลิตเป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรแทนการแยกก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำด้วยกระแสไฟฟ้า หรือการนำเข้าจากต่างประเทศที่มีต้นทุนสูง แต่ศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของกากปาล์มน้ำมัน จากที่กล่าวมาของเหลือทิ้งทางการเกษตรจะมีโครงสร้างที่ซับซ้อนดังนั้นในงานวิจัยจึงมีการปรับสภาพกากปาล์มน้ำมันด้วยวิธีต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีทางชีวภาพ

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 ปรับสภาพกากปาล์มโดยใช้วิธีทางกายภาพ เคมี ชีวภาพ
- 1.2.2 เตรียมเอนไซม์จากเชื้อราเพื่อนำมาปรับสภาพ
- 1.2.3 วัดปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการปรับสภาพกากปาล์ม
- 1.2.4 วิเคราะห์ปริมาณของก๊าซไฮโดรเจน จากการหมักกากปาล์ม
- 1.2.5 เปรียบเทียบปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจากการปรับสภาพ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ปรับสภาพกากปาล์มส่วนเส้นใย

- 1.3.1.1 ทางกายภาพโดยการบด
- 1.3.1.2 ทางเคมีโดยการต้มในกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์, น้ำร้อน
- 1.3.1.3 ทางชีวภาพโดยใช้เอนไซม์ 2 แบบ คือ

1) เอนไซม์ที่สกัดจาก *Pithomyces maydicus* BCC 5744 (เอนไซม์ชนิดที่ 1) และ *Aspergillus sp.* BCC 4603 (เอนไซม์ชนิดที่ 2)

2) เอนไซม์ผสมเข้มข้น 2 ชนิด คือ Celluclast (เอนไซม์ผสมชนิดที่ 1) และ Novozyme (เอนไซม์ผสมชนิดที่ 2)

1.3.2 วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนินทั้งก่อนและหลังปรับสภาพ

1.3.3 หมักกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ปรับสภาพและไม่ปรับสภาพด้วยจุลินทรีย์ที่ได้มาจากระบบบำบัดน้ำเสียยูเอเอสบีของโรงงานเส้นไหมขอเอง จำกัด ตำบลยายชา อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม มีลักษณะเป็นเม็ดกลมเล็ก (granule) สีดำโดยกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

1.3.4 วิเคราะห์ปริมาตรก๊าซชีววมรวมและก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศโดยใช้อุปกรณ์ที่ใช่วัดปริมาตรก๊าซรวมและเครื่อง ก๊าซโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) ตามลำดับ

1.3.5 เปรียบเทียบปริมาตรก๊าซรวม ปริมาตรก๊าซรวมสะสม ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจน ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรเจนระหว่างกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและผ่านปรับสภาพแบบต่างๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน ในกากปาล์มส่วนเส้นใยก่อนและหลังปรับสภาพ

1.4.2 ทราบถึงปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักกากปาล์มส่วนเส้นใยโดยใช้จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้

บทที่ 2

ทฤษฎี

2.1 ปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชในสกุลปาล์มมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Elaeic oleifera* (ปาล์มน้ำมันอเมริกา) และมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Elaeiguineensis* Jacq มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ทางทวีปอเมริกา นำมาปลูกที่ประเทศอินโดนีเซีย พ.ศ.2531 และประเทศมาเลเซีย พ.ศ.2460 ต่อมาได้แพร่หลายอย่างกว้างขวาง สำหรับประเทศไทยมีการนำปาล์มน้ำมันเข้ามาปลูกที่ภาคใต้เป็นครั้งแรกที่จังหวัดสงขลาและปลูกเป็นเชิงการค้าครั้งแรกที่อำเภอปลายพระยา จังหวัดกระบี่ เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่ชอบอากาศเขตร้อนที่มีฝนตกชุก มีความชื้นสูง เนื้อดินสมบูรณ์เป็นที่ราบใกล้ชายฝั่งทะเล ไม่มีน้ำขังและอากาศถ่ายเทได้ดี จึงมีการปลูกอย่างแพร่หลายในภาคใต้และขยายพื้นที่ปลูกมายังภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง และจังหวัดใกล้เคียง



รูปที่ 2.1 สวนปาล์มน้ำมันจังหวัดชุมพร

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของปาล์มน้ำมัน

ลำต้นของปาล์มน้ำมันมีลำต้นตั้งตรง ประกอบขึ้นจากเนื้อเยื่อเส้นใยมียอดเดี่ยวรูปกรวย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-12 เซนติเมตร สูง 2.5-4 เซนติเมตร ประกอบไปด้วยใบอ่อนและเนื้อเยื่อเจริญ ถ้าเนื้อเยื่อเจริญนี้ถูกทำลายจะทำให้ต้นปาล์มตายได้ ไม่มีเนื้อเยื่อเจริญในระบบท่อน้ำท่ออาหารจะมีความสูงมากกว่า 30 เมตร อายุยืนนานมากกว่า 100 ปี แต่การปลูกปาล์มน้ำมันเป็นการค้าต้องการปาล์มน้ำมันที่มีความสูงไม่เกิน 15-18 เมตร และเก็บผลผลิตจนถึงอายุ 25 ปี

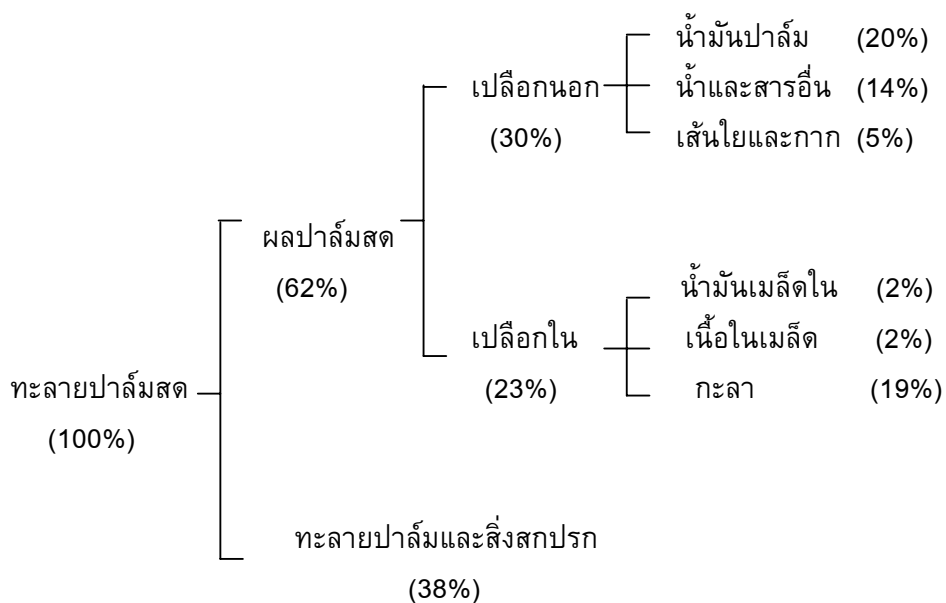
ใบประกอบรูปขนนก (Pinnate) ซึ่งเรียกว่า ทางใบ แต่ละทางใบแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแกนกลางที่มีใบย่อยอยู่ 2 ข้างและส่วนก้านทางใบซึ่งมีขนาดสั้นกว่าส่วนแรกและมีหนามสั้นๆ อยู่ 2 ข้าง แต่ละทางใบมีใบย่อยยาว 100-160 คู่ แต่ละใบย่อยยาว 100 -120 เซนติเมตรกว้าง 4 - 6 เซนติเมตร

รากเป็นระบบรากฝอยเช่นเดียวกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่วไป คือ รากอ่อนจะงอกออกจากเมล็ดเป็นอันดับแรกจากนั้นจะมีรากเกิดขึ้นรอบๆบริเวณรอยต่อของลำต้นและรากอ่อน

ดอกของปาล์มน้ำมันเนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีดอกเพศผู้และเพศเมียอยู่ภายใต้ต้นเดียวกัน ดอกแต่ละเพศจะออกรวมกันเป็นช่อ ช่อดอกตัวผู้และดอกตัวเมียมีลักษณะทั่วไปคล้ายกันคือ มีแกนกลางที่ประกอบกันขึ้นจากเส้นใยหรือที่เรียกว่า ก้านช่อดอก มีกาบหุ้ม 2 ใบ ที่ฐานช่อดอกกาบนี้จะหุ้มช่อดอกทั้งหมดไว้จนกระทั่ง 2-3 วันก่อนดอกบานจึงเปิดดอก บนก้านช่อดอกมีช่อดอกย่อยเรียงเป็นเกลียวอยู่โดยรอบและบนช่อดอกย่อยนี้จะมีตัวผู้หรือตัวเมียหรือดอกตัวเมียเรียงตัวอยู่เป็นเกลียวอยู่โดยรอบเช่นกัน

เมล็ดมีลักษณะแข็งซึ่งจะพบหลังจากลอกเปลือกนอกและส่วนที่ให้น้ำมันออก ประกอบด้วยส่วนของกะลา (Endocarp) และเนื้อในสีขาวอมเทาซึ่งมีน้ำมันสะสมอยู่และมีเยื่อสีน้ำตาลแก่หุ้มอยู่ โดยมีเส้นใยรองรับระหว่งเยื่อหุ้มกับกะลาอีกชั้นหนึ่ง

ทะลายปาล์มน้ำมันเมื่อสุกแก่เต็มที่มีน้ำหนักประมาณ 1-60 กิโลกรัม แปรไปตามอายุของปาล์มน้ำมัน กรณีที่ปลูกเป็นการค้าต้องการทะลายที่มีน้ำหนัก 10-25 กิโลกรัม จำนวนทะลายต่อต้นก็มีความแตกต่างกัน ทะลายปาล์มน้ำมัน ประกอบไปด้วยก้านทะลาย ช่อดอกย่อย และผลในแต่ละทะลายมีปริมาณผล 45-60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก



รูปที่ 2.2 ส่วนประกอบของทะลายปาล์มน้ำมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก) [อนุพลและอาสยา, 2541]



รูปที่ 2.3 แสดงส่วนประกอบของกากปาล์มน้ำมัน (www.biodiesel.eug.psu.ac.th)

2.1.2 ประโยชน์ของผลปาล์มน้ำมัน

ผลปาล์มน้ำมันสามารถนำมาสกัดได้เป็นน้ำมัน โดยผลิตเป็นน้ำมันพืชนำไปใช้เพื่อการบริโภคโดยตรงถึงร้อยละ 62 ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตอาหารร้อยละ 15 อุตสาหกรรมผลิตสบู่ สารซักล้าง และอื่นๆ อีกร้อยละ 23 ทำให้น้ำมันที่สกัดจากผลปาล์มเป็นที่ต้องการของตลาดจึงมีการขยายพื้นที่การปลูกปาล์มน้ำมันและอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์มมากขึ้น ผลปาล์มน้ำมันที่ผ่านการสกัดน้ำมันปาล์มนั้นจะเหลือส่วนที่เป็นของแข็ง คือ ทะลาย เส้นใยผล และเมล็ดในผล (รูปที่ 2.4) ซึ่งกากปาล์มน้ำมันเหล่านี้บางส่วนจะนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงอาหารสัตว์ และมีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้จากปาล์มน้ำมัน ได้แก่ ทะลายปาล์มเปล่า เส้นใยปาล์ม กากปาล์ม กากเมล็ดปาล์ม ไซสบู และไซสเดียริน เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ รวมทั้งการผลิตเพื่อจำหน่ายและการทำประโยชน์ในท้องถิ่น เช่น การใช้เส้นใยปาล์มที่เป็นผลิตภัณฑ์ได้จากอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์มขนาดใหญ่ และจากการสำรวจได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนี้

2.1.2.1 การใช้เส้นใยปาล์มและเศษกะลาเป็นเชื้อเพลิงในโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มขนาดใหญ่ โดยใช้เป็นเชื้อเพลิงป้อนเข้าหม้อกำเนิดไอน้ำ ซึ่งจะผลิตไอน้ำไปใช้ในการอบทะลายปาล์มและผลิตกระแสไฟฟ้าใช้ในโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

2.1.2.2 การนำเส้นใยปาล์มมาผลิตเป็นวัสดุก่อสร้างในท้องถิ่นเรียกว่า แผ่นใยปาล์ม-ซีเมนต์ (สุทัศน์ สุวรรณสินธุ์ และพิชัย นิมิตรยงสกุล) สำหรับต้นทุนการผลิตแผ่นใยปาล์ม-ซีเมนต์ ขนาด 1 ตารางเมตร ราคาแผ่นละ 21 บาท ซึ่งจะถูกกว่าแผ่นใยไม้-ซีเมนต์ที่มีราคาต้นทุนวัสดุตารางเมตรละ 52 บาท ผลงานวิจัยนี้ จึงจะนำไปส่งเสริมแก่เกษตรกรสวนปาล์มให้นำเส้นใยปาล์ม มาทำวัสดุก่อสร้างที่มีต้นทุนต่ำ

2.1.2.3 การนำเส้นใยปาล์มไปทำวัสดุสำหรับเพาะเห็ดฟาง (กรมวิชาการเกษตร, 2530) โดยสามารถใช้กากเส้นใยปาล์มหรือกากปาล์มที่มีส่วนผสมของกะลาและเมล็ดในในการเพาะเห็ดฟางในโรงเรียน

กากปาล์มน้ำมันจะเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ไร้คุณค่าเนื่องจากกากปาล์มน้ำมันมีองค์ประกอบหลักเป็น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ย่อยสลายยากทำให้การนำกากปาล์มน้ำมันมาใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆทำได้ยาก



รูปที่ 2.4 กากปาล์มน้ำมันส่วนทะเลาะเปลา เนื้อใน เส้นใยและเนื้อในผล

2.2 องค์ประกอบของกากของแข็งที่เหลือจากอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมัน

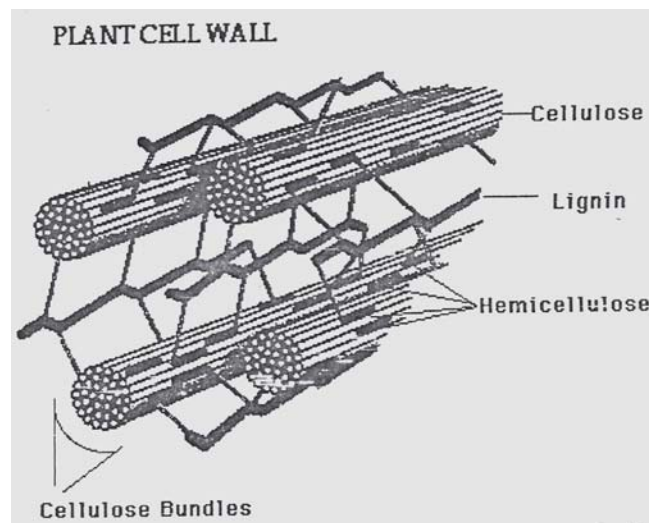
กากปาล์มน้ำมันที่ผ่านการสกัดน้ำมัน เช่น ทะละาะ เส้นใย เมล็ดในผล เป็นเศษพืชที่เหลือทิ้งทางการเกษตรมีองค์ประกอบของเสียที่เป็นของแข็งต่อต้านของผลปาล์มสดดังนี้

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของเสียที่เป็นของแข็งต่อต้านของผลปาล์มสด

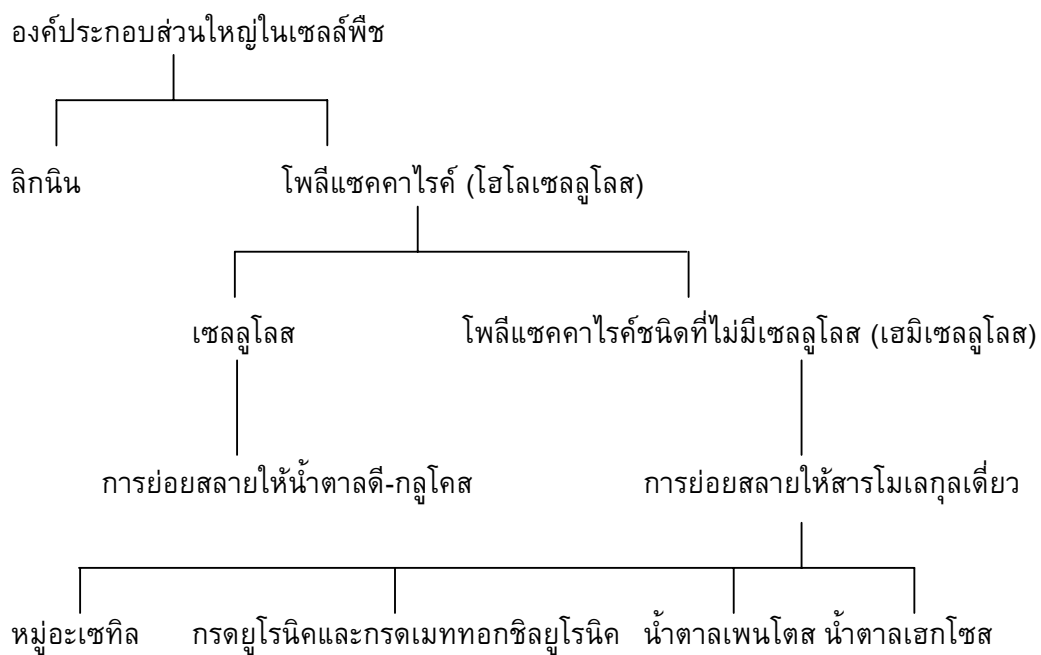
ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร, 2547

ชนิดของของเสีย	จำนวน (กิโลกรัม/ตันผลปาล์มสด)
ทะเลาะปาล์มเปลา	200 – 230
กะลา	60
เส้นใย	145

องค์ประกอบของของแข็งในผนังเซลล์พืชนั้นส่วนใหญ่ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ประกอบกันเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อนยากต่อการย่อยสลาย (รูปที่ 2.5) สามารถแยกองค์ประกอบในเซลล์พืชได้ดังรูปที่ 2.6 และมีปริมาณแตกต่างกันตามชนิดของพืช (ตารางที่ 2.2)



รูปที่ 2.5 แสดงส่วนประกอบในผนังเซลล์พืช (Blackburn et al., 1999)



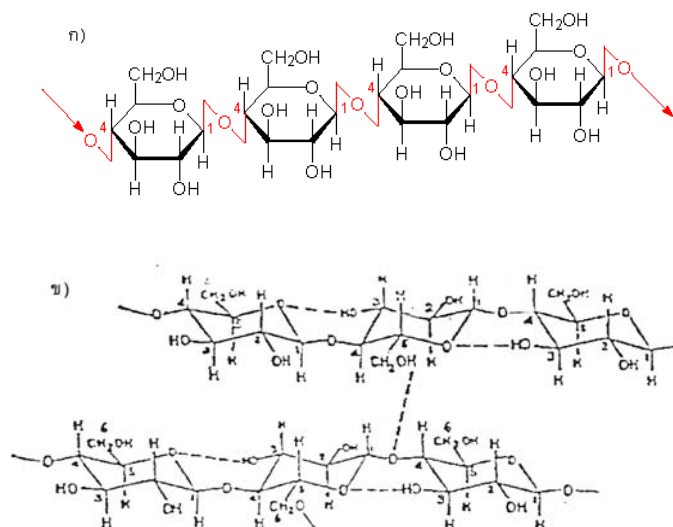
รูปที่ 2.6 แสดงการแยกองค์ประกอบในผนังเซลล์พืช (พรรณวิไล, 2545)

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน ในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (พรณวิไล, 2545 และ Martin, A.M., 1991)

ชนิดของวัสดุ เหลือทิ้งทาง การเกษตร	ส่วนประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนัก)			
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	เถ้า
เศษไม้ที่เหลือ ทิ้ง	45-56	10-25	18-30	-
ฟางข้าว	32.1	24	12.5	17.5
ฟางข้าวสาลี	30.5	28.4	18	2.4
ชานอ้อย	33.4	30	18.9	2.4
ชังข้าวโพด	45	35	15	-
ต้นมันสำปะหลัง	32.2	13.85	26.96	-

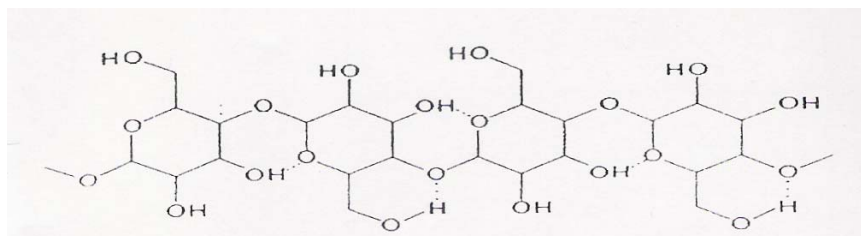
2.2.1 เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลสเป็นสารประกอบหลักที่สำคัญของเซลล์พืชต่างๆและมีปริมาณที่แตกต่างกันตามชนิด อายุ และส่วนต่างๆกันของพืช พบมากในผัก ผลไม้ ธัญพืช ไม้เนื้ออ่อน สน ยูคาลิปตัส ซึ่งในต่างประเทศจะใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเซลลูโลสคุณภาพสูง นอกจากนี้ยังพบในวัสดุที่เหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น หญ้า ฟางข้าว กากอ้อย กากปาล์ม ชังข้าวโพด เซลลูโลสเป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยโมเลกุลของดี-กลูโคส (D-glucose) หลายๆหน่วย ตั้งแต่ 15 ถึง 40,000 หน่วย มาต่อกันด้วย พันธะ 1, 4-ไกลโคสิติก (1,4-glycosidic bond) ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 1 ของกลูโคสกับคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 ของกลูโคสโมเลกุลถัดไป แต่ละโมเลกุลของเซลลูโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (รูปที่ 2.8) ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, -OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนที่อยู่ในวงแหวน (ring) ของโมเลกุลถัดไปและเชื่อมต่อยาวสายเซลลูโลสที่ขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 กับออกซิเจนที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลดี-กลูโคสในอีกสายหนึ่ง การจัดเรียงตัวของโมเลกุลเซลลูโลสมีลักษณะเป็นเส้นตรงไม่มีแขนงย่อย มีสูตรทางเคมีคือ $-(C_6H_{10}O_5)_n$ เมื่อ n คือจำนวนหน่วยของดี-กลูโคสทั้งหมดที่ประกอบกันเป็นโครงสร้าง ดังรูป



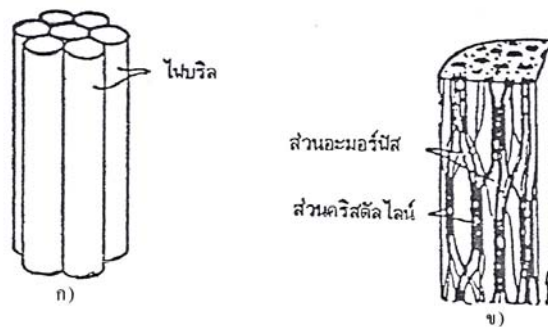
รูปที่ 2.7 ก) สูตรโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส

ข) ลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลกลูโคสในเซลลูโลส (Nisizawa, 1978)



รูปที่ 2.8 การเชื่อมโยงโมเลกุลของเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจน (Ross, 1950)

การจัดเรียงตัวของดี-กลูโคส ทำให้สายเซลลูโลสเรียงตัวขนานกัน เรียกว่า คริสตัลไลน์ไมเซลล์ (crystalline micelles) ซึ่งมีการจัดเรียงโมเลกุลอย่างเป็นระเบียบ ล้อมรอบอยู่ในตาข่ายในส่วนที่เป็นอะมอร์ฟัส (amorphous region) ซึ่งมีการจัดเรียงโมเลกุลไม่เป็นระเบียบแต่ละไมเซลล์จะประกอบด้วยโมเลกุลของเซลลูโลสประมาณ 100 โมเลกุล มีรูปร่างเป็นแถบหนา ไมเซลล์จะเรียงตัวเป็นโครงสร้างที่ใหญ่ขึ้น เรียกว่า ไมโครไฟบริล (microfibril)

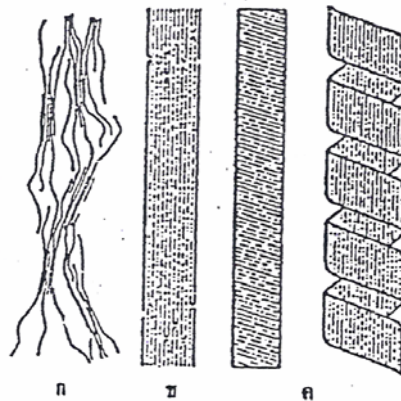


รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของไมโครไฟบริล (microfibril)

- ก) กลุ่มของไมโครไฟบริลที่เรียงขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจน
- ข) ภาพตัดตามยาวของไมโครไฟบริล (Nisizawa, 1973)

โครงสร้างเซลลูโลสในผนังเซลล์พืชสามารถแบ่งได้ 3 ลักษณะตามการจัดเรียงตัวของไมโครไฟบริลได้ คือ

- 2.2.1.1 ฟริงจ์ไมเซลล์ (Fringe micellar) คือ ไมโครไฟบริลที่เรียงตัวเป็นริ้วๆ ประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึก (crystalline) และอสัณฐาน (amorphous region)
- 2.2.1.2 โครงสร้างเซลลูโลสที่ม้วนหรือพันไปตามแกนของเส้นใยเซลลูโลส
- 2.2.1.3 โครงสร้างเซลลูโลสที่มีลักษณะเป็นริบบิ้นหนาเกิดจากการม้วนไปมาโดยตั้งฉากกับแกนของริบบิ้นและริบบิ้นจะม้วนเป็นเกลียว (helix)



รูปที่ 2-10 โครงสร้างเซลลูโลสที่พบในผนังเซลล์ของพืชทั่วไป

- ก) ฟริงจ์ไมเซลล์
- ข) โครงสร้างเซลลูโลสที่ม้วนหรือพันไปตามแกนของเส้นใยเซลลูโลส
- ค) โครงสร้างเซลลูโลสที่มีลักษณะเป็นริบบิ้นหนา (Nisizawa, 1973)

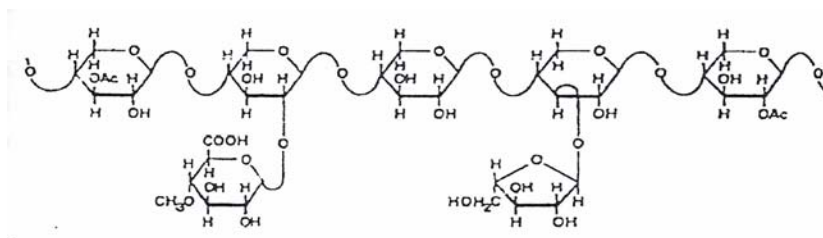
ปริมาณเซลลูโลสในส่วนต่างๆ ของพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณเซลลูโลสในพืชและส่วนต่างๆของพืช (James P. and Casey, 1960)

ชนิดของพืช	ส่วนต่างๆของพืช	ปริมาณเซลลูโลส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ข้าว	แกลบ	42
	ฟาง	30-42
ข้าวโอต	แกลบ	51
	ฟาง	40
ข้าวบาเลย์	ฟาง	40
ข้าวโพด	ต้น	36-43
	ชัง	28
ไม้สน	ลำต้น	41-44
ป่าน	เส้นใย	65
ฝ้าย	เปลือกหุ้มเมล็ด	60
	เส้นใย	91
	ลำต้น	35
อ้อย	ต้นแก่	42
	ชานอ้อย	48
ถั่วเหลือง	เปลือก	52
สับปะรด	กากแห้ง	25

2.2.2 เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose)

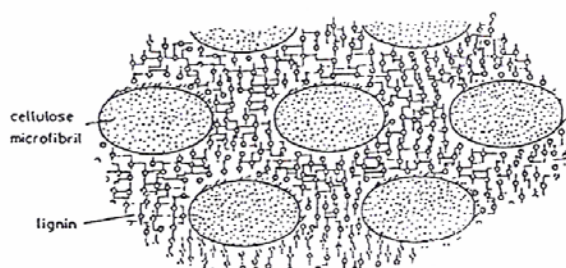
เฮมิเซลลูโลสเป็นอินทรีย์สารที่พบมากเป็นอันดับสองรองมาจากเซลลูโลสเป็นโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่เรียงตัวอยู่ระหว่างกลางในสายเซลลูโลสพบว่ามีลักษณะเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส (pentose) ซึ่งส่วนมากเป็นดี-ไซแลน (D-xylan) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส (xylose) หลายๆโมเลกุลต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1, 4-ไกลโคซิดิก (ระวีวรรณ แก้วกล้า, 2538 และ Ross, 1950) มีสูตรทางเคมีคือ $(C_6H_{12}O_5)_n$ มีโครงสร้าง ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 โครงสร้างเฮมิเซลลูโลส (Ericksson et al., 1990)

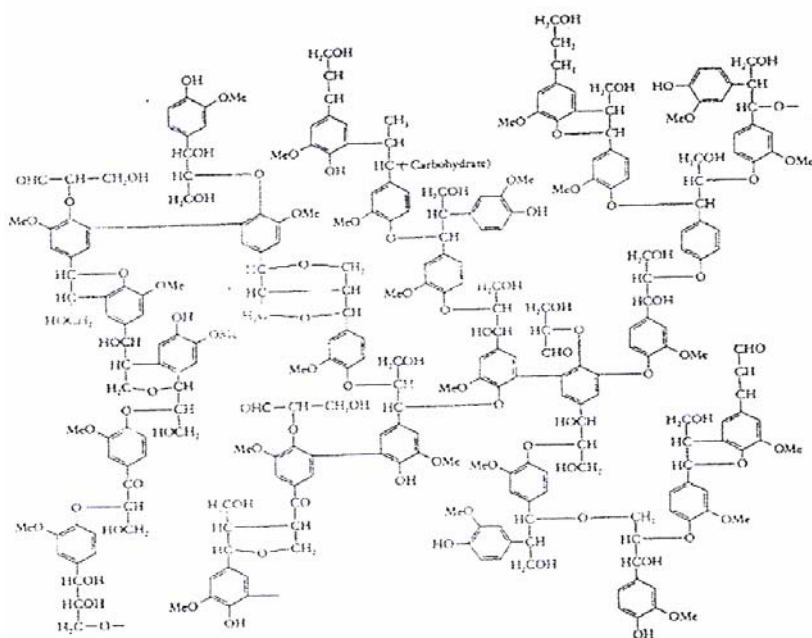
2.2.3 ลิกนิน (lignin)

ลิกนินพบได้ในพืชที่มีท่อลำเลียงโดยทำหน้าที่เสริมสร้างความแข็งแรงและเชื่อมจับเส้นใยของผนังเซลล์เข้าไว้ด้วยกัน ลิกนินยังช่วยลดการผ่านเข้าออกของน้ำผ่านผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อไซเลม (Xylem) และทำให้เนื้อไม้มีความต้านทานต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้ลิกนินยังเป็นอุปสรรคสำคัญในการจะใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสเพื่อการผลิตน้ำตาลและเอทานอลเนื่องจากลิกนินจะทำหน้าที่เชื่อมต่อกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสด้วยพันธะโควาเลนต์ เกิดเป็นสารประกอบลิกโนเซลลูโลส



รูปที่ 2.12 โมเลกุลลิกนินที่ยึดติดกับไมโครไฟบริลของเซลลูโลส (พรรณวิไล, 2545)

โครงสร้างของลิกนิน เป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบอะโรเมติกที่มีโครงสร้างซับซ้อน หรือ เรียกว่า ฟีนอลิกโพลีเมอร์ (phenolic polymer) โดยมีหน่วยฟีนิลโพรเพน (phenylpropan unit) เรียงต่อกันแบบสุ่ม (random) ที่มีฟีนอล (phenol unit) อาจเป็น กัวอีเอซิล (guaiacyl) หรือไฮริงกิล (syringyl) ที่ตำแหน่งแอลฟาและเบต้าของโมเลกุลลิกนิน อาจเกิดการเชื่อมระหว่างโมเลกุล หรือคาร์บอนในหน่วยฟีนอลอาจเกิดพันธะกับคาร์บอนในอีกหน่วยหนึ่งภายในสายโพลีเมอร์ที่ประกอบกันเป็นโมเลกุลลิกนิน ทำให้ลิกนินมีโครงสร้างที่แข็งแรง ไม่ละลายน้ำ



รูปที่ 2.13 สูตรโครงสร้างของลิกนิน (Glazer A.W. and Nikaido H., 1995)

ผนังเซลล์ของพืชมีองค์ประกอบที่ซับซ้อนและมีโครงสร้างที่แข็งแรงดังนั้นการจะนำพืชมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ ควรมีการปรับปรุงสภาพพืชก่อน เช่น การผลิตเอทานอลจากกากสับปะรด (นฤมล ศรีพุทธรัตน์ และกาญจนา ทูมมานนท์, 2529) ในงานวิจัยนี้มีการเสนอแนะให้มีการปรับปรุงสภาพกากสับปะรดด้วยวิธีอื่นๆ เพื่อลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มศักยภาพการใช้วัตถุดิบให้ได้ผลิตภัณฑ์มากที่สุด

2.3 การปรับปรุงชีวมวลก่อนนำไปใช้ประโยชน์

การปรับปรุงชีวมวลก็เพื่อแยกคาร์โบไฮเดรตออกจากการยึดจับของลิกนินและขณะเดียวกันจะต้องมีการทำลายโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลให้น้อยที่สุดด้วย (Mielenz, 2001) นอกจากนี้การปรับปรุงพืชยังต้องเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เช่น เพิ่มพื้นผิวและรูพรุนของสับสเตรท ลดความเป็นผลึก (crystalline) ของเซลลูโลสลง เป็นต้น โดยทั่วไปการปรับปรุงพืชมี 3 วิธี คือ

2.3.1 ทางกายภาพ (Physical pretreatment)

2.3.1.1 การบดหรือโม เป็นการลดผลึกของเส้นใยที่ประกอบด้วยไมโครไฟเบอร์จำนวนมากซึ่งในแต่ละไมโครไฟเบอร์นั้นประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึกให้แตกออกเป็นเพื่อพื้นที่ผิวของวัตถุดิบทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้น

2.3.1.2 การทำให้เกิดออกซิเดชันแบบเปียก (wet oxidation) เป็นการให้

ความร้อนกับวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยทำที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสในน้ำที่มีออกซิเจนภายใต้ความดันสูง

2.3.1.3 กระบวนการใช้อุณหภูมิความดันสูง เป็นการทำให้วัตถุดิบที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบนั้นอิมัตว์ด้วยไอน้ำและอุณหภูมิสูงแล้วลดความดันลงทันทีทำให้น้ำระเหยอย่างรวดเร็วเป็นเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพในวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยเกิดการเสียสภาพของโครงสร้างผนังเซลล์พืชทำให้เส้นใยแยกออกจากกันทำให้พันธะที่เชื่อมระหว่างเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินแยกออกจากกันเพิ่มพื้นที่ผิวให้มากขึ้นด้วย

งานวิจัยการปรับสภาพกากสับประดจากโรงงาน (นฤมล ศรีพุทธรัตน์ และ กาญจนา ทูมมานนท์, 2529) ได้ทำการปรับสภาพ 3 วิธีคือ การไม่จนได้ขนาดอนุภาค 250 ไมครอน การอบไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 3 ชั่วโมงและการไม่ควบคู่กับการอบไอน้ำผลของการปรับสภาพโดยการไม่ควบคู่กับการอบไอน้ำจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด

2.3.2 ทางเคมี (Chemical pretreatment)

2.3.2.1 การใช้กรด เป็นการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้สารละลายกรดแก่ เช่น กรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริกทำให้เฮมิเซลลูโลสละลายน้ำออกมา

2.3.2.2 การใช้ด่างเป็นการปรับสภาพโดยใช้สารละลายด่าง เช่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะมีผลทำให้เฮมิเซลลูโลสและลิกนินละลายออกมาและยังทำให้เกิดการพองตัว (swelling) เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวของวัตถุดิบ

งานวิจัยการปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลส(Okeke and Obi, 1995) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีพบว่า การปรับสภาพก่อนนำไปย่อยจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้ผลผลิตน้ำตาลสูงขึ้น 24-53 เปอร์เซ็นต์

2.3.2.3 การใช้สารออกซิเดนต์ (oxidant) เช่น SO_2 และสารละลายกำจัดลิกนิน เช่น SO_3 โดยมีผลต่อการละลายของลิกนิน

2.3.3 ทางชีวภาพ (Biological pretreatment) เป็นการใช้อินทรีย์จากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้เชื้อราเพราะสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นการเปลี่ยนโครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสและช่วยลดความเป็นผลึก จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสซึ่งมีอยู่หลายชนิด ดังตาราง ที่นิยมนำมาใช้คือ เชื้อรา *Trichoderma ressi*

ตารางที่ 2.4 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูโลส (พรรณวิไล, 2545)

เชื้อรา	แบคทีเรีย	แอคติโนมัยซีตีส
<i>Acremonium celluloyticus</i>	<i>Clostridium themocellum</i>	<i>Streptomyces</i> sp.
<i>Aspergillus acculeatus</i>	<i>Ruminococcus albus</i>	<i>Thermoactinomyces</i> sp.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Thermoactinomyces</i>
<i>Aspergillus niger</i>		<i>curvata</i>
<i>Fusarium solani</i>		
<i>Irpex lacteus</i>		
<i>Penicillium funmiculosum</i>		
<i>Phanerochaete</i>		
<i>Chrysosporium</i>		
<i>Schizophyllum commune</i>		
<i>Sclerotrichum</i>		
<i>cellulophilum</i>		
<i>Talaromyces emersonil</i>		
<i>Thielavia terrestris</i>		
<i>Trichodema koningil</i>		
<i>Trichodema ressi</i>		
<i>Trichodema viride</i>		

เอนไซม์เซลลูโลสมีองค์ประกอบของเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด ทำงานร่วมกันดังนี้

2.3.3.1 เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) หรือ

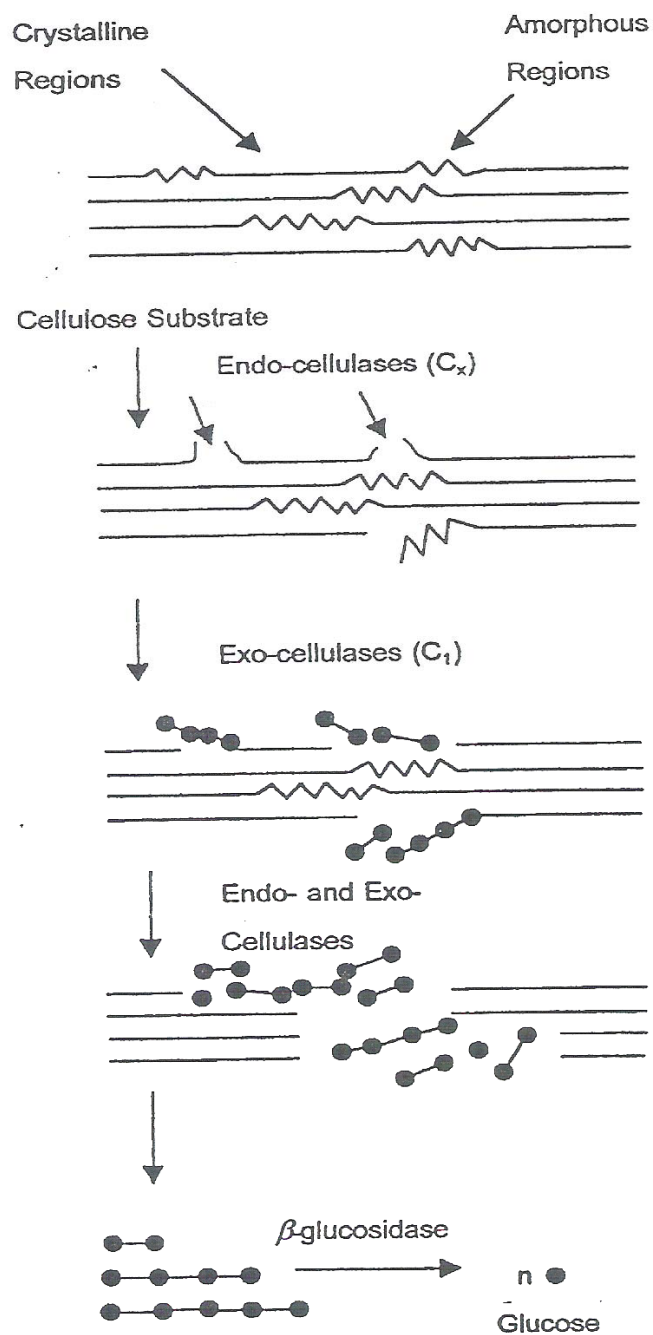
endo β -1,4-glucanohydroiase หรือ EBG หรือ C_x ทำหน้าที่ตัดพันธะเบต้า 1,4 ภายในสายเซลลูโลสบริเวณโครงสร้างอะมอร์ฟัส อย่างสุ่ม (randomly acting) ทำให้เกิดปลายอิสระขึ้นทำให้ได้เซลโลไบโอส (cellobiose), โอลิโกเซลลูโลส (oligocellulose) และกลูโคสในปริมาณที่น้อยมาก

2.3.3.2 เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) หรือ

Exo β -1,4-glucanocellobiohydrolase หรือ CBH หรือ C_1 ทำหน้าที่ย่อยสลาย โดยการตัดโมเลกุลของเซลโลไบโอสออกจากปลายที่เป็นอิสระหรือการย่อยสลายเซลลูโลสและโอลิโกเซลลูโลส ไปเป็น เซลโลไบโอส

2.3.3.3 เบต้า-กลูโคซิเดส (β -glucosidase) หรือ เซลโลไบเอส (cellobiase) หรือ C_b ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบเอสไปเป็นกลูโคส ซึ่งเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสจะเป็นตัวส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส และเอนไซม์เอกโซกลูคาเนส ทำให้ย่อยสลายได้กลูโคสมากขึ้น การย่อยสลายเซลลูโลสจะได้ปริมาณกลูโคสมากหรือน้อยขึ้นกับสัดส่วนของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสในเซลลูเลสว่ามีมากหรือน้อย ดังนั้น เอนไซม์ตัวนี้จึงเป็นกุญแจสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส

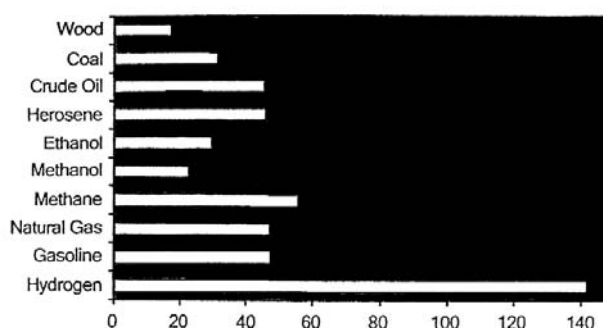
เซลลูโลสจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ในดิน จะเกิดขึ้นเมื่อมีเซลลูโลส เซลโลไบเอสหรือโพลีแซคคาไรด์อื่น ที่มีโมเลกุลของกลูโคสประกอบอยู่เป็นตัวกระตุ้น (inducer) จุลินทรีย์จะสร้างให้เอนไซม์ C_x และ C_1 ซึ่งเป็น extracellular enzymes ขับออกมานอกจุลินทรีย์ได้ หลังจากนั้นเอนไซม์ C_b ซึ่งเป็น intracellular enzymes จึงเข้าทำการย่อยสลายเซลโลไบเอสให้เป็นกลูโคส กลไกของเอนไซม์เซลลูเลสและตำแหน่งที่เข้าทำปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 โครงสร้างของเซลลูโลสและตำแหน่งที่เอนไซม์ต่างๆเข้าทำปฏิกิริยา (พรรณวิไล, 2545)

2.4 ศักยภาพในการนำชีวมวลที่มีองค์ประกอบเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินมาใช้ประโยชน์

ชีวมวลที่ได้จากกิจกรรมทางการเกษตรหรือของเหลือทิ้งทางการเกษตรเช่น เหมืองแร่ ลำปะหลัง หญ้าแฝก ผักตบชวา ชานอ้อย ชังข้าวโพด กากสับปะรด เปลือกกล้วย ฟางข้าว รำข้าว เส้นใยป่านศรนารายณ์ เป็นต้น สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ เช่น การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว (ระวีวรรณ แก้วกล้า, 2538) เส้นใยป่านศรนารายณ์ (สันทนา เสถียรไพศาล, 2539) กากสับปะรด (นฤมล ศรีพุทธรัตน์ และกาญจนา ทুমมานนท์, 2529) หญ้าแฝกหอม (อรุณวรรณ นุชพวง, 2547) การผลิตอะซิโตน-บิวทานอลจากผักตบชวา (ปราณี สติรพิพัฒนกุล, 2532) การผลิตปุ๋ยหมักจากเปลือกกล้วย (ประยูร คำเต็ม, 2547) การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเปลือกกล้วย (วรรณภา ยงสุวรรณไพศาล, 2546) การผลิตเอนไซม์อะซีทิลเอสเทอร์จากเปลือกข้าวโพด (เวฬุรีย์ ทองคำ, 2547) การผลิตเอนไซม์แอลฟา-แอล-อะราบีโนฟิวราโนไซด์จากรำข้าวสาลี (วิชุดา เหล่าเรืองธนา, 2547) และการผลิตน้ำตาลที่สามารถเปลี่ยนเป็นสารไซลิทอลจากเปลือกทุเรียน ชังข้าวโพด ฟางข้าว (ชมพูนุช หาญนันทวิวัฒน์, 2547) เป็นต้น ปัจจุบันได้มีการพัฒนาศักยภาพการนำชีวมวลมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านพลังงานทดแทนเนื่องจากวิกฤตการณ์พลังงานที่ราคาน้ำมันพุ่งสูงขึ้นส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจโลกจึงมีการค้นคว้าหาเชื้อเพลิงที่เป็นแหล่งพลังงานอื่นๆมาทดแทนน้ำมันเช่น เอทานอล ก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน เป็นต้น และพบว่าก๊าซไฮโดรเจนให้พลังงานต่อหน่วยได้สูงสุดในบรรดาเชื้อเพลิงต่างๆ (รูปที่ 2.15) นอกจากนี้จะเป็นเชื้อเพลิงที่ใช้ในการเผาไหม้แล้วก๊าซไฮโดรเจนยังเป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์เชื้อเพลิง (fuel cell) เพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าอีกด้วย

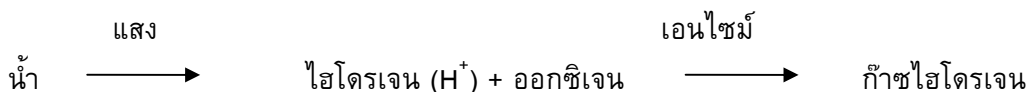


รูปที่ 2.15 เปรียบเทียบการใช้พลังงานของเชื้อเพลิงชนิดต่างๆ

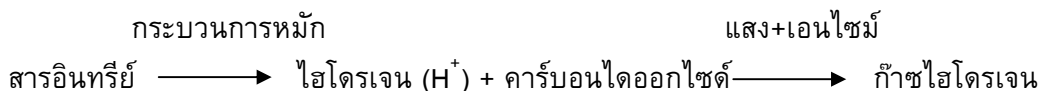
2.5 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีชีวภาพ

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ คือการใช้สิ่งมีชีวิตบางชนิดมาผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Biohydrogen) ในปริมาณมากผลิตได้จากทรัพยากรธรรมชาติที่ใช้ไม่หมด เช่น แสงแดดและน้ำ อีกทั้งยังผลิตได้จากกากของเสียที่เป็นชีวมวล (biomass) หรือจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียได้อีกด้วย เป็นการช่วยอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมไปในตัว การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพจึงเป็น "เทคโนโลยีสีเขียว" (green technology) สำหรับอนาคต ซึ่งสิ่งมีชีวิตที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ พวกแรกที่ใช้กระบวนการสังเคราะห์แสงในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ได้แก่ สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) และแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้ (Photosynthetic bacteria) โดยสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) และสิ่งมีชีวิตพวกที่ 2 ใช้กระบวนการหมักในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

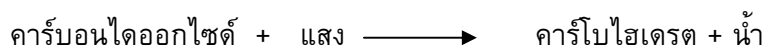
สิ่งมีชีวิตที่ใช้กระบวนการสังเคราะห์แสงแยกอะตอมของไฮโดรเจนและออกซิเจนจากน้ำแล้วนำไฮโดรเจนอะตอมที่ได้ไปสังเคราะห์เป็นก๊าซไฮโดรเจนอีกทีโดยใช้เอนไซม์ไฮโดรจีเนส (hydrogenase) หรือเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) (Kosaric, 1998, Nandi, 1998, and Benemann, 1996)



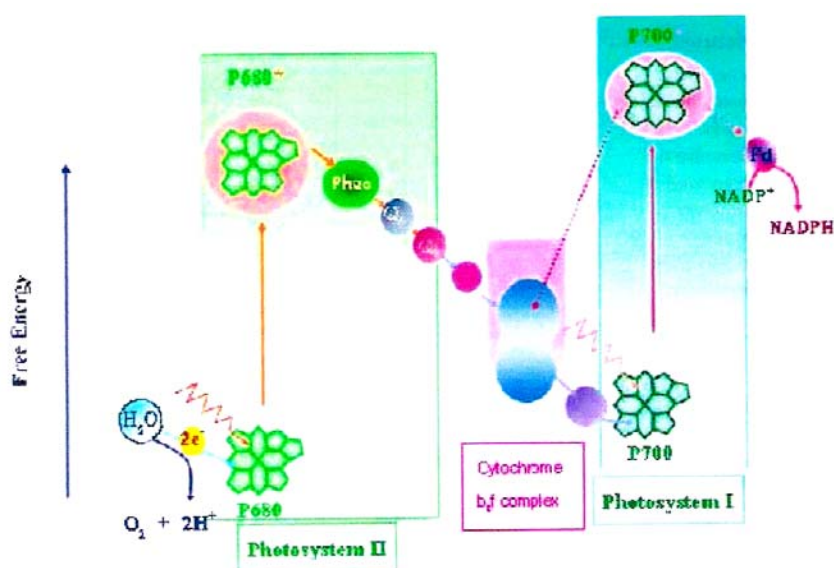
ส่วนแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้ (Photosynthetic bacteria) จะแยกก๊าซไฮโดรเจนจากสารอินทรีย์ที่ใช้ผลิตอาหารโดยอาศัยกระบวนการหมักซึ่งจะย่อยสลายสารอินทรีย์อย่างสมบูรณ์ให้กลายเป็นไฮโดรเจนอะตอมและคาร์บอนไดออกไซด์แล้วใช้พลังงาน (ATP) ส่วนหนึ่งจากกระบวนการสังเคราะห์แสงมาช่วยเอนไซม์ไนโตรจีเนส ในการสังเคราะห์ก๊าซไฮโดรเจน



การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากพลังงานแสงอาทิตย์อาศัยกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthetic) ซึ่งจะเป็นกระบวนการที่จะดึงเอาพลังงานแสงมาใช้เป็นพลังงาน เพื่อสลายโมเลกุลของน้ำให้ได้เป็นออกซิเจนโปรตรอนและอิเล็กตรอนเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการอื่น ๆ เช่น ผลิตเป็นสารประกอบคาร์บอนในชีวมวล (biomass) ดังสมการ



กระบวนการสังเคราะห์แสงนี้จะพบได้ในพืช และสาหร่ายสังเคราะห์แสง แต่กระบวนการสังเคราะห์แสงที่จะนำมาใช้เพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนนี้จะเปลี่ยนจากการผลิตสารประกอบคาร์บอนในชีวมวลมาผลิตเป็นแก๊สไฮโดรเจนแทน โดยกระบวนการสังเคราะห์แสงนี้จะเกี่ยวข้องกับระบบของการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน 2 แบบ คือ photosystemI หรือ PSI ซึ่งจะดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร และ photosystemII หรือ PSII ซึ่งจะดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร ซึ่งทั้ง 2 ระบบนี้จะทำหน้าที่ร่วมกันเพื่อให้สามารถถ่ายทอดพลังงานแสงไปใช้ในการสร้าง ATP และ NADPH การถ่ายทอดอิเล็กตรอนใน light reaction เป็น (รูปที่ 2.16) ซึ่งมีงานวิจัยหลายงานวิจัยได้ทำการทดลองผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้สาหร่าย พบว่าสาหร่ายสามารถผลิตแก๊สไฮโดรเจนได้ (Gaffon and Rubin, 1992, Benemann et al., 1980, Lee and Greenbaum, 1997, Kumazawa and Mitsui, 1981, and Healey, 1970)



รูปที่ 2.16 การถ่ายทอดอิเล็กตรอนใน light reaction (www.emc.maricopa.edu)

สิ่งมีชีวิตที่ใช้กระบวนการหมักในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้แก่กลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic microorganism) ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ไปเป็น ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน โดยมากเป็นพวกแบคทีเรีย ซึ่งประกอบไปด้วยแบคทีเรียหลายกลุ่มที่มีการทำงานร่วมกันถึงแม้ว่าอาจพบเชื้อราและโปรโตซัวในระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน แต่แบคทีเรียเป็นกลุ่มที่มีมากที่สุดและมีบทบาทสำคัญที่สุด แบคทีเรียพวก Strictly และ facultative anaerobic bacteria จำนวนมาก เช่น *Bacteriodes sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium sp.*, *Lactobacillus sp.*, และ *Streptococcus sp.* มีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) และ กระบวนการหมัก (fermentation) ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆที่มีโครงสร้างซับซ้อนภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายอยู่ในรูปของก๊าซชีวภาพนั้นจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ซึ่งส่วนมากเป็นพวกแบคทีเรีย แบคทีเรียที่มีบทบาทต่อกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ พวกแบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน (Non-Methanogenic bacteria) และ พวกแบคทีเรียที่สร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) การย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ไปเป็นสารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง อาศัยการทำงานที่สัมพันธ์กันของแบคทีเรียเหล่านี้

2.5.1 แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่สร้างมีเทน (Non - Methanogenic bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มไม่สร้างมีเทนประเภทนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนอย่างเด็ดขาด (obligate anaerobes) และแบคทีเรียพวกที่ใช้ออกซิเจนได้บางส่วนใหญ่เป็นพวก facultative anaerobic bacteria ซึ่งสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งในสภาวะแวดล้อมที่มีและไม่มีออกซิเจน โดยได้รับพลังงานที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ให้เป็นกรดไขมันระเหยง่าย กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน แอมโมเนีย และซัลไฟด์ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงพีเอช 4.0-6.5 ทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมได้ดีมีอัตราการเจริญเติบโตสูง แบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้เป็น 2 เท่าภายในเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียประเภทไม่สร้างมีเทนที่สามารถสร้างไฮโดรเจนได้จากกรดอินทรีย์ขนาดใหญ่มีบทบาทสำคัญในฐานะเป็นตัวเชื่อมระหว่างแบคทีเรียที่สร้างกรดแบบธรรมดาและแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ทั้งนี้เพราะปฏิกิริยาที่สร้างไฮโดรเจน เช่น ปฏิกิริยาฟอสฟอโรคลาสติคสามารถสร้างกรดอะซิติกได้จากสารอินทรีย์อื่นด้วย แบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทนหมอบกรดอะซิติกและสารอินทรีย์อย่างง่ายให้เป็นอาหารของแบคทีเรียสร้างมีเทน

2.5.2 แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทน (Methanogenic bacteria)

กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ มีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ สารตั้งต้นของขั้นตอนนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มาจากขั้นตอนการเกิดกรดโดยสารตั้งต้นที่มีความสำคัญมากที่สุด คือ กรดอะซิติก ไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์

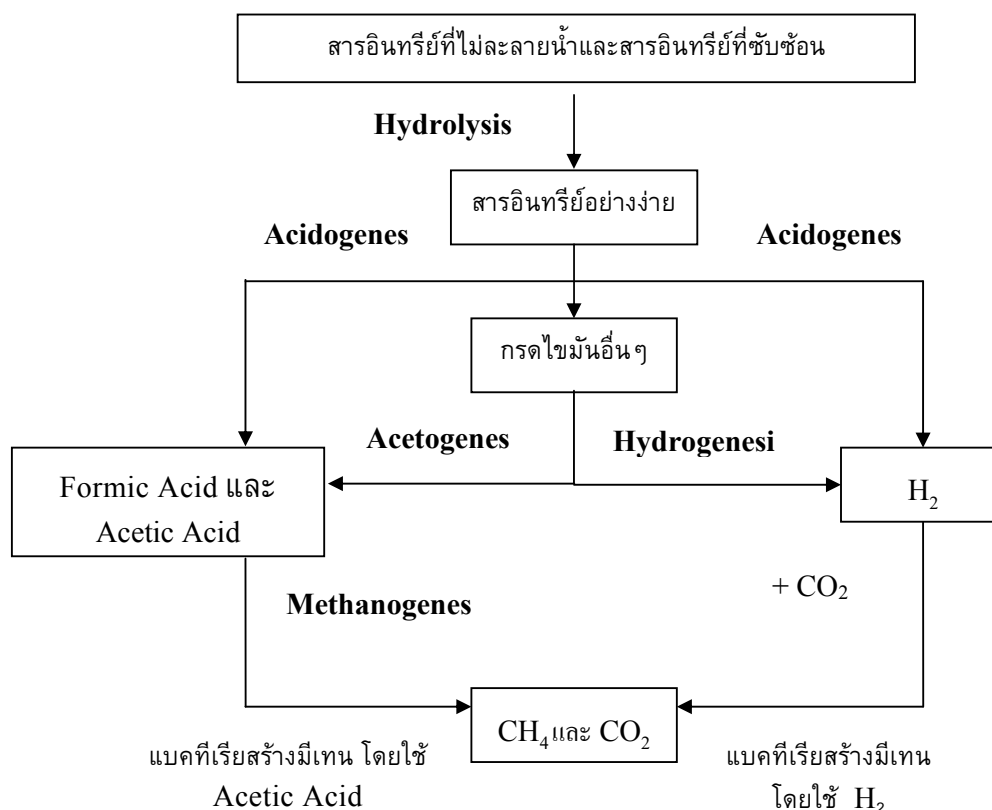
แบคทีเรียที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการผลิตมีเทน ส่วนใหญ่จัดอยู่ในพวก obligate anaerobic bacteria เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะขาดออกซิเจน ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.5-7.5 ทำให้มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะกรดได้น้อย และมีอัตราการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน และยังเป็นเซลล์ที่พิถีพิถันในการเลือกชนิดของอาหารมากและบอบบาง ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าอยู่ในช่วงตั้งแต่ 3 วัน (35 องศาเซลเซียส) ถึง 10 วัน (10 องศาเซลเซียส) จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนนี้มีความเฉพาะเจาะจงสูง คือแบคทีเรียที่สร้างมีเทน จำแนกได้เป็น 3 ชนิด ตามลักษณะการเกิดก๊าซมีเทน ดังนี้

2.5.2.1 Obligate Acetoclastic methanogen สามารถบริโภคกรดอะซิติกได้เพียงอย่างเดียว โดยใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่สามารถอยู่ได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน ระยะเวลาการเจริญเติบโตใช้เวลานาน 3-5 วัน

2.5.2.2 Obligate Hydrogenotrophic methanogen เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตมีเทนได้จากไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ในกรณีไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานและมีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนแบคทีเรียกลุ่มนี้จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มสังเคราะห์อาหารเนื่องจากสามารถดำรงชีวิตได้โดยใช้สารอินทรีย์และปลดปล่อยก๊าซมีเทนออกมาในรูปพลังงานระยะเวลาการเจริญเติบโตใช้เวลานาน 2-4 ชั่วโมง

2.5.2.3 Hydrogenotrophic / Acetoclastic methanogen แบคทีเรียเหล่านี้สามารถสร้างก๊าซมีเทนได้โดยใช้ก๊าซไฮโดรเจนร่วมกับสารอินทรีย์ เพื่อให้สารอินทรีย์เป็นตัวรับอิเล็กตรอน หรือตัวให้ไฮโดรเจนในการเกิดก๊าซมีเทน และสามารถให้ไฮโดรเจนร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ในการสร้างก๊าซมีเทนได้ด้วย ระยะเวลาการเจริญเติบโตใช้เวลานาน 10-12 ชั่วโมง

กลไกของกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์แสดงดังรูป



รูปที่ 2.17 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายของปฏิกิริยาไม่ใช้ออกซิเจน (มันลิน, 2542)

จากปฏิกิริยานี้สามารถแบ่งเป็นกระบวนการใหญ่ๆได้ 4 กระบวนการ ดังนี้

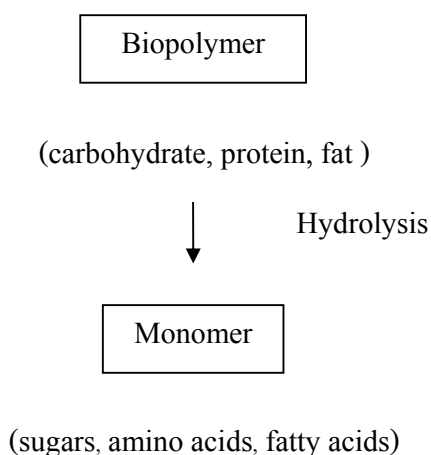
2.5.3 กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

กระบวนการไฮโดรไลซิสเรียกอีกอย่างหนึ่งว่ากระบวนการย่อยสลายโพลิเมอร์ (Polymer breakdown) เป็นกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ซับซ้อนทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ให้เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่ซับซ้อนและละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาล กลูโคส กรดอะมิโน กรดไขมัน โดยเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาจากเซลล์ (extracellular enzymes) ของจุลินทรีย์พวก hydrolytic bacteria การย่อยสลายขั้นตอนนี้เป็นไปได้ช้าและมีข้อจำกัดในการย่อยสลายของเสียบางประเภท เช่น ของเสียจำพวกเซลลูโลส (cellulolytic waste) ที่มีลักษณะเป็นองค์ประกอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารตั้งต้น ซึ่งกระบวนการนี้เป็นเพียงการเปลี่ยน

สารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อนไปเป็นสารอินทรีย์อย่างง่ายเท่านั้นยังไม่มี การลดค่าซีโอดีในขั้นตอนนี้

2.5.4 กระบวนการสร้างกรดอินทรีย์ (Acidogenesis)

สารประกอบอินทรีย์อย่างง่ายที่ละลายน้ำ ซึ่งถูกสร้างขึ้นโดยกระบวนการไฮโดรไลซิส จะถูกแบคทีเรียที่มีความทนทานสูงดำรงชีพอยู่ได้ทั้งสภาพที่มี และไม่มีออกซิเจนอิสระ ทนต่อสภาพความเป็นกรดที่ระดับพีเอช 4-5 แบคทีเรียกลุ่มนี้จัดเป็นประเภท Facultative Bacteria ใช้แหล่งคาร์บอนและพลังงานจากกระบวนการหมัก (fermentation) ผลของปฏิกิริยาจะได้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่มีคาร์บอนไม่เกิน 5 ตัว เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) กรดบิวทีริก (Butyric acid) กรดวาเลอริก (Valeric acid) เป็นต้น และผลิตไฮโดรเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาด้วยกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้น



รูปที่ 2.18 ขั้นตอนการย่อยสลายในกระบวนการไฮโดรไลซิส

2.5.5 กระบวนการอะซิโตเจเนซิส (Acetogenesis)

แบคทีเรียในกระบวนการสร้างกรดสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

2.5.5.1 Homoacetogenic bacteria จัดเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายกรดอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ไปเป็นกรดอะซิติก ประเภท Facultative bacteria

2.5.5.2 Hydrogen Producing Acetogenic bacteria จัดเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายกรดอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ เช่น กรดบิวทีริก และกรดโพรพิโอนิก ไปเป็นกรดอะ

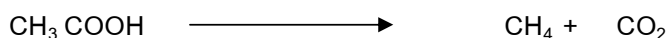
ซิติคและก๊าซไฮโดรเจน ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้จะสร้างก๊าซไฮโดรเจนขึ้นมาด้วย แบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องอาศัยอยู่ร่วมกับกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างมีเทนเพื่อให้สามารถนำก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นไปสร้างเป็นก๊าซมีเทนได้

แบคทีเรียที่สร้างอะซิเตท (Acetogenic bacteria) มีบทบาทสำคัญระหว่างขั้นตอนการสร้างกรดและขั้นตอนการสร้างมีเทน

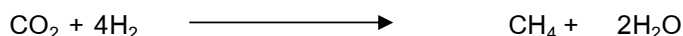
2.2.6 กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis)

เป็นขั้นตอนสุดท้ายของการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทน ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ มีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ สารตั้งต้นของขั้นตอนนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มาจากขั้นตอนการเกิดกรด โดยสารตั้งต้นที่มีความสำคัญมากที่สุดคือ กรดอะซิติก และไฮโดรเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์ ในการเกิดมีเทนจากการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ประมาณร้อยละ 70 ของมีเทนเกิดจากกรดอะซิติก และอีกร้อยละ 30 มาจากคาร์บอนไดออกไซด์

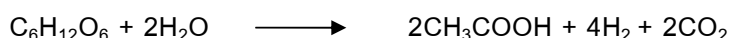
ก) การย่อยสลายกรดอะซิติกไปเป็นมีเทน



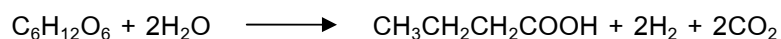
ข) การเกิดมีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจน



การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรอาศัยกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยจุลินทรีย์ (Debabrata, 2001) เพื่อให้ผลิตก๊าซไฮโดรเจนออกมาใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิง (Hart, 1997) โดยวิธีนี้สามารถประยุกต์ใช้กับของเสียจากอุตสาหกรรมได้หลายชนิด (Kirketal, 1985) รวมทั้งของเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นทั้งที่เป็นของเหลว (Hulshoff Pol and Lettinga, 1986, Fang and Liu, 2000) หรือของแข็ง (Iglesias et al., 1998, 2000) จำนวนก๊าซไฮโดรเจนจะเกิดมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับก๊าซที่เกิดขึ้นซึ่งก๊าซที่ได้จะเป็นก๊าซผสมระหว่างก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แต่อาจพบก๊าซมีเทนและก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ผสมอยู่ด้วยซึ่งจะทำให้เกิดก๊าซไฮโดรเจนได้น้อยลงโดยถ้าผลิตภัณฑ์สุดท้าย (end product) ที่เกิดขึ้นเป็นกรดอะซิติก ผลตามทฤษฎีจะทำให้เกิดก๊าซไฮโดรเจน 4 โมลต่อโมลของกลูโคส



แต่ถ้าผลิตภัณฑ์สุดท้าย (end product) เป็นกรดบิวทิริก ผลตามทฤษฎีจะทำให้เกิดก๊าซไฮโดรเจน 2 โมลต่อโมลของกลูโคส



โดยสิ่งที่จะส่งผลต่อการเกิดผลิตภัณฑ์สุดท้าย (end product) นั้นขึ้นกับสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ความเหมาะสมของระดับพีเอชและความดันบรรยากาศ

งานวิจัยที่พัฒนาศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชีวมวลหรือของเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น การหมักกากผักผลไม้ (Mtz.Viturtia et al., 1995) การหมักเปลือกมันฝรั่ง ผักสลัด ถั่วเขียวผสมกับแครอท และกากแอปเปิ้ล (Ghaly, 1996) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาการผลิตก๊าซโดยใช้กากของแข็งที่ได้มาจากขยะตามบ้านเรือนและกากตะกอนจากโรงบำบัดน้ำเสีย Fascetti, 1998 and Roychowdhury, 1998) เป็นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรณให้คุ้มค่า สามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่ของเสียหรือของเหลือทิ้งและยังเป็นการลดปริมาณขยะที่จะเกิดขึ้นด้วย

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุและสารเคมี

3.1.1 กากปาล์มส่วนเส้นใยผล

กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ใช้ในงานวิจัยได้มาจากบริษัทสุขสมบูรณ์น้ำมันปาล์ม จำกัด อำเภอหนองใหญ่ จังหวัดชลบุรี นำกากปาล์มส่วนเส้นใยผลมาล้างด้วยน้ำประปาเพื่อชำระสิ่งเจือปนแล้วนำมาบดด้วยเครื่องปั่นของแข็ง [WARING รุ่น 32BL79 (8010)] ต่อจากนั้นนำกากปาล์มดังกล่าวมาร้อนด้วยเครื่องร้อน (Retsch รุ่น AS 200 digit) ให้ได้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใย 1 มิลลิเมตร แล้วนำมาอบในตู้อบ (ECOCELL 111) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงเพื่อไล่ความชื้นออกจากกากปาล์มส่วนเส้นใยผลป้องกันการเกิดเชื้อรา แล้วนำไปเก็บไว้ในที่แห้งเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หามวลชีวภาพ (หัวข้อ 3.3.1) ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยทั้งหมด (หัวข้อ 3.3.2) และใช้ในการทดลองต่อไป

หมายเหตุ กากปาล์มที่ไม่ปรับสภาพในงานวิจัยนี้ หมายถึง กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ไม่ผ่านการปรับสภาพทางเคมีและทางชีวภาพ แต่ผ่านการบดและร้อนให้มีขนาดไม่ใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร

3.1.2 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ปรับสภาพด้วยวิธีเคมี

3.1.2.1 ต้มด้วยน้ำร้อนภายใต้ความดัน

กากปาล์มในข้อ 3.1.1 น้ำหนัก 300 กรัม นำไปปรับสภาพต่อการต้มด้วยน้ำกลั่น 3 ลิตรในตู้นึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ภายใต้ความดัน 15 บาร์ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงต่อจากนั้นนำไปอบในตู้อบ (ECOCELL 111) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วนำไปเก็บไว้ในที่แห้งเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หามวลชีวภาพ (หัวข้อ 3.3.1) ของแข็งทั้งหมดของแข็งระเหยทั้งหมด (หัวข้อ 3.3.2) และใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.2.2 ต้มด้วยกรดเจือจางภายใต้ความดัน

กากปาล์มในข้อ 3.1.1 น้ำหนัก 300 กรัม นำไปปรับสภาพต่อการต้มด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 96.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 31.414 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ค หัวข้อ3) เติมน้ำกลั่น 3 ลิตร เพื่อปรับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกในขวดแก้วให้เจือจาง 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปต้มในตู้นึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ภายใต้ความดัน 15 บาร์ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อจากนั้นนำไปอบในตู้อบ (ECOCELL 111) ที่อุณหภูมิ

105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หามวลชีวภาพ (หัวข้อ 3.3.1) ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยทั้งหมด (หัวข้อ 3.3.2) และใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.3 กากปาล์มน้ำมันส่วนเส้นใยผลที่ปรับสภาพด้วยเอนไซม์

กากปาล์มในหัวข้อ 3.1.1 และ 3.1.2 นำไปปรับสภาพต่อด้วยเอนไซม์ที่สกัดได้จากเชื้อรา โดยเอนไซม์ที่ใช้ในการปรับสภาพกากปาล์มนั้นได้มาจาก ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC Central Research Unit) ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ซึ่งสกัดมาจากจุลินทรีย์ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ชนิดของเชื้อราที่นำมาสกัดเอนไซม์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC Central Research Unit)

ลำดับ	รหัส BCC	รายชื่อจุลินทรีย์	กลุ่มจุลินทรีย์	อาหารเลี้ยง เชื้อ
1.	5744	<i>Pithomyces maydicus</i>	Soil fungi / Teak Leaves, ใบสัก	PDA
2.	4528	<i>Aspergillus sp.</i>	Soil fungi / Teak Leaves, ใบสัก	PDA
3.	4603	<i>Aspergillus sp.</i>	Soil fungi	PDA
4.	7179	<i>Aspergillus sp.</i>	Sand Fungi / Sand, ทราย	PDA

การสกัดเอนไซม์เริ่มจากการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในอาหาร Potato Dextrose Agar, PDA ลงในอาหารเหลว (หัวข้อ 3.1.6) ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าในเครื่องเขย่า (shaker) ระบบหมุนตามเข็มนาฬิกา (rotary) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน หลังจาก 5 วัน นำมากรองผ่านผ้ากรองที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร พับ 4 ทบ วางผ้ากรองบนกรวยกรองแล้วกรองลงในหลอดเซนต์ปีทรีขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงในเครื่องหมุนเหวี่ยง (รุ่น Sorvall legend Mach 1.6 R) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที นาน 17 นาที แล้วเทส่วนใสลงในหลอดเซนต์ปีทรีหลอดใหม่เก็บรักษาเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ (หัวข้อ 3.3.4) และใช้ในการทดลองต่อไป

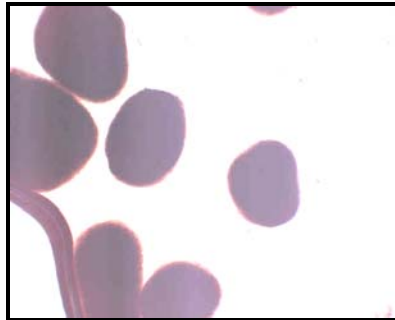
เอนไซม์ที่ใช้ในการทดลองคือเอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิดคือ เอนไซม์ที่สกัดจาก *Pithomyces maydicus* BCC 5744 (เอนไซม์ชนิดที่ 1) และ *Aspergillus sp.* BCC 4603 (เอนไซม์ชนิดที่ 2) จากการคำนวณแอกติวิตีของเอนไซม์ซึ่งแสดงไว้ในภาคผนวก ข พบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่าแอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสมากที่สุด จึงเลือกมาใช้ในการทดลอง ส่วนเอนไซม์ผสมเข้มข้น 2 ชนิด คือ Celluclast (เอนไซม์ผสมชนิดที่ 1) และ Novozyme (เอนไซม์ผสมชนิดที่ 2) ได้มาจากความอนุเคราะห์ของ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC Central Research Unit)

ตารางที่ 3.2 แสดงค่าแอกติวิตีของเอนไซม์

ที่	รหัส BCC	เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส ($\frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}}$)	เอนไซม์ไซเลนเนส ($\frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}}$)	เอนไซม์เซลลูเลส ($\frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}}$)
1.	5744	7.780×10^{-3}	2.252	0.335
2.	4528	7.652×10^{-4}	3.275	0.438
3.	4603	8.793×10^{-3}	2.832	0.344
4.	7179	8.185×10^{-4}	3.531	0.523

3.1.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

จุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้จากระบบบำบัดน้ำเสียยูเอเอสบีของโรงงานเส้นไหม ขอเอง จำกัด ตำบลยายชา อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม มีลักษณะเป็นเม็ดกลมเล็ก (granule) สีดำ นำเม็ดจุลินทรีย์มาล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในเครื่องอังไอน้ำ (memmert รุ่น W760) เพื่อเป็นการทำลายจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทน คงเหลือไว้แต่สปอร์ของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน จากนำไปวิเคราะห์หาค่าของแข็งทั้งหมด และของแข็งระเหยทั้งหมด (หัวข้อ 3.3.3)



รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้จากระบบบำบัดน้ำเสียยูเอเอสบีของโรงงานเส้นหมี่ขอเอง จำกัด กำลังขยาย 10X

3.1.5 ขวดปฏิกรณ์

ขวดปฏิกรณ์ที่ใช้หมักกากปาล์มเพื่อให้ได้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นขวดซีรัมแก้ว ขนาด 100 มิลลิลิตร ด้านบนมีจุกปิดที่ทำด้วยยาง และหุ้มด้วยฟอสลูมิเนียม



รูปที่ 3.2 ขวดปฏิกรณ์

3.1.6 อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราที่นำมาสกัดเอนไซม์

อาหารที่ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อเตรียมโดยชั่ง Wheat bran 2 กรัม Soy bean 1.5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตรแล้วนำไปนึ่งในตู้ฆ่าเชื้อ (autoclave) ภายใต้ความดัน 15 บาร์ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นก่อนนำไปเลี้ยงเชื้อ

3.1.7 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาแอกติวิตีของเอนไซม์

3.1.7.1 ซิเตรทบัฟเฟอร์พีเอช 5.0 ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์

3.1.7.2 Parainitrophenyl- β -D-glucosparapyranose (PNPG)
ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

3.1.7.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.2 โมลาร์

3.1.7.4 1 เปอร์เซ็นต์ Birchwood xylan

3.1.7.5 Dinitrosalicylic acid reagent (DNS)

3.1.7.6 สารละลายมาตรฐานเอนไซม์ไซเลนเนส (standard xylanase) ที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์

3.1.7.7 สารละลายมาตรฐานกลูโคส (standard glucose) ที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์

3.1.8 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืชอ้างอิงมาจาก Goering and Van Soest, 1970

3.1.8.1 สารละลาย Neutral detergent

สารละลาย Neutral detergent มีการเตรียม 4 ขั้นตอน คือ

1) ชั่ง Disodium ethylene diamine tetraacetate (EDTA)

16.18 กรัม และ Sodiumborate decahydrate ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 6.81 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปพอประมาณ นำไปต้มจนละลายหมด

2) ละลาย Sodium lauryl sulphate 30 กรัม ในน้ำ แล้วเติม

2-Ethoxyethanol (Ethylene glycol monoethyl ether) 10 มิลลิลิตร

3) นำสารละลายข้อ 1) และ 2) มาผสมกัน

4) ชั่ง Disodium hydrogen phosphate anhydrous (Na_2HPO_4)

4.56 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไปพอประมาณ แล้วนำไปต้มจนละลายหมด นำไปต้มกับสารละลายผสมที่ได้ในข้อ 3) จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่นและปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.5 – 7.1

3.1.8.2 สารละลาย Acid Detergent

สารละลาย Acid Detergent เตรียมโดยละลาย Cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) 20 กรัม ในกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดนี้ให้ได้ 1 ลิตร

3.1.8.3 สารละลาย Saturated potassium permanganate

สารละลาย Saturated potassium permanganate เตรียมโดยละลาย Potassium permanganate (KMnO_4) 50 กรัม และ Silver sulphate (Ag_2SO_4) 0.05 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บสารละลายนี้ในขวดแก้วสีชาอย่าให้โดนแสงแดด

3.1.8.4 สารละลาย Lignin buffer

สารละลาย Lignin buffer เตรียมโดยละลาย Ferric nitrate tetrahydrate [$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$] 6 กรัม และ Silver nitrate (AgNO_3) 0.15 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม Acetic acid glacial 500 มิลลิลิตร เติม Acetic acid glacial 500 มิลลิลิตร เติม Potassium acetate 5 กรัม และเติม Tertiary butyl alcohol 400 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3.1.8.5 สารละลาย Combined permanganate

สารละลาย Combined permanganate เตรียมโดยผสมสารละลาย Saturated potassium permanganate กับสารละลาย Lignin buffer ในอัตราส่วน 2:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เก็บสารละลายนี้ในขวดสีชา แช่ในตู้เย็นไม่ให้ถูกแสงแดด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดงแล้วจะไม่สามารถนำมาใช้ได้

3.1.8.6 สารละลาย Demineralizing

สารละลาย Demineralizing เตรียมโดยละลาย Oxalic acid dehydrate 50 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 700 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร และ Hydrochloric acid (HCl) 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3.1.8.7 สารละลาย 80% ethanol

สารละลาย 80% ethanol เตรียมโดยผสม 100 % Ethanol 800 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 157 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน

3.1.9 สารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์

สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้เป็นสารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 5 ปริมาตร 1 ลิตร เตรียมได้จาก ชั่ง Citric acid 10.507 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ปรับพีเอชด้วยเครื่องปรับพีเอช (EUTECH INSTRUMENTS รุ่น Cyberscan pH 11) ให้ได้พีเอช 5 ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 6 โมลาร์ และ ไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 6 โมลาร์ ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งในตู้อบเชื้อ (autoclave) ภายใต้ความดัน 15 บาร์ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.1.10 อุปกรณ์วัดปริมาตรก๊าซรวม

อุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตรก๊าซรวม ใช้กระบอกตวงขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร บรรจุน้ำใส่กระบอกตวงแล้วคว่ำลงในกะละมังใส่น้ำ ให้ระดับน้ำอยู่ตรงขีดแล้วใช้สายยางสอดด้านล่างปากกระบอกตวงที่คว่ำอยู่ใต้ผิวน้ำลึกประมาณ $\frac{1}{3}$ ของกระบอกตวง ปลายสายยางอีกด้านหนึ่งติดเข็มฉีดยาไว้เพื่อเจาะเก็บก๊าซในขวดปฏิกรณ์ทางด้านบนที่เป็นจุกยาง

3.2 วิธีทดลอง

3.2.1 การผลิตก๊าซไฮโดรเจน

กากปาล์มที่เตรียมไว้ในหัวข้อ 3.1.1, 3.1.2 และ 3.1.3 มาซึ่งให้น้ำหนัก 1 กรัมของแข็งระเหย (ภาคผนวก ค หัวข้อ 5.3) ใส่ลงในขวดซีรัม จากนั้นปิดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียมแล้วนำไปนึ่งในตู้ฆ่าเชื้อ (autoclave) ภายใต้ความดัน 15 บาร์ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์ (ตามปริมาตรที่แสดงไว้ในตาราง 3.3) ลงในขวดซีรัมโดยใช้เข็มฉีดยาขนาด 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปใส่ออกซิเจนในขวดออกโดยใช้ก๊าซไนโตรเจนที่มีความบริสุทธิ์เท่ากับ 99.95 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 5 นาที เติมเอนไซม์ (ตามปริมาตรที่แสดงไว้ในตาราง 3.3) แล้วนำไปเข้าเครื่องบ่มแบบเขย่า (INNOVA รุ่น innova 4900) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 100 ต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน หลังจาก 3 วันนำขวดปฏิกรณ์ที่บ่มไว้มาเติมจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตก๊าซไฮโดรเจน (หัวข้อ 3.1.4) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาตรรวมในขวดปฏิกรณ์เท่ากับ 22 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องบ่มแบบเขย่า (INNOVA รุ่น innova 4900) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 100 ต่อนาที เป็นเวลา 14 วัน และเก็บตัวอย่างก๊าซในขวดปฏิกรณ์มาวัดปริมาณก๊าซรวมและวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซ (หัวข้อ 3.3.5 และ 3.3.6) ที่เกิดขึ้นตามเวลา แสดงไว้ในภาคผนวก ค หัวข้อ 8 หลังจากนั้นทำการวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องปรับพีเอช (EUTECN INSTRUMENTS รุ่น Cyberscan pH 11) สุดท้ายในขวดปฏิกรณ์

ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาตรกากปาล์ม ปริมาตรซีเตรทบัฟเฟอร์ ปริมาตรเอนไซม์ และปริมาตรจุลินทรีย์ที่ใส่ในขวดปฏิกรณ์

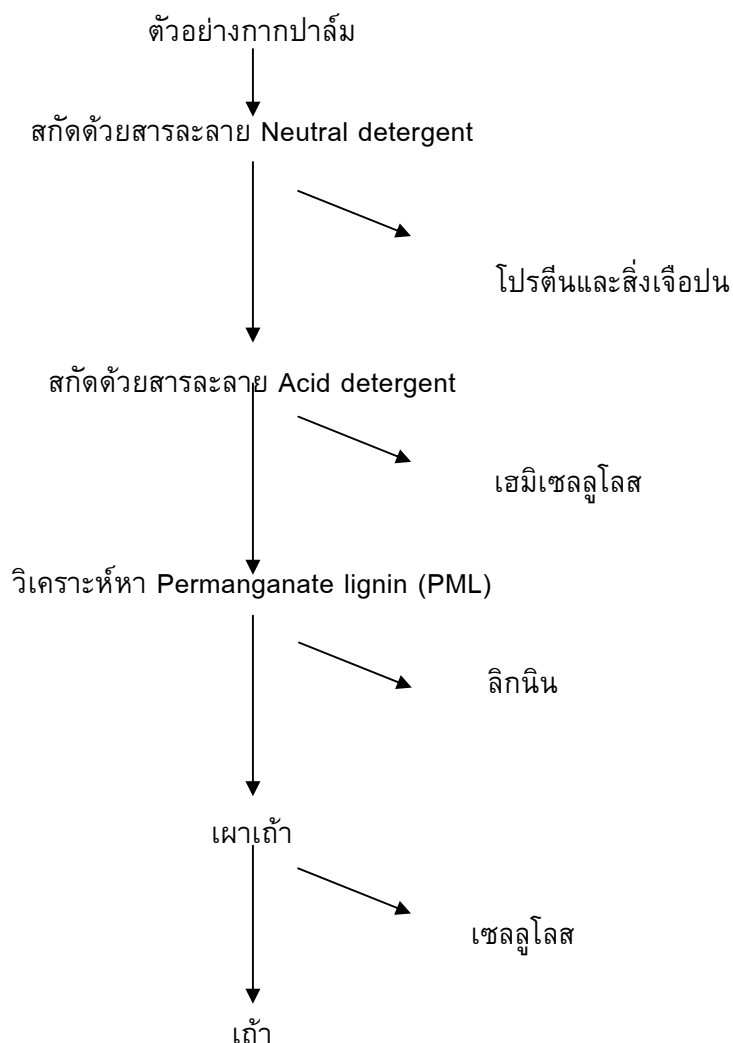
	องค์ประกอบ กากปาล์มเนื้อใน	เปอร์เซ็นต์		น้ำหนัก 1 กรัม ของแข็งระเหย	ปริมาตรบัฟเฟอร์ (มิลลิลิตร)	เอนไซม์		ปริมาตรจุลินทรีย์ (มิลลิลิตร)
		ของแข็งทั้งหมด	ของแข็งระเหย			ชนิดที่	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	
1	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	20	-	0	2
2	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	20	-	0	2
3	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	18.5	1	1.5	2
4	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	18.5	1	1.5	2
5	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	18.5	2	1.5	2
6	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	18.5	2	1.5	2
7	ปรับสภาพด้วยกรด	98.56	82.93	1.206	18.5	1	1.5	2
8	ปรับสภาพด้วยกรด	98.56	82.93	1.206	18.5	1	1.5	2
9	ปรับสภาพด้วยกรด	98.56	82.93	1.206	18.5	2	1.5	2
10	ปรับสภาพด้วยกรด	98.56	82.93	1.206	18.5	2	1.5	2

ขวดที่	องค์ประกอบ กากปาล์มเนื้อใน	เปอร์เซ็นต์		น้ำหนัก 1 กรัม ของแข็งระเหย	ปริมาตร บัฟเฟอร์ (มิลลิลิตร)	เอมไซม์		ปริมาตรจุลินทรีย์ (มิลลิลิตร)
		ของแข็ง ทั้งหมด	ของแข็ง ระเหย			ชนิดที่	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	
11	ปรับสภาพด้วยน้ำร้อน	95.50	84.88	1.178	18.5	1	1.5	2
12	ปรับสภาพด้วยน้ำร้อน	95.50	84.88	1.178	18.5	1	1.5	2
13	ปรับสภาพด้วยน้ำร้อน	95.50	84.88	1.178	18.5	2	1.5	2
14	ปรับสภาพด้วยน้ำร้อน	95.50	84.88	1.178	18.5	2	1.5	2
15	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	20	ผสม	0.01	2
16	ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ	94.70	82.13	1.218	20	ผสม	0.01	2
17	ปรับสภาพด้วยกรด	98.56	82.93	1.206	20	ผสม	0.01	2
18	ปรับสภาพด้วยกรด	98.56	82.93	1.206	20	ผสม	0.01	2
19	ปรับสภาพด้วยน้ำร้อน	95.50	84.88	1.178	20	ผสม	0.01	2
20	ปรับสภาพด้วยน้ำร้อน	95.50	84.88	1.178	20	ผสม	0.01	2

3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบชีวมวล

การวิเคราะห์องค์ประกอบชีวมวลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลของแต่ละตัวอย่าง (ภาคผนวก ค หัวข้อ 1) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หา ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ตามวิธีของ Goering and Van Soest, 1970 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้



รูปที่ 3.3 แสดงขั้นตอนโดยย่อในการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช
การวิเคราะห์โดยละเอียดแสดงในภาคผนวก ก

3.3.2 การวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยทั้งหมด ในกากปาล์มส่วนเส้นใยผล

3.3.2.1 การวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด (Total Solids, TS)

การวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมดทำได้โดยนำถ้วยระเหยไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง (desicator) ซึ่งน้ำหนัก บันทึกค่าไว้ จากนั้นชั่งกากปาล์มส่วนเส้นใยผล 2 กรัม (ทุกตัวอย่างดังตาราง 3.3) ลงในถ้วยระเหย แล้วนำไปอบในตู้อบ (ECOCELL รุ่น ECOCELL 111) ที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง ซึ่งน้ำหนัก บันทึกค่า จากนั้นนำถ้วยระเหยไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส อีกครั้ง แล้วทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ หรือน้ำหนักที่ลดลงน้อยกว่า 4 เปอร์เซนต์ หรือไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม ของการชั่งครั้งก่อน

3.3.2.2 การวิเคราะห์ของแข็งระเหยทั้งหมด (Total Volatile Solids, TVS)

การวิเคราะห์ของแข็งระเหยทำได้โดยเผาของแข็งที่ได้จากการหาปริมาณของแข็งรวมทั้งหมดในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 ± 50 องศาเซลเซียส โดยให้อุณหภูมิของเตาเผาตามที่ต้องการก่อนจึงใส่ตัวอย่างเข้าไปเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งถ้วยระเหยให้เย็นในโถทำแห้ง (desicator) จนเท่าอุณหภูมิห้องแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ซึ่งน้ำหนักที่เหลืออยู่คือน้ำหนักของแข็งคงตัวทั้งหมด (Total Fixed Solids, TFS) และน้ำหนักที่หายไปในการเผาเป็นน้ำหนักของแข็งระเหยทั้งหมด (Total Volatile Solids, TVS)

3.3.3 การวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยทั้งหมด ในจุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน

3.3.3.1 การวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด (Total Solids, TS)

การวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมดทำได้โดยนำถ้วยระเหยไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง (desicator) ซึ่งน้ำหนัก บันทึกค่าไว้ จากนั้นใช้เข็มฉีดยาดูดจุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน 2 มิลลิลิตร ลงในถ้วยระเหย แล้วนำไปอบในตู้อบ (ECOCELL รุ่น ECOCELL 111) ที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง ซึ่งน้ำหนัก บันทึกค่า จากนั้นนำถ้วยระเหยไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส อีกครั้ง แล้วทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ หรือน้ำหนักที่ลดลงน้อยกว่า 4 เปอร์เซนต์ หรือไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมของการชั่งครั้งก่อน

3.3.3.2 การวิเคราะห์ของแข็งระเหยทั้งหมด (Total Volatile Solids, TVS)

การวิเคราะห์ของแข็งระเหยทำได้โดยเผาของแข็งที่ได้จากการหาปริมาณของแข็งรวมทั้งหมดในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 ± 50 องศาเซลเซียส โดยให้อุณหภูมิของเตาเผาตามที่ต้องการก่อนจึงใส่ตัวอย่างเข้าไปเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งถ้วยระเหยให้เย็นในโถทำแห้ง (desicator) จนเท่าอุณหภูมิห้องแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ซึ่งน้ำหนักที่เหลืออยู่คือน้ำหนักของแข็งคงตัวทั้งหมด (Total Fixed Solids, TFS) และน้ำหนักที่หายไปในการเผาเป็นน้ำหนักของแข็งระเหยทั้งหมด (Total Volatile Solids, TVS)

3.3.4 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์

3.3.4.1 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (β -glucosidase)

การวัดแอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (β -glucosidase) สามารถทำได้โดยนำเอนไซม์ที่สกัดได้จากเชื้อราแต่ละชนิด (ตารางที่ 3.1) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดเซนติฟิวส์ (centifuge) ขนาด 3 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิโมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 50 ไมโครลิตรและ 20 มิลลิโมลาร์ Paraintrophenyl- β -D-glucosparapyranose (PNPG) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 15 ไมโครลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

3.3.4.2 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส (Xylanase)

การวัดแอกติวิตีของเอนไซม์เอนไซม์ไซเลนเนส (Xylanase) สามารถทำได้โดยนำเอนไซม์ที่สกัดได้จากเชื้อราแต่ละชนิด (ตารางที่ 3.1) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดเซนติฟิวส์ (centifuge) ขนาด 3 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิโมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 125 ไมโครลิตรและ 1 เปอร์เซ็นต์ Birchwood xylan ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องบ่มแบบเขย่า (incubate shaker) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย Dinitrosalicylic acid reagent (DNS) ปริมาตร 750 ไมโครลิตรและนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การทำกราฟมาตรฐานของเอนไซม์ไซเลนเนส สามารถทำได้โดยนำ 100 มิลลิโมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 125 ไมโครลิตรและ 1 เปอร์เซ็นต์ Birchwood xylan ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดเซนติฟิวส์ (centifuge) ขนาด 3 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นมาตรฐานเอนไซม์ไซเลนเนส (standard xylanase) ที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร แล้วนำไป

วัดค่าแอกติวิตีของเอนไซม์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงมา ทำกราฟมาตรฐานของเอนไซม์ไซเลนเนส แสดงไว้ในภาคผนวก ข หัวข้อ 2

3.3.4.3 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase)

การวัดแอกติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) ตามวิธีของ Mandels and Sternberg, 1976 สามารถทำได้โดยนำเอนไซม์ที่สกัดได้จากเชื้อราแต่ละชนิด (ตารางที่ 3.1) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดเซนติฟิวส์ (centifuge) ขนาด 3 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิโมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์พีเอช 5.0 ปริมาตร 125 ไมโครลิตรและเติมน้ำกลั่น 5 ไมโครลิตร ทำการตัดกระดาษกรอง (Whatman #1) ขนาด 1 × 1.5 เซนติเมตรลงในหลอดเซนติฟิวส์ แล้วนำไปเข้าเครื่องบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย Dinitrosalicylic acid reagent (DNS) ปริมาตร 750 ไมโครลิตร และนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่า แอกติวิตีของเอนไซม์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การทำกราฟมาตรฐานของเอนไซม์เอนไซม์เซลลูเลส สามารถทำได้โดย 100 มิลลิโมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์พีเอช 5.0 ปริมาตร 125 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 115 ไมโครลิตรและตัดกระดาษกรอง (Whatman #1) ขนาด 1 × 1.5 เซนติเมตร ใส่ลงในหลอดเซนติฟิวส์ (centifuge) ขนาด 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นมาตรฐานกลูโคส (standard glucose) ที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย Dinitrosalicylic acid reagent (DNS) ปริมาตร 750 ไมโครลิตรและนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำค่ามาทำกราฟมาตรฐานของเอนไซม์เอนไซม์เซลลูเลสแสดงไว้ในภาคผนวก ข หัวข้อ 3

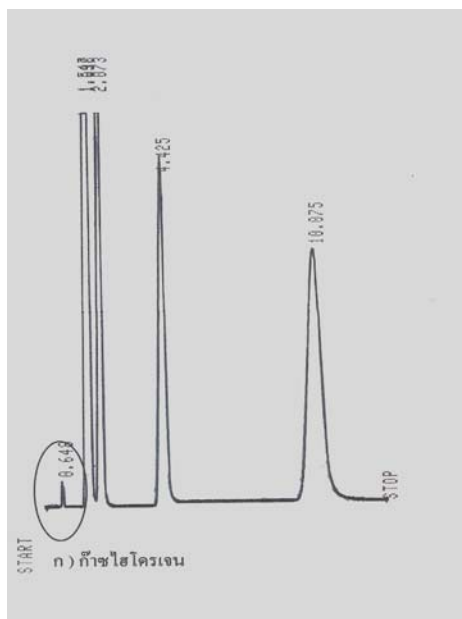
3.3.5 การวัดปริมาตรก๊าซรวมและปริมาตรก๊าซรวมสะสม

การวัดปริมาตรก๊าซรวมโดยใช้อุปกรณ์วัดปริมาตรก๊าซรวม (หัวข้อ 3.1.10) แล้วอ่านค่าปริมาตรก๊าซจากกระบอกตวง ทำการวัดปริมาตรก๊าซทุกขวดปฏิกรณ์ก่อนนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซรวม ปริมาตรก๊าซรวมทำการวัดตามเวลาที่ได้แสดงไว้ในภาคผนวก ค หัวข้อ 8 และคำนวณปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากค่าปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน

3.3.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซรวม

การวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซรวมทำได้โดยการเก็บตัวอย่างก๊าซจากขวดปฏิกรณ์ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 500 ไมโครลิตร (Hamilton Co., Reno.Nevada) ดูดตัวอย่างก๊าซ 300 ไมโครลิตรแล้วนำไปฉีดเข้าเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี (Shimadzu GC-8A) ซึ่งเชื่อมต่อกับเครื่องอ่านผล (Shimadzu C-R6A) คลอลัมที่ใช้ในการวิเคราะห์กราฟตัวอย่าง คือ Column Unibeads C 60/80 โดยใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นตัวพา (Carrier gas) และมีตัวตรวจจับแบบ

thermal conductivity detector (TCD) ซึ่งเป็นตัวตรวจวัดที่ประกอบด้วย heated filament ที่มีการให้กระแสไฟฟ้าคงที่ ในการตรวจวัดจะเป็นการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของ filament current ของ reference cell และ sample cell การเปลี่ยนแปลงนี้จะมี ความสัมพันธ์กับค่าสัมประสิทธิ์นำความร้อนของสารที่ต้องการวิเคราะห์กับค่าสัมประสิทธิ์นำ ความร้อนของก๊าซตัวพาทำให้ตัวตรวจวัดชนิดนี้สามารถตรวจสอบสารได้ทุกชนิด ยกเว้น ก๊าซที่ใช้เป็นก๊าซตัวพา ภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ห้องประกอบของก๊าซ ประกอบด้วย อุณหภูมิของ injector และ detector เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์ เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส และปรับค่า current ที่ 140 มิลลิแอมแปร์ ฉีดก๊าซตัวอย่าง เทียบกับก๊าซผสมมาตรฐาน ในการวิเคราะห์ห้องประกอบของก๊าซแต่ละชนิดจะสังเกตจาก ระยะเวลาที่ก๊าซใช้เวลาในการผ่านคอลัมน์โดยก๊าซแต่ละชนิด จะใช้เวลาที่แตกต่างกัน ดังรูปที่ 3.3 จะเป็นผลของการฉีดก๊าซมาตรฐาน (Restek air standard no. 34512) ที่ทราบ ปริมาณความเข้มข้นที่แน่นอนซึ่งจะประกอบไปด้วยก๊าซชนิดต่างๆตามตารางที่ 3.4 ผสมอยู่ กับแก๊สฮีเลียม (helium) โดยจากรูปที่ 3-4 ก๊าซมาตรฐานที่ออกมาเป็นชนิดแรกคือก๊าซ ไฮโดรเจน ค่าพื้นที่ใต้กราฟของก๊าซตัวอย่างจะนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของ ก๊าซไฮโดรเจนและปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนโดยเปรียบเทียบกับปริมาณความเข้มข้นที่แน่นอน ของก๊าซไฮโดรเจนและพื้นที่ใต้กราฟของก๊าซมาตรฐานดังแสดงไว้ในภาคผนวก ค หัวข้อ 9



รูปที่ 3.4 การแยกก๊าซมาตรฐานโดยเครื่องโครมาโทกราฟฟี

ก) คือ ก๊าซไฮโดรเจน (retention time ประมาณ 0.65 นาที)

ตารางที่ 3.4 องค์ประกอบและความเข้มข้นของก๊าซมาตรฐานที่ใช้ฉีดเพื่อเปรียบเทียบกับก๊าซที่เกิดขึ้นในการทดลอง

องค์ประกอบของก๊าซมาตรฐาน	ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)
ไฮโดรเจน (H_2)	4
คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)	5
คาร์บอนมอนอกไซด์ (CO)	5
ไนโตรเจน (N_2)	4
มีเทน (CH_4)	4
ออกซิเจน (O_2)	5
ฮีเลียม (He)	72
รวม	100

บทที่ 4

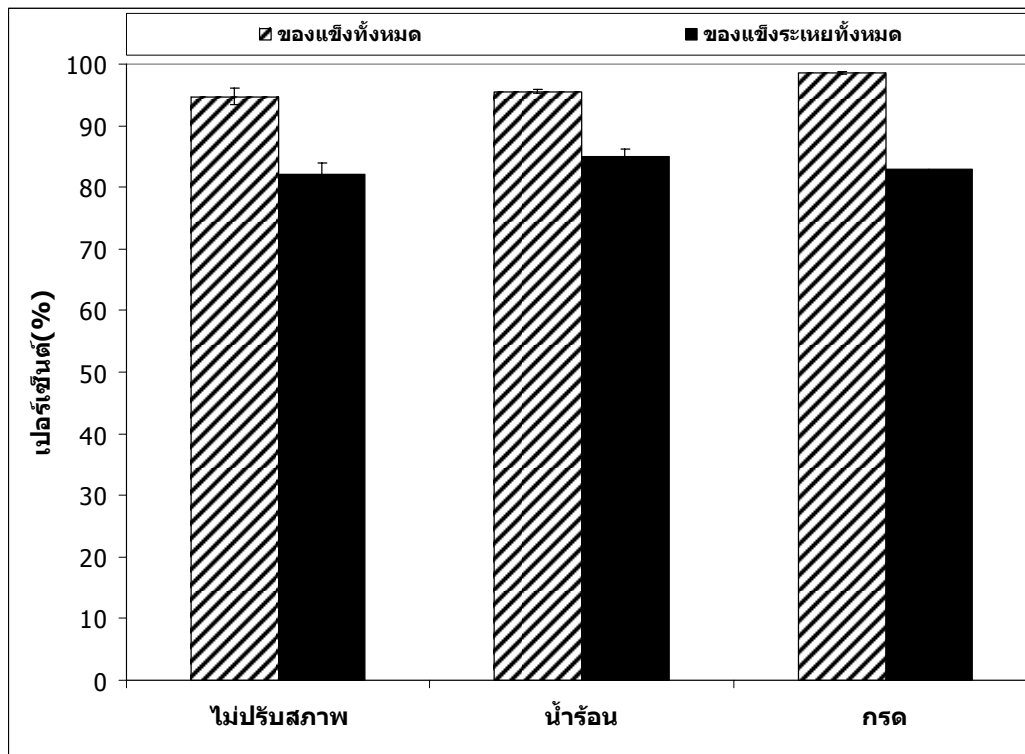
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมดและปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด

ปริมาณของแข็งทั้งหมดและปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมดที่ทำการวิเคราะห์ พบว่ากากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.947 กรัมต่อ 1 กรัมของกากปาล์ม และปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด เท่ากับ 0.821 กรัม ต่อ 1 กรัมของกากปาล์ม ส่วนกากปาล์มส่วนเส้นใยที่มีการปรับสภาพด้วยกรดมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.985 กรัมต่อ 1 กรัมของกากปาล์ม และปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด เท่ากับ 0.849 กรัม ต่อ 1 กรัมของกากปาล์ม ส่วนกากปาล์มส่วนเส้นใยที่มีการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.946 กรัมต่อ 1 กรัมของกากปาล์ม และปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด เท่ากับ 0.829 กรัม ต่อ 1 กรัมของกากปาล์ม แสดงเปอร์เซ็นต์ในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดในกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่าง ๆ

การปรับสภาพ	เปอร์เซ็นต์ (%)	
	ปริมาณของแข็งทั้งหมด	ปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด
ไม่ปรับสภาพ	94.70 ± 1.34	82.13 ± 1.87
กรดแก่เจือจาง	98.58 ± 0.32	84.88 ± 1.28
น้ำร้อน	94.63 ± 0.21	82.93 ± 1.45



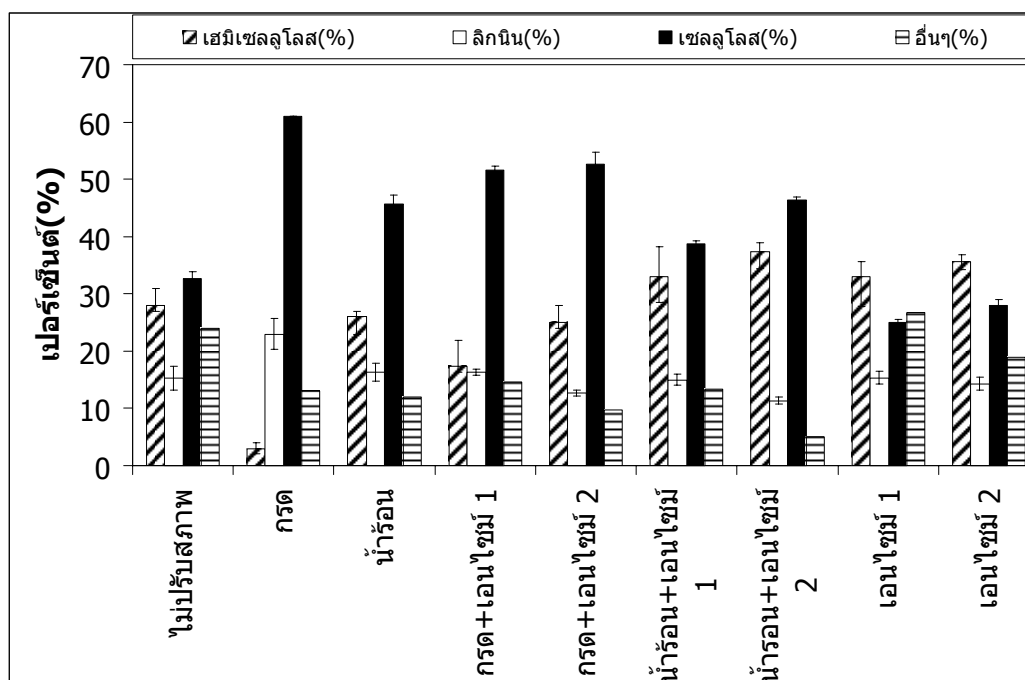
รูปที่ 4.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดในกากปาล์มส่วน
เส้นใยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่าง ๆ

4.2 ปริมาณองค์ประกอบชีวมวล

ปริมาณองค์ประกอบชีวมวลที่ทำการวิเคราะห์ พบว่าการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆทำให้ปริมาณเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้นกว่าการไม่ปรับสภาพทุกกรณี ยกเว้นการปรับสภาพด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 (เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อรา *Pithomyces maydicus*) และชนิดที่ 2 (เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อรา *Aspergillus sp.*) ปริมาณเซลลูโลสน้อยลงกว่าการไม่ปรับสภาพ ปริมาณองค์ประกอบชีวมวลของกากปาล์มส่วนเส้นใยมีองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตาราง 4.2 องค์ประกอบชีวมวลของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ

การปรับสภาพ	องค์ประกอบมวลชีวภาพ			
	เฮมิเซลลูโลส (%)	ลิกนิน (%)	เซลลูโลส (%)	อื่นๆ (%)
ไม่ปรับสภาพ	28.00 ± 3.00	15.30 ± 2.00	32.67 ± 1.10	24.00 ± 0.00
กรดแก่เจือจาง	3.00 ± 1.00	23.00 ± 2.60	61.00 ± 0.00	13.00 ± 4.20
น้ำร้อน	26.00 ± 1.00	16.30 ± 1.50	45.67 ± 1.50	12.00 ± 1.00
กรดแก่เจือจางตามด้วย เอนไซม์รวม	17.30 ± 4.50	16.30 ± 0.50	51.67 ± 0.50	14.67 ± 4.50
กรดแก่เจือจางตามด้วย เอนไซม์รวมชนิด 2	25.00 ± 3.00	12.60 ± 0.50	52.67 ± 2.00	9.67 ± 0.50
น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ รวมชนิด 1	33.00 ± 5.20	15.00 ± 1.00	38.67 ± 0.50	13.33 ± 4.10
น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ รวมชนิด 2	37.30 ± 1.50	11.30 ± 0.50	46.33 ± 0.50	5.00 ± 2.00
เอนไซม์รวมชนิด 1	33.00 ± 2.60	15.30 ± 1.10	25.00 ± 0.50	26.67 ± 2.30
เอนไซม์รวมชนิด 2	35.60 ± 1.10	14.30 ± 1.10	28.00 ± 1.00	19.00 ± 1.70



รูปที่ 4.2 ปริมาณเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และ เซลลูโลส ในกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และ เซลลูโลส ในกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับและการปรับสภาพต่างๆ พบว่า การปรับสภาพกากปาล์มด้วยกรดแก่เจือจางจะทำให้องค์ประกอบเซลลูโลสสูงกว่าการใช้ความร้อน อธิบายได้ว่ากรดเข้าไปทำปฏิกิริยาละลายพันธะของโครงสร้างโมเลกุลระหว่างลิกนินและไฮโดรเซลลูโลส ทำให้โครงสร้างโมเลกุลเกิดการแตกออกและกรดสามารถละลายไฮโดรเซลลูโลสให้แตกออกเป็นเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสแล้วสามารถละลายเฮมิเซลลูโลสให้กลายเป็นโมเลกุลเดี่ยวได้แต่ไม่สามารถละลายพันธะเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลดี-กลูโคสได้ทำให้ปริมาณเซลลูโลสที่วิเคราะห์ได้มีค่ามาก ส่วนปริมาณเฮมิเซลลูโลสมีค่าน้อย (พรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์, 2545)

การปรับสภาพด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 และ เอนไซม์รวมชนิดที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์เซลลูโลสน้อยลงกว่าการไม่ปรับสภาพ อธิบายได้ว่าเอนไซม์สามารถละลายโครงสร้างเซลลูโลสได้ เนื่องจากเป็นเอนไซม์ได้มาจากการสกัดจากเชื้อรา ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเชื้อราจะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลสโดยการทำงานของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสไปเป็นกลูโคส ปริมาณเซลลูโลสจึงน้อยลง และเมื่อเปรียบเทียบเอนไซม์ชนิดที่ 1 และเอนไซม์ชนิดที่ 2 พบว่า เอนไซม์ชนิดที่ 2 มีปริมาณเซลลูโลสมากกว่าเอนไซม์ชนิดที่ 1

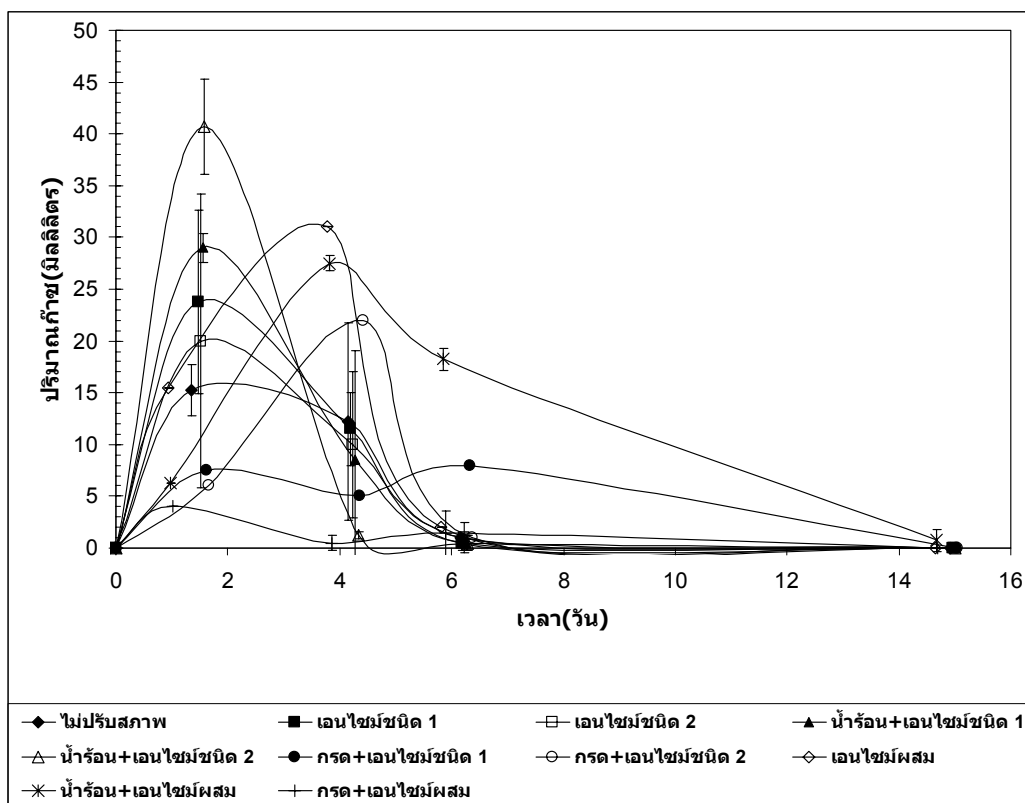
การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 และกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์เซลลูโลสเรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ กรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 > กรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 > ไม่ปรับสภาพ อธิบายได้ว่าการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสด้วยกรดอาจมีสารที่ยับยั้ง หรือ สารพิษที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ให้มีประสิทธิภาพน้อยลง ส่งผลให้การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์มีปริมาณเซลลูโลสสูงกว่าการปรับสภาพด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว

การปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 และ น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์เซลลูโลสเรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 > น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 > ไม่ปรับสภาพ อธิบายได้ว่า การย่อยสลายด้วยน้ำร้อนมีการปล่อยสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ส่งผลให้ย่อยสลายเซลลูโลสได้น้อยลง

การปรับสภาพทั้งหมด พบว่า การปรับสภาพทางชีวภาพเป็นการปรับสภาพที่ดีกว่าทางเคมีและดีกว่าทางเคมีตามด้วยวิธีชีวภาพ เนื่องจากการปรับสภาพทางเคมีเกิดการปล่อยสารยับยั้งหรือสารพิษส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ให้มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้อยลง

4.3 ปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมและปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสะสม

ปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสูงสุดเรียงลำดับจากมากไปน้อยมีดังนี้ ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 (41.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > กากปาล์มที่ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ผสม (31.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 (29.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ผสม (27.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 (23.75 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยกรดตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 (22.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 (20.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ไม่มีการปรับสภาพ (15.25 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยกรดตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 (8.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยกรดตามด้วยเอนไซม์ผสม (4.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) ดังรูปที่

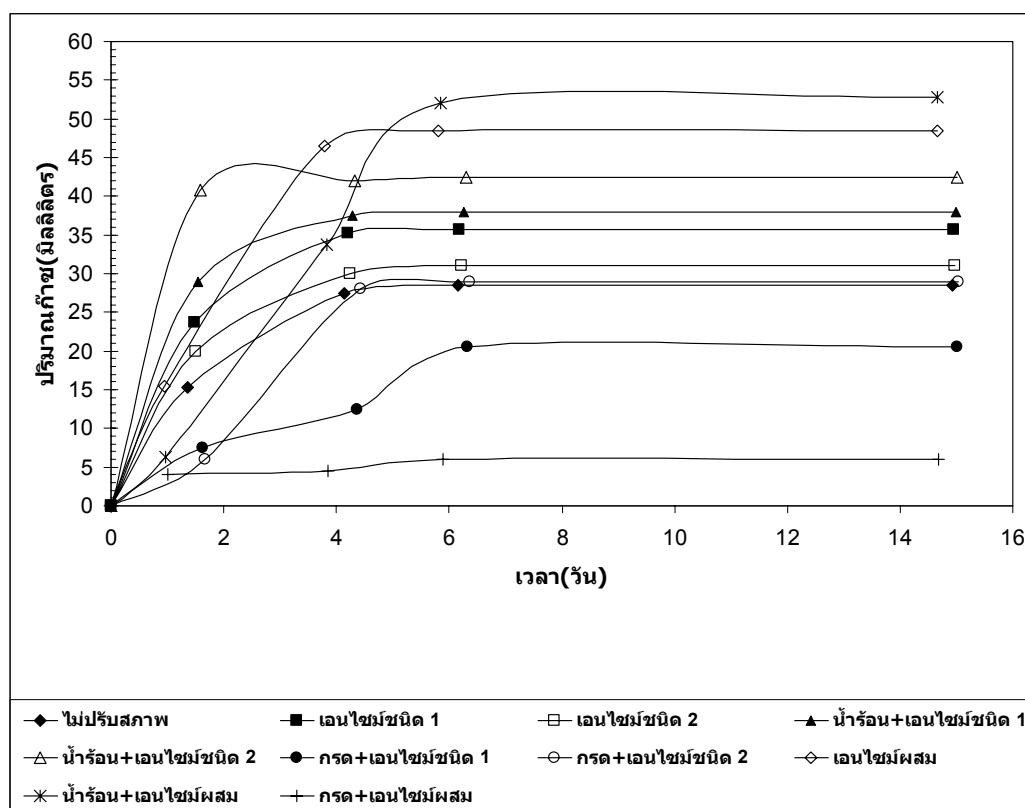


รูปที่ 4.3 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ

จากการเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ พบว่าปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมจะมีปริมาณมากในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 5 แล้วปริมาตรจะค่อยๆ ลดลงจนถึงวันที่ 14 จะมีปริมาตรสูงสุดในช่วงวันที่ 2 ยกเว้น การปรับสภาพด้วยเอนไซม์ผสม การปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ผสม การปรับสภาพด้วยกรดตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 จะมีปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสูงสุดในวันที่ 4 และการปรับสภาพด้วยกรดตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 จะมีปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสูงสุดในวันที่ 6 ซึ่งกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 นั้นเกิดปริมาตรก๊าซรวมสูงสุด คือ 41.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม

การวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสะสมเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ผสม (52.75 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ผสม (48.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของ

กากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 (41.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 (38.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 (35.78 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 (31.03 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 (29.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ไม่มีการปรับสภาพ (28.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) = ปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 (28.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ผสม (6.00 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสะสมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ

จากการเปรียบเทียบปริมาณก๊าซชีวภาพรวมสะสมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ พบว่า การผลิตก๊าซชีวภาพรวมมีอัตราการผลิตสูงในช่วง 5 วันแรกและอัตราการผลิตก๊าซจะเริ่มลดลงจนคงที่หลังจากวันที่ 7 ซึ่งกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 นั้นเกิดปริมาณก๊าซรวมสะสมสูงสุด คือ 41.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม (ในกรณีนี้ไม่สามารถเปรียบเทียบเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 เอนไซม์รวมชนิดที่ 2 กับเอนไซม์ผสม เพราะแอกติวิตีของเอนไซม์ผสมไม่เท่ากันและมีหน่วยต่างกับกับเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 และเอนไซม์รวมชนิดที่ 2) ประสิทธิภาพของการปรับสภาพกากปาล์มที่มีผลต่อปริมาณก๊าซชีวภาพรวมสะสมเรียงลำดับดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 การปรับสภาพกากปาล์มที่มีผลต่อประสิทธิภาพการเกิดก๊าซชีวภาพรวมสะสม

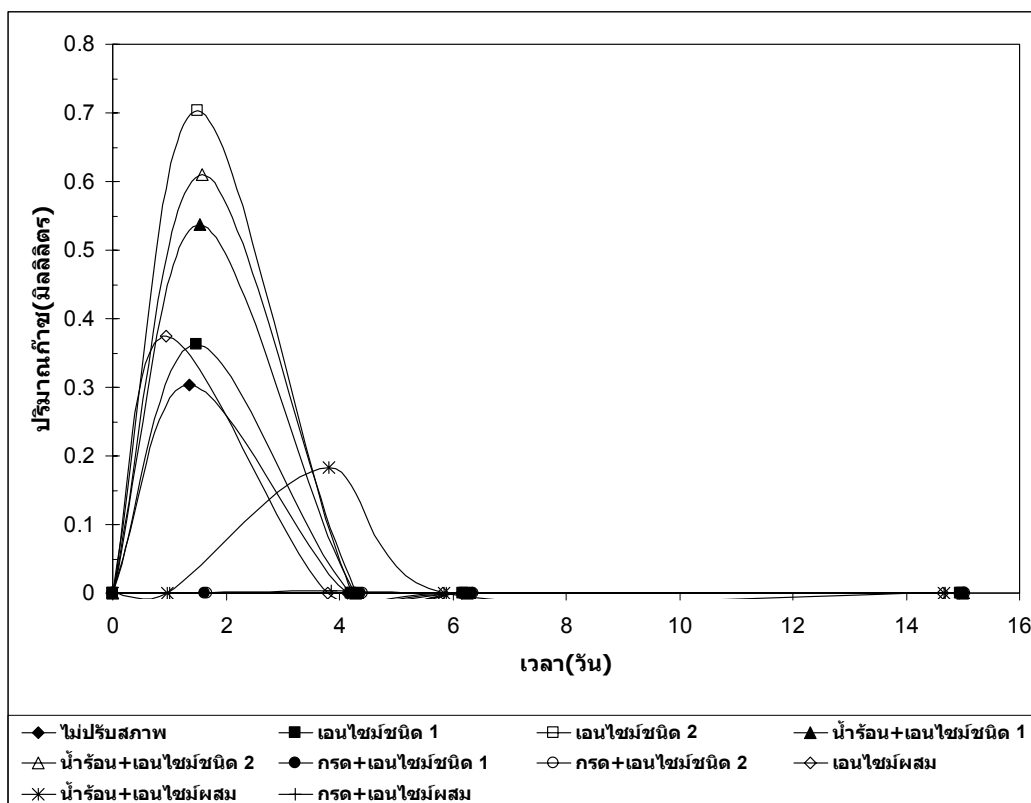
ลำดับ	การปรับสภาพ	ปริมาณสะสม (มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม)
1.	น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2	41.50
2.	น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1	38.00
3.	เอนไซม์รวมชนิดที่ 1	35.78
4.	เอนไซม์รวมชนิดที่ 2	31.03
5.	กรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 2	29.00
6.	ไม่ปรับสภาพ	28.50
7.	กรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์รวมชนิดที่ 1	28.50

การปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์และการปรับสภาพด้วยเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพการเกิดก๊าซชีวภาพรวมสะสมมากกว่าการไม่ปรับสภาพ แต่การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์มีประสิทธิภาพการเกิดก๊าซชีวภาพรวมสะสมใกล้เคียงกับการไม่ปรับสภาพ สำหรับการปรับสภาพด้วยเอนไซม์จะเห็นได้ว่าเอนไซม์รวมชนิดที่ 1 มีประสิทธิภาพดีกว่าเอนไซม์รวมชนิดที่ 2 แต่เมื่อนำเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดมาปรับสภาพต่อจากน้ำร้อนและกรดจะเห็นได้ว่าเอนไซม์ชนิดที่ 2 มีประสิทธิภาพดีกว่าเอนไซม์ชนิดที่ 1 แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ชนิดที่ 2 จะทำงานได้ดีเมื่อกากปาล์มนั้นผ่านการปรับสภาพมาแล้ว

4.4 ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจน ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมและเปอร์เซ็นต์ก๊าซ

ไฮโดรเจน

การวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซรวม พบว่า ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดจากการหมักเรียงจากมากไปน้อยมีดังนี้ ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (0.70 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (0.61 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (0.54 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ผสม (0.37 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (0.36 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ไม่มีการปรับสภาพ (0.30 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ผสม (0.18 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ผสม การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 และการปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 ไม่มีปริมาตรก๊าซไฮโดรเจน ดังรูป 4.5

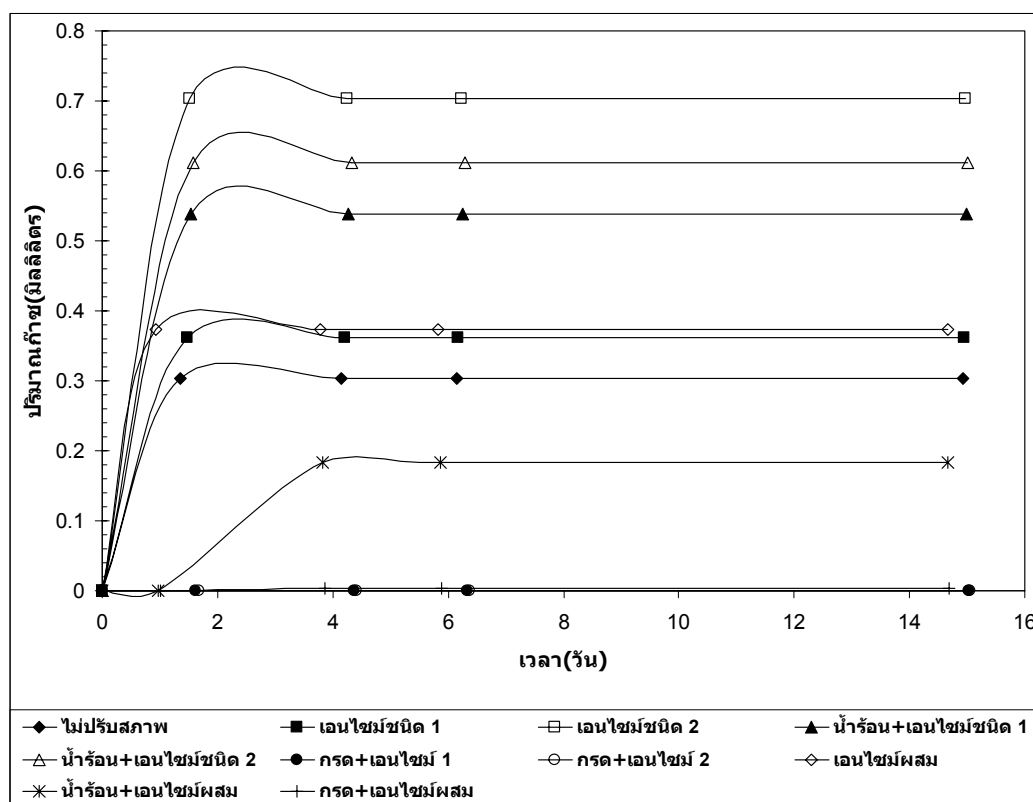


รูปที่ 4.5 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ

จากการเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ พบว่า ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนจะมีปริมาณมากในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 5 แล้วปริมาตรจะค่อยๆ ลดลงหลังจากวันที่ 6 จนถึงวันที่ 14 จะมีปริมาตรสูงสุดในช่วงวันที่ 2 ยกเว้น การปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ผสม จะมีปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสูงสุดในวันที่ 4 ซึ่งกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 นั้นเกิดปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด คือ 0.70 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม อธิบายได้ว่า การปรับสภาพกากปาล์มด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 มีศักยภาพในการผลิตก๊าซสูงสุด เนื่องจาก การปรับสภาพด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียวจะทำงานได้ดี และปริมาณเซลล์หลังจากการปรับสภาพของเอนไซม์ชนิดที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าเอนไซม์ชนิดที่ 1 ส่งผลให้มีสารตั้งต้นเพื่อให้จุลินทรีย์ผลิตเป็นก๊าซไฮโดรเจนได้มากกว่า

การวัดปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมเรียงลำดับจากมากไปน้อยมีดังนี้ ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (0.70 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับ

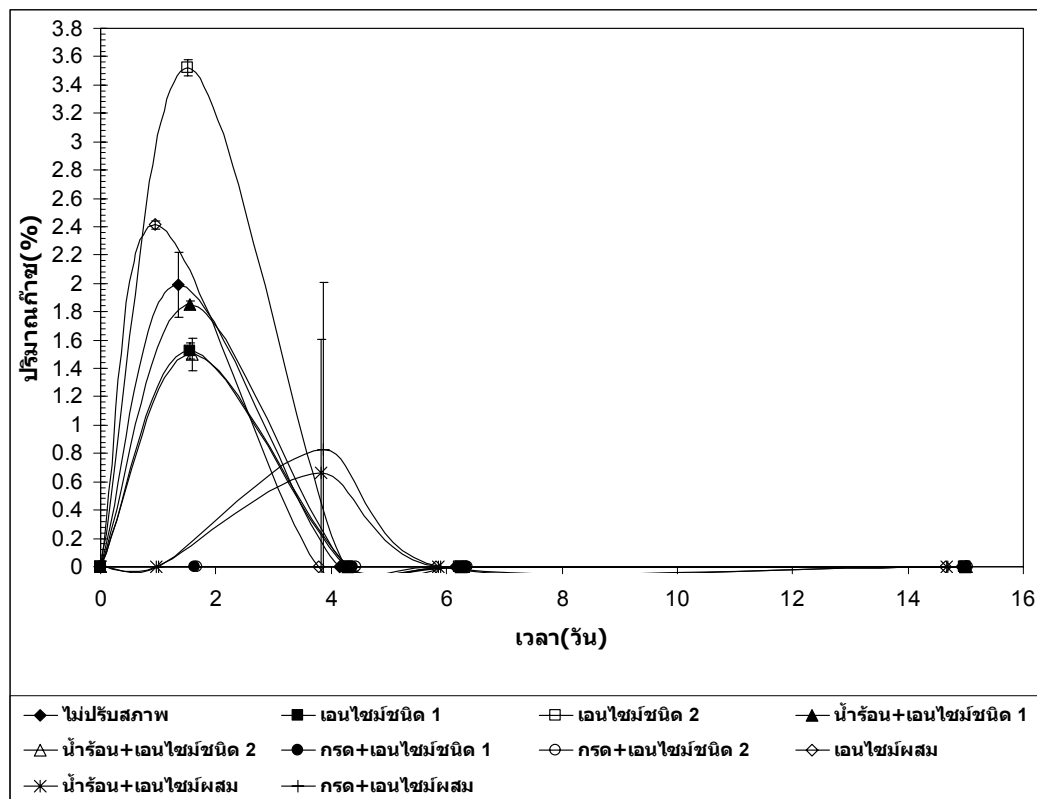
สภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (0.61 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (0.54 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ผสม (0.37 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (0.36 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ไม่มีการปรับสภาพ (0.30 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ผสม (0.18 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม) > ปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ผสม การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 และการปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 ไม่มีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนสะสม ดังรูป 4.6



รูปที่ 4.6 การเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ

จากการเปรียบเทียบปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ พบว่า ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมมีปริมาตรเพิ่มขึ้นเรื่อยๆภายใน 5 วันแรกแล้วหลังจากนั้นปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนจะเริ่มคงที่ ซึ่งกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 นั้นเกิดปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุด คือ 0.70 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม เมื่อเปรียบเทียบการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 กับ เอนไซม์ชนิดที่ 2 พบว่า เอนไซม์ชนิดที่ 2 มีศักยภาพในการปรับสภาพเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนดีกว่าเอนไซม์ชนิดที่ 1 และ การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ น้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์นั้น เอนไซม์ชนิดที่ 2 ก็มีศักยภาพได้ดีกว่าเช่นกัน และเมื่อเปรียบเทียบการปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางกับน้ำร้อน พบว่า การปรับสภาพด้วยน้ำร้อนมีศักยภาพในการปรับสภาพเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ดีกว่ากรดแก่เจือจาง เนื่องจาก กรดแก่เจือจางสามารถย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้มากกว่า น้ำร้อน ซึ่งอาจทำให้ผลิตสารยับยั้งได้มากกว่าน้ำร้อนส่งผลต่อจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ดูได้จากรูปที่ 4.6 พบว่า การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามเอนไซม์ชนิดที่ 1 และ การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามเอนไซม์ชนิดที่ 2 ไม่พบปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนเลย

เปอร์เซ็นต์ไฮโดรเจนที่เกิดจากการหมักเรียงจากมากไปน้อยมีดังนี้ ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (3.52 เปอร์เซ็นต์) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ผสม (2.41 เปอร์เซ็นต์) > ไม่มีการปรับสภาพ (1.99 เปอร์เซ็นต์) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (1.85 เปอร์เซ็นต์) > ปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (1.52 เปอร์เซ็นต์) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (1.50 เปอร์เซ็นต์) > ปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ผสม (0.83 เปอร์เซ็นต์) > ปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ผสม (0.67 เปอร์เซ็นต์) > การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 และการปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 ไม่มีเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจน ดังรูป 4.7



รูปที่ 4.7 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ

จากการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนของกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการปรับสภาพต่างๆ พบว่า เปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนมีค่าสูงสุดในช่วง 5 วันแรกของการหมักและจะเริ่มลดลงจนคงที่ในวันที่ 6 ของการหมัก ซึ่งกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 นั้นเกิดเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด คือ 3.52 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ผลของการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากกากปาล์มส่วนเส้นใยที่ได้จากอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมัน โดยศึกษาปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดที่ได้จากกากปาล์มไม่ปรับสภาพและการปรับสภาพแบบต่างๆ ได้แก่ กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ กากปาล์มที่ปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางและกากปาล์มที่ปรับสภาพด้วยน้ำร้อน จากการทดลองพบว่า การปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดมากที่สุดคือ 98.98 ส่วนปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมดค่าไม่แตกต่างกัน ในการวิเคราะห์ควรร่อนกากปาล์มให้ได้ขนาด 1 มิลลิเมตรเท่ากันหมดเพื่อให้มาสูญเสียกากปาล์มที่มีขนาดเล็กมากๆ ไปกับน้ำในการวิเคราะห์ และเป็นการควบคุมการปรับสภาพและการย่อยสลายของจุลินทรีย์

การวิเคราะห์หองประกอบชีวมวลของกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและผ่านการปรับสภาพทางด้านเคมี และชีวภาพ จากการวิเคราะห์ทำให้ทราบว่า การปรับสภาพด้วยเอนไซม์ทำให้ปริมาณเซลลูโลสลดลงจากกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ส่วนการปรับสภาพทางเคมีก่อให้เกิดสารยับยั้งต่อเอนไซม์และส่งต่อการทำงานของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้น้อยลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งกากปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดแก่เจือจางมีศักยภาพการผลิตก๊าซน้อยมาก

การศึกษาปริมาณก๊าซชีวภาพรวมนั้นสามารถวัดโดยการแทนที่น้ำ ผลที่ได้พบว่า ปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมส่วนใหญ่จะมีปริมาณมากในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 5 แล้วปริมาตรจะค่อยๆ ลดลงจนถึงวันที่ 14 จะมีปริมาตรสูงสุดในช่วงวันที่ 2 โดยการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 นั้นเกิดปริมาตรก๊าซรวมสูงสุด คือ 41.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม และปริมาตรก๊าซชีวภาพรวมสะสมนั้นกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 เกิดปริมาตรก๊าซรวมสะสมสูงสุด คือ 41.50 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม การปรับสภาพด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอนไซม์และการปรับสภาพด้วยเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพการเกิดก๊าซชีวภาพรวมสะสมมากกว่าการไม่ปรับสภาพ

การศึกษาปริมาณก๊าซไฮโดรเจนนั้นสามารถวัดได้จากเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณก๊าซไฮโดรเจน ผลที่ได้พบว่า ส่วนใหญ่ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนจะมีปริมาณมากในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 5 แล้วปริมาตรจะค่อยๆ ลดลงหลังจากวันที่ 6 จนถึงวันที่ 14 จะมีปริมาตรสูงสุดในช่วงวันที่ 2 โดยการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 มีปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสูงสุดเท่ากับ 0.70 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม และปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมมีปริมาตรเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ภายใน 5 วันแรก

แล้วหลังจากนั้นปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนจะเริ่มคงที่ การปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 นั้นเกิดปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุด คือ 0.70 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม

การศึกษาเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจน พบว่า เปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนมีค่าสูงสุดในช่วง 5 วันแรกของการหมักและจะเริ่มลดลงจนคงที่ในวันที่ 6 ของการหมักและการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 นั้นเกิดเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด คือ 3.52 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจน พบว่า การปรับสภาพแบบต่างๆ มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทั้งทำให้ปริมาตรก๊าซมากขึ้นและทำให้ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนลดลง จะเห็นว่าการปรับสภาพกากปาล์มส่วนเส้นใยผลด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 ทำให้ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นจากกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ 1.53 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นปริมาตรไฮโดรเจน 0.40 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์ม

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์เปรียบเทียบเฉพาะเอนไซม์ชนิดที่ 1 และ เอนไซม์ชนิดที่ 2 ยังไม่ได้เปรียบเทียบกับเอนไซม์ผสม เนื่องจากแอกติวิตีไม่เท่ากัน จึงควรหา แอกติวิตีของเอนไซม์ผสม เพื่อสามารถเปรียบเทียบกันได้ เนื่องจากแนวโน้มการปรับสภาพกากปาล์มด้วยเอนไซม์ผสมน่าจะผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้มากกว่า แต่อาจทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ผสมเป็นเอนไซม์ทางการค้า จึงควรศึกษาต่อไปว่า เอนไซม์แบบไหนที่จะคุ้มค่ากับปริมาตรไฮโดรเจนที่ผลิตได้

บรรณานุกรม

- กัญญา ม่วงแก้ว. 2544. การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล. 2546. Biohydrogen พลังงานสะอาดจากเทคโนโลยีชีวภาพ. วารสาร LAB.TODAY ปีที่ 2 ฉบับที่ 2 (ตุลาคม 2546), หน้า 19-24
- พิสุทธิ พวงนาค. 2542. การกลายพันธุ์ของเชื้อรา *Acrophialophora* sp. ที่ย่อยสลายเซลลูโลส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วาริ ชวนรักธรรม. 2548. ศักยภาพเชื้อเพลิงชีวมวลไทย สู่ทางเลือกใหม่ ด้านพลังงานทดแทน. วารสาร Engineering Today (สิงหาคม), หน้า 50-52.
- วิเชียร สีสุข. 2532. การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรกรรมด้วยเอนไซม์จาก *Aspergillus fumigatus* Fresenius รหัส 4-45-1F. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรุณวรรณ นุชพ่วง. 2547. การย่อยสลายหญ้าแฝกหอม *Vetiveria zizanioides* Nash โดยใช้เชื้อราที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Aldridge, S. 2000. The Agbiotech Revolution In J. Sterling (ed.). Genetic Engineering news. USA : Mary Ann Liebert.
- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed. New York : John Wiley & Son,
- Beldman, G., Veragon, A. G., Rombout, F.M., Searle-vanleevwen, M.F., and Pilnic. 1987. Adsorption and kinetic behavior of purified endoglucanase and exoglucanases from *Thichoderma viride*. Biotechnology and Bioengineering. Vol. 30 pp. 251-257
- Blackbum, B., MacDonald, T., McCormack, M., Perez, P., and Tiengco, V. 1999. Evaluation of biomass-to-ethanol! Fuel potential in California. California Energy Xommission Docket 1999-12-22-500-99-022.
- Coughlan, M.P., and Ljungdahl, L. G. 1988. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems. In J.P. Aubert, P. Beguin, and J. Millet

- (eds.), Biochemistry and genetics of cellulose degradation, 11-25 London : Academic press,
- Cowling, E.B., and Kirk, T.K. 1976. Properties of cellulose and lignocellulosic materials as substrates for enzymatic conversion processes. Biotechnology and Bioengineering symp. No. 6: pp. 95-123.
- Dekker, R.F.H. 1983. Bioconversion of hemicellulose : Aspects of hemicellulose production by Thichoderma reesei OM9414 and enzymic saccharification of hemicellulose. Biotech.Bioeng. 25:1127
- Dekker, R.F.H., H. Karageorge and A.F.A. Wallis. 1987. Pretreatment of hardwood (Eucalyptus regnans) sawdust by autohydrolysis explosion and its saccharification by Thichoderma cellulase. Biocatalysis. 1: 47-61
- Ericksson, K.E.L., Blanchette, R.A., and Ander, P. 1990. Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components. Ozach Gmbh and Co., Berlin Germany. Pp.181-222.
- Fogarty., W., M. 1983. Microbial Enzymes and Biotechnology. London : Applied science publishers Lid.
- Goering, H.k., and Van Soest, P.J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagent, Producers, and Some Application). In Agriculture Handbook No. 379, p. 20. United States of Agriculture, Washington, DC.
- Inagaki, H., and Phillips, O.G. 1989. Cellulolysics Utilization; Researce and Rewards in Cellulolysics. The Universities Press (Belfast) Ltd. 271 p.
- Kirk, T.K. 1983. Degradation and Conversion of lignocellulosic. In Smith, J.E., Berry, D.R., and Kristiansen, B. (eds.), The filamentous fungi. Vol.4. Edward Arnold. New York.
- Kirk, T.K, and Farrel, R.L. 1987. Enzymatic combustion the microbial degradation of lignin. Ann. Rev. microbiol. 41: 465-505.
- Maglione, G. Russell, B. James, and Wilson, B. David. 1997. Kinetics of Cellulose Digestion by Fibrobacter succinogenes S85. Applied and Environmental Microbiology. Vol 63: (2) pp. 665-669.
- Mandel, M., and Stenberg, D. 1976. Recent advances in cellulose technology. Journal of Fermentation Tevhhnology. 54 : 267-286.
- McMillan, J.D. 1994. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. In M.E. Himmel, J.O. Baker, and R.P. Overend (eds.), Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels

- Production, ACS Symposium Series 566, pp. 292-324. Washington, DC: American Chemical Society.
- Mielenz, J.R. 2001. Ethanol production from biomass: technology and commercialization status. Current Opinion in Microbiology. 4(3): 432-329.
- Paturau, J.M. 1989. Bagasse by Production of the Cane Sugar Industry. 3rd Elsevier Science Publisher Ltd. Great Britain.
- Prescott, R.P., and Dunn, C.G. 1959. Industrial Microbiology. 3rd Kogakusha Ltd. Tokyo. 900 pp.
- Radfort, A., Stone, P.J., and Taleb, F. 1996. Cellulase and Amylase Complex. In Brambl and Marzluf (eds.), The Mycota III Biochemistry and Molecular Biology, pp. 269-294 Germany: springer-Verlag.
- Raimo, Alen. 1990. Conversion of cellulose-containing materials into useful products. In J.F. Kennedy, G.O. Phillips, and P.A. Williams. (ed.), Cellulose Sources Exploitation Industrial Utilization, Biotechnology and Physico-chemical Properties. Ellis Horwood Limited. England.
- Robinson, D.G. 1997. Plant cell wall synthetic. Adv. Bot. Res. 5: pp. 300-312.
- Ryu., D., and Mandels., M. 1980. Cellulase: biosynthesis and applications. Enzyme and Microbial Technology 2: 91-102.
- Smith, J.E., and Aidoo, K.E. 1988. Growth of fungi on solid substrates. In D.R. Berry (ed.), Physiology of Industrial Fungi, pp. 249-269. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Tsao, G.T. and L. Chaing. 1983. Cellulose and hemicellulose technology, pp. 296-326. In J.E. Smith, D.R. Berry and B. Kristiansen (eds.). The filamentous Fungi. Fungal technology. John Wiley & Sons Inc, New York.
- Varma, A., and Behera, B. 2003. Green energy: Biomass Processing and Technology. New Delhi Kolkata Bangalore: Capital Publishing Company.
- Xiao-Bin, Y., Yun, H.S., and Koo, Y.M. 1998. Production of Cellulase by *Trichoderma reesei* Rut C 30 in Wheat Bran-containing Media. Journal of Microbiology and Biotechnology. 8(3): 208-213.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์หองค์ประกอบมวลชีวภาพ

1. วิธีการวิเคราะห์หาเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

1.1 การสกัดด้วยสารละลาย Neutral detergent

1.1.1 นำ Sintered glass crucible เบอร์ 1 ขนาด 50 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 ° C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.1.2 ชั่งตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียดขนาด 1 มิลลิลิตร ประมาณ 1 กรัม ใส่ปิกเกอร์ทรงสูงขนาด 600 มิลลิลิตร

1.1.3 เติมสารละลาย Neutral detergent 100 มิลลิลิตร Sodium sulfite 0.5 กรัม และ Decahydronaphthalene 2 มิลลิลิตร นำไป เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยนับตั้งแต่เริ่มเดือด

1.1.4 ถ่ายส่วนผสมที่ reflux เสร็จแล้วลงใน Sintered glass crucible ที่วางอยู่บนชุดกรอง ล้างตัวอย่างใน crucible ด้วยน้ำร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) 3-4 ครั้ง แล้วล้างด้วย Acetone 2 ครั้ง ดูดสารละลายออกด้วยเครื่อง vacuum pump จนแห้ง จากนั้นนำ crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

1.1.5 นำ crucible ออกมาทิ้งให้เย็นใน desicator แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือปริมาณ Neutral detergent fiber (NDF)

วิธีคำนวณ

$$\%NDF = \frac{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก NDF}) - \text{น้ำหนัก crucible}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}}$$

1.2 การสกัดด้วยสารละลาย Acid detergent

1.2.1 นำตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดด้วย Neutral detergent มา ถ่ายใส่ในปิกเกอร์เพื่อทำการ reflux ด้วย acid detergent โดยเติม Acid detergent 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นับเวลาตั้งแต่เริ่มเดือด

1.2.2 กรองตัวอย่างพืชใน crucible ใ้เติมเพื่อลงการสูญเสียตัวอย่างให้น้อยที่สุดแล้วล้างด้วยน้ำร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) 3-4 ครั้ง แล้วล้างด้วย 80% Ethanol 2 ครั้ง

1.2.3 นำ crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปล่อยให้เย็นใน desicator แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่ได้คือ น้ำหนักของ Acid detergent fiber (ADF) น้ำหนักที่แตกต่างระหว่าง NDF และ ADF น้ำหนักของเฮมิเซลลูโลส

วิธีคำนวณ

$$\%ADF = \frac{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก ADF}) - \text{น้ำหนัก crucible}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}}$$

$$\text{เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)} = \%NDF - \%ADF$$

1.3 การวิเคราะห์หา Permanganate lignin (PML)

1.3.1 เติมน้ำสารละลาย Combined permanganate 25 มิลลิลิตร ลงใน crucible ลงในภาชนะที่มีน้ำยีสสูงประมาณ 2 เซนติเมตร คนด้วยแท่งแก้วเพื่อไม่ให้ตัวอย่างจับเป็นก้อนทิ้งไว้ 45 นาที โดยคนเป็นบางครั้งจากนั้นดูดสารละลายออกให้หมดโดยใช้ vacuum pump

1.3.2 เติมน้ำสารละลาย Combined permanganate 25 มิลลิลิตร ลงใน crucible อีกครั้ง ทิ้งไว้อีก 45 นาที ดูดสารละลายออกให้หมดโดยใช้ vacuum pump

1.3.3 เติมน้ำสารละลาย Demineralizing ลงใน crucible แต่ละถ้วย แช่ไว้ 5 นาที แล้วดูดสารละลายออกให้หมดโดยใช้ vacuum pump ทำซ้ำจนได้ตัวอย่างพืชสีขาวภายในเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วย 80% Ethanol และ acetone แล้วดูดให้แห้งโดยใช้ vacuum pump

1.3.4 นำ crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปล่อยให้เย็นใน desicator แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่แตกต่างกันระหว่าง Acid detergent fiber (FDA) และน้ำหนักตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดลิกนินออก คือ น้ำหนักของลิกนิน

วิธีคำนวณ

$$\text{ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

โดยที่

A = น้ำหนัก crucible + น้ำหนัก ADF

B = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดลิกนินออก

C = น้ำหนักตัวอย่างพืช

1.4 การวิเคราะห์หาเซลลูโลสโดยการเผาเถ้า

นำ crucible ที่มีตัวอย่างพืชซึ่งผ่านการสกัดลิกนินออกแล้วในข้อ 1.3 ไปเผาในเครื่องเผาเถ้า ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นออกมาปล่อยให้

เย็นใน desicator แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่แตกต่างกันระหว่าง น้ำหนักพีชหลังสกัดลิกนินออก และน้ำหนักหลังการเผาถ้ำ คือ น้ำหนักเซลลูโลส ส่วนน้ำหนักถ้ำก็คือ ผลต่างระหว่าง น้ำหนักหลังการเผาและน้ำหนัก crucible

วิธีคำนวณ

$$\text{เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(B - D) \times 100}{C}$$

โดยที่

B = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างพีชที่ผ่านการสกัดลิกนินออก

D = น้ำหนักcrucible+น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

C = น้ำหนักตัวอย่างพีช

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์และกราฟเส้นมาตรฐาน

1 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า- กลูโคซิเดส (β -glucosidase)

เอนไซม์ รหัส	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน	Control	Blank
BCC							
4528	0.379	0.260	0.323	0.321	0.060	0.062	0.062
4603	3.148	3.025	2.963	3.045	0.094	0.073	0.062
5744	2.541	2.745	2.861	2.716	0.162	0.086	0.062
7179	0.310	0.069	0.691	0.357	0.314	0.080	0.062

ตารางที่ ข.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์

รหัส BCC 5744, BCC 4528, BCC 4603, BCC 7179

1.1 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า- กลูโคซิเดส รหัส BCC 5744

วิธีคำนวณ

$$A = \epsilon BC$$

โดย A = ค่าดูดกลืนแสง (Absorbance ไม่มีหน่วย)

B = ระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวกลาง [ในการทดลองนี้ระยะ 0.5 cm.]

C = ความเข้มข้นของสารละลายตัวกลาง [molar (mol/liter)] คือค่าแอกติวิตี

 ϵ = ค่าคงที่ ณ แต่ละความยาวคลื่น [liter.mol⁻¹.cm⁻¹]

$$A = \text{ค่าที่ได้จากการทดลอง} - \text{ค่าควบคุมในการทดลอง} = 2.716 - 0.086 = 2.630$$

$$B = 0.5 \text{ cm}$$

$$\epsilon_{405} = 16900 \text{ liter.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

การคำนวณ A = ϵBC

$$C = \frac{A}{\epsilon B}$$

$$C = \left[\frac{2.630}{16900 \times 0.5} \right] \times \frac{\mu\text{mole}}{L} \times \frac{1}{40 \text{ min}} \times \frac{1L}{1000ml}$$

$$C = 7.780 \times 10^{-3} \frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}}$$

หมายเหตุ ได้มีการแปรหน่วยจากลิตร (L) เป็นมิลลิลิตร (ml)

40 min มาจากเวลาที่ใช้ใน เครื่องปั๊ม (Incubate) เป็นเวลา 40 นาที

1.2 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า- กลูโคซิเดส รหัส BCC 4528

วิธีคำนวณ

A = ค่าที่ได้จากการทดลอง- ค่าควบคุมในการทดลอง = 0.320 - 0.062 = 0.258

B = 0.5 cm

$\epsilon_{405} = 16900 \text{ liter.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

การคำนวณ A = ϵBC

$$C = \frac{A}{\epsilon B}$$

$$C = \left[\frac{0.258}{16900 \times 0.5} \right] \times \frac{\mu\text{mole}}{L} \times \frac{1}{40 \text{ min}} \times \frac{1L}{1000ml}$$

$$C = 7.652 \times 10^{-4} \frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}}$$

1.3 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า- กลูโคซิเดส รหัส BCC 4603

วิธีคำนวณ

A = ค่าที่ได้จากการทดลอง- ค่าควบคุมในการทดลอง = 3.045 - 0.073 = 2.972

B = 0.5 cm

$\epsilon_{405} = 16900 \text{ liter.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

การคำนวณ A = ϵBC

$$C = \frac{A}{\epsilon B}$$

$$C = \left[\frac{2.972}{16900 \times 0.5} \right] \times \frac{\mu\text{mole}}{L} \times \frac{1}{40 \text{ min}} \times \frac{1L}{1000ml}$$

$$C = 8.793 \times 10^{-3} \frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}}$$

1.4 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เบต้า- กลูโคซิเดส รหัส BCC 179

วิธีคำนวณ

A = ค่าที่ได้จากการทดลอง- ค่าควบคุมในการทดลอง = 0.357 - 0.080 = 0.277

B = 0.5 cm

$\epsilon_{405} = 16900 \text{ liter.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

การคำนวณ A = εBC

 C = $\frac{A}{\epsilon \cdot B}$

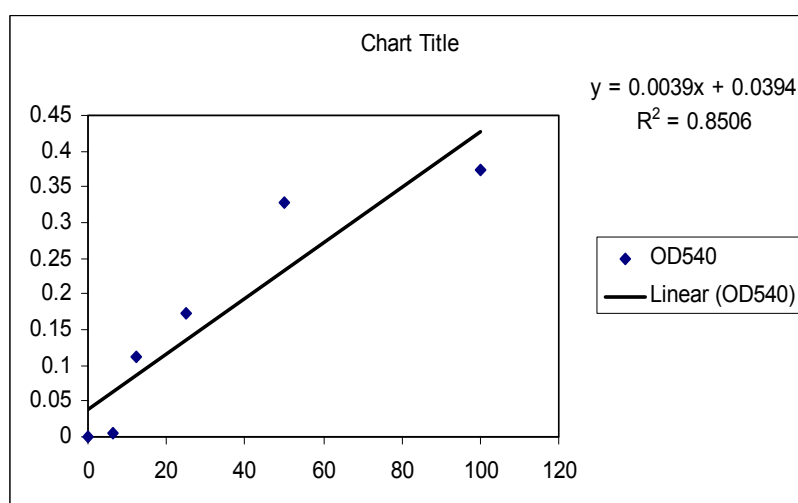
 C = $\left[\frac{0.277}{16900 \times 0.5} \right] \times \frac{\mu\text{mole}}{L} \times \frac{1}{40 \text{ min}} \times \frac{1L}{1000ml}$

 C = $8.185 \times 10^{-4} \frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{ml}}$

2.การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส (Xylanase)

ความเข้มข้นมาตรฐานของเอนไซม์ ไซเลนเนส	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
0.00	0.000
6.25	0.005
12.50	0.111
25.00	0.173
50.00	0.328
100.00	0.373

ตารางที่ ข.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเอนไซม์ไซเลนเนสมาตรฐาน



รูปที่ ข.1 กราฟเส้นมาตรฐานของเอนไซม์ไซเลนเนส

จากกราฟมาตรฐานของเอนไซม์ไซเลนเนสจะได้สมการเส้นตรงมาคำนวณค่าแอกติวิตี

$$\text{สมการเส้นตรง} \quad y = 0.0039x + 0.0394$$

$$x = \frac{y - 0.0394}{0.0039}$$

โดย x = ค่าแอกติวิตี

y = ค่าดูดกลืนแสงความยาว 540 นาโนเมตร

เอนไซม์ รหัส					ค่า		
BCC	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	เบี่ยงเบน	Control	Blank
4528	0.785	0.764	0.522	0.690	0.146	0.140	0.126
4603	0.645	0.614	0.656	0.638	0.021	0.157	0.126
5744	0.577	0.504	0.604	0.562	0.051	0.171	0.126
7179	0.715	0.744	0.780	0.746	0.032	0.156	0.126

ตารางที่ ข.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC5744, 4528, 4603, 7179

2.1 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 5744

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณ } x &= \frac{0.391 - 0.0394 \text{ mmole}}{0.0039 \text{ L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{ mole}} \\ x &= 90.0512 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L} \cdot 40 \text{ min}} \times \frac{1 \text{ L}}{10^3 \text{ ml}} \\ x &= 2.252 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{ml}} \end{aligned}$$

2.2 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 4528

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณ } x &= \frac{0.550 - 0.0394 \text{ mmole}}{0.0039 \text{ L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{ mole}} \\ x &= 130.92307 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L} \cdot 40 \text{ min}} \times \frac{1 \text{ L}}{10^3 \text{ ml}} \\ x &= 3.275 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{ml}} \end{aligned}$$

2.3 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 4603

$$\begin{aligned}
 \text{การคำนวณ} \quad x &= \frac{0.481 - 0.0394 \text{ mmole}}{0.0039 \text{ L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{ mole}} \\
 x &= 114.615 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L} \cdot 40 \text{ min}} \times \frac{1 \text{ L}}{10^3 \text{ ml}} \\
 x &= 2.832 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{ml}}
 \end{aligned}$$

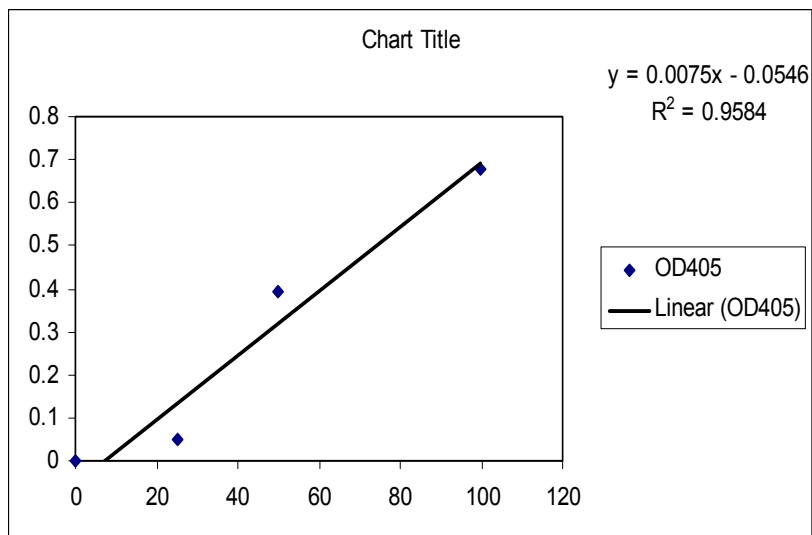
2.4 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 179

$$\begin{aligned}
 \text{การคำนวณ} \quad x &= \frac{0.590333 - 0.0394 \text{ mmole}}{0.0039 \text{ L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{ mole}} \\
 x &= 151.282 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L} \cdot 40 \text{ min}} \times \frac{1 \text{ L}}{10^3 \text{ ml}} \\
 x &= 3.531 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{ml}}
 \end{aligned}$$

3. การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase)

ความเข้มข้นมาตรฐานของเอนไซม์ เซลลูเลส	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
0.00	0.000
6.25	0.005
12.50	0.111
25.00	0.173
50.00	0.328
100.00	0.373

ตารางที่ ข.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเอนไซม์เซลลูเลสมาตรฐาน



รูปที่ ข.2 กราฟเส้นมาตรฐานของเอนไซม์เซลลูเลส

จากกราฟมาตรฐานของเอนไซม์ไซเลนเนสจะได้สมการเส้นตรงมาคำนวณค่าแอกติวิตี

$$\text{สมการเส้นตรง} \quad y = 0.0075x - 0.0546$$

$$x = \frac{y + 0.0546}{0.0075}$$

โดย x = ค่าแอกติวิตี

y = ค่าดูดกลืนแสงความยาว 540 นาโนเมตร

3.1 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 5744

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณ } x &= \frac{0.046 + 0.0546 \text{ mmole}}{0.0075 \text{ L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{ mole}} \\ X &= 13.4133 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L} \cdot 40 \text{ min}} \times \frac{1 \text{ L}}{10^3 \text{ ml}} \\ X &= 0.335 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{ml}} \end{aligned}$$

3.2 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 4528

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณ } x &= \frac{0.07667 + 0.0546 \text{ mmole}}{0.0075 \text{ L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{ mole}} \\ X &= 17.502 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L} \cdot 40 \text{ min}} \times \frac{1 \text{ L}}{10^3 \text{ ml}} \end{aligned}$$

$$X = 0.438 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}}$$

3.3 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 4603

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณ } x &= \frac{0.048667 + 0.0546 \text{mmole}}{0.0075 \text{L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{mole}} \\ x &= 13.768 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L.40 min}} \times \frac{1 \text{L}}{10^3 \text{ml}} \\ x &= 0.344 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}} \end{aligned}$$

3.4 การวิเคราะห์แอกติวิตีของเอนไซม์ไซเลนเนส รหัส BCC 7179

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณ } x &= \frac{0.102333 + 0.0546 \text{mmole}}{0.0075 \text{L}} \times \frac{10^3 \mu\text{mole}}{1 \text{mole}} \\ X &= 20.92444 \times 10^3 \frac{\mu\text{mole}}{\text{L.40 min}} \times \frac{1 \text{L}}{10^3 \text{ml}} \\ X &= 0.523 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min.ml}} \end{aligned}$$

ภาคผนวก ค
ข้อมูลดิบและการคำนวณค่า

1. องค์ประกอบมวลชีวภาพ

1.1 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	50.98	51.77	79	80	1.73
2	50.46	51.25	79		
3	50.41	51.23	82		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	51.46	48	31	28	3.00
2	51.00	54	25		
3	50.95	54	28		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนักกากปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	51.33	13	15.33	2.08
2	50.83	17		
3	50.79	16		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	51.01	32	32.67	1.15
2	50.49	34		
3	50.47	32		

ตารางที่ ค.1 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ

1.2 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อน

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.97	51.88	91	90.67	1.53
2	50.17	51.06	89		
3	51.21	52.13	92		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.62	65	26	26	1
2	50.79	62	27		
3	51.88	67	25		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนักกาก ปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.47	15	16.33	1.53
2	50.63	16		
3	51.70	18		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนัก ตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.00	47	45.67	1.53
2	50.19	44		
3	51.24	46		

ตารางที่ ค.2 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อน

1.3 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible(กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.61	51.55	94	94	1
2	50.46	51.41	95		
3	50.15	51.08	93		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.51	90	4	3	1
2	51.38	92	3		
3	51.06	91	2		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนักกาก ปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.27	24	23	2.65
2	51.13	25		
3	50.86	20		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนัก ตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	Error	error	61	0
2	50.52	61		
3	50.25	61		

ตารางที่ ค.3 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด

1.4 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.74	51.54	80	83.33	2.89
2	51.27	52.12	85		
3	50.50	51.35	85		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.24	50	30	33	2.65
2	51.78	51	34		
3	51.00	50	35		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนักกาก ปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.08	16	15.33	1.15
2	51.02	16		
3	50.86	14		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนัก ตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.83	25	25.33	0.58
2	50.77	25		
3	50.60	26		

ตารางที่ ค.4 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1

1.5 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	50.15	51.05	90	89	1.73
2	50.69	51.56	87		
3	50.25	51.15	90		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	50.68	53	37	35.67	1.15
2	51.21	52	35		
3	50.80	55	35		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนักกากปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	50.53	15	14.33	1.15
2	51.06	15		
3	50.67	13		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	50.25	28	28	1
2	50.79	27		
3	50.38	29		

ตารางที่ ค.5 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2

1.6 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนและเอนไซม์ชนิดที่ 1

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	50.92	51.82	90	90	0
2	50.18	51.08	90		
3	50.8	51.7	90		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	51.45	53	37	33	5.29
2	50.73	55	35		
3	51.43	63	27		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนักกากปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	51.30	15	15	1
2	50.59	14		
3	51.27	16		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	50.92	38	38.67	0.58
2	50.20	39		
3	50.88	39		

ตารางที่ ค.6 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนและเอนไซม์ชนิดที่ 1

1.7 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนและเอนไซม์ชนิดที่ 2

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.96	51.86	90	90	1
2	50.14	51.03	89		
3	50.27	51.18	91		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.49	53	37	37.33	1.53
2	50.67	53	36		
3	50.79	52	39		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนักกาก ปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.37	12	11.33	0.58
2	50.56	11		
3	50.68	11		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนัก ตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.91	46	46.33	0.58
2	50.10	46		
3	50.21	47		

ตารางที่ ค.7 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนและเอนไซม์ ชนิดที่ 2

1.8 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและเอนไซม์ชนิดที่ 1

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.50	51.18	68	68	0
2	50.96	51.64	68		
3	50.85	51.53	68		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.96	46	22	17.33	4.51
2	51.51	55	13		
3	51.36	51	17		

ซ้ำที่	น้ำหนักcrucible+น้ำหนักกาก ปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.79	17	16.33	0.58
2	51.35	16		
3	51.20	16		

ซ้ำที่	น้ำหนักcrucible+น้ำหนัก ตัวอย่างหลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.28	51	51.67	0.58
2	50.83	52		
3	50.68	52		

ตารางที่ ค.8 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและเอนไซม์ชนิดที่ 1

1.9 กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและเอนไซม์ชนิดที่ 2

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+ น้ำหนัก NDF(กรัม)	% NDF	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.45	51.36	91	90.67	0.58
2	50.53	51.44	91		
3	50.85	51.75	90		

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนัก ADF(กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.14	69	22	25	3
2	51.16	63	28		
3	51.50	65	25		

ซ้ำที่	น้ำหนักcrucible+น้ำหนักกาก ปาล์มที่ผ่านการสกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	51.01	13	12.67	0.58
2	51.04	12		
3	51.37	13		

ซ้ำที่	น้ำหนักcrucible+น้ำหนักตัวอย่าง หลังการเผา(ถ้ำ) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	50.46	55	52.67	2.08
2	50.53	51		
3	50.85	52		

ตารางที่ ค.9 ข้อมูลของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและเอนไซม์ชนิดที่ 2

2.ตัวอย่างการคำนวณองค์ประกอบชีวภาพของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible (กรัม)	น้ำหนัก crucible+น้ำหนัก NDF (กรัม)	% NDF
1	50.98	51.77	79

$$\%NDF = \frac{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก NDF}) - \text{น้ำหนัก crucible}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}}$$

$$\%NDF = \frac{[(51.77) - 50.98] \times 100}{1} = 79$$

ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible+น้ำหนัก ADF (กรัม)	% ADF	เฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)
1	51.46	48	31

$$\%ADF = \frac{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก ADF}) - \text{น้ำหนัก crucible}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}}$$

$$\%ADF = \frac{[(51.46) - 50.98] \times 100}{1} = 31$$

$$\% \text{ Hemicellulose} = \%NDF - \%ADF$$

$$\% \text{ Hemicellulose} = 79 - 48 = 31$$

ซ้ำที่	น้ำหนักcrucible+น้ำหนักกากปาล์มที่ผ่านการ สกัดลิกนินออก (กรัม)	ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)
1	51.33	13

$$\text{ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

$$\text{โดยที่ } A = \text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนัก ADF}$$

$$B = \text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดลิกนินออก}$$

$$C = \text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}$$

$$\text{ลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(51.46 - 51.33) \times 100}{1} = 13 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

ซ้ำที่	น้ำหนักcrucible+น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา (แก้ว) (กรัม)	เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)
1	51.01	32

$$\text{เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(B - D) \times 100}{C}$$

โดยที่ B = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ผ่านการสกัดลิกนินออก
 D = น้ำหนักcrucible+น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา
 C = น้ำหนักตัวอย่างพืช

$$\text{เซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(51.33 - 51.01) \times 100}{1} = 32 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

3. การคำนวณปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ใช้ปรับสภาพกากปาล์มส่วนเส้นใย

กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 96.5 เปอร์เซ็นต์ ต้องทำการปรับความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกให้เจือจางจนได้ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในการปรับความเข้มข้นภายในขวดแก้ว 5 ลิตร มีการเติมน้ำ 3 ลิตร กากปาล์ม 300 กรัม ซึ่งกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพจะมีความชื้น ดังนั้นการคำนวณปริมาตรกรดซัลฟูริก สามารถคำนวณได้ดังนี้

3.1 ความชื้นของกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ

ของแข็งทั้งหมดของกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ = 94.7 เปอร์เซ็นต์

ความชื้นของกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ = $100 - 94.7 = 5.3$ เปอร์เซ็นต์

3.2 ปริมาตรกรดซัลฟูริก

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดย C_1 = ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก
 V_1 = ปริมาณกรดซัลฟูริกที่เจือจาง
 C_2 = ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกเจือจาง
 V_2 = ปริมาตรรวมทั้งหมด (น้ำกลั่น 3 ลิตร+ปริมาณความชื้นในกากปาล์ม+ปริมาณกรดซัลฟูริกที่เจือจาง)

$$V_1 = \frac{C_2V_2}{C_1} = \frac{(1\%) (3000 \text{ มิลลิลิตร} + 0.053)}{95.5 \%} = 31.414 \text{ มิลลิลิตร}$$

4. ของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์มส่วนเส้นใยผล

การปรับ กากปาล์ม ส่วนสภาพ เส้นใยผล	ซ้ำที่	น้ำหนัก ถ้วย ระเหย (กรัม)	น้ำหนัก หลังอบ (กรัม)	น้ำหนัก หลังเผา (กรัม)	น้ำหนัก ตัวอย่าง หลังอบ (กรัม)	น้ำหนัก ตัวอย่าง หลังเผา (กรัม)	น้ำหนัก ของแข็ง ระเหย (กรัม)	ของแข็ง ทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ของแข็ง ระเหย ทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
ไม่ปรับ สภาพ	1	33.431	35.306	33.690	1.875	0.259	1.616	93.75	94.70	1.34	80.80	82.13	1.87
	2	33.415	35.328	33.659	1.913	0.244	1.669	95.65			83.45		
น้ำร้อน	1	33.775	35.339	33.662	1.907	0.230	1.677	95.35	95.50	0.21	83.85	84.88	1.45
	2	33.414	32.154	30.436	1.913	0.195	1.718	95.65			85.90		
กรด	1	37.279	39.246	37.605	1.967	0.326	1.641	98.35	98.56	0.32	82.05	82.93	1.24
	2	33.308	35.284	33.608	1.976	0.300	1.676	98.80			83.80		

ตารางที่ ค.10 แสดงค่าข้อมูลที่ต้องนำไปวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมด เปอร์เซ็นต์แข็งทั้งหมดและของแข็งระเหย ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ไม่ปรับสภาพ กากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อน และกากปาล์มส่วนเส้นใยผลที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด

5. การคำนวณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดของกากปาล์มส่วนเส้นใยผล

5.1 การคำนวณของแข็งทั้งหมด (Total solids)

$$\text{ของแข็งทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(B - A) \times 100}{C}$$

โดยที่ A = น้ำหนักถ้วยระเหย
 B = น้ำหนักถ้วยระเหยและน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ
 C = น้ำหนักตัวอย่าง

$$\begin{aligned} \text{ของแข็งทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพซ้ำที่ 1} \\ &= \frac{(35.306 - 33.431) \times 100}{2} \\ &= 93.75 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$

5.2 การคำนวณของแข็งระเหยทั้งหมด (Total volatile solids)

$$\text{ของแข็งระเหยทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{[(B - A) - (D - A)] \times 100}{C}$$

โดยที่ A = น้ำหนักถ้วยระเหย
 B = น้ำหนักถ้วยระเหยและน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ
 C = น้ำหนักตัวอย่าง
 D = น้ำหนักถ้วยระเหยและน้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

$$\begin{aligned} \text{ของแข็งระเหยทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพซ้ำที่ 1} \\ &= \frac{[(35.306 - 33.431) - (33.69 - 33.431)] \times 100}{2} \\ &= 80.8 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$

5.3 การคำนวณน้ำหนักของกากปาล์มที่ใส่ในขวดปิกกร์ (1 กรัมของแข็งระเหยทั้งหมด)

กากปาล์มไม่ผ่านการปรับสภาพ

ของแข็งระเหยจากการวิเคราะห์	1.616	กรัม	จากกากปาล์ม	2	กรัม
ของแข็งระเหย	1	กรัม	ต้องใส่กากปาล์ม	$\frac{2 \times 1}{1.616} = 1.238$	กรัม
ของแข็งระเหยจากการวิเคราะห์	1.669	กรัม	จากกากปาล์ม	2	กรัม
ของแข็งระเหย	1	กรัม	ต้องใส่กากปาล์ม	$\frac{2 \times 1}{1.669} = 1.198$	กรัม

ดังนั้น ต้องใส่กากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ $\frac{1.238 + 1.198}{2} = 1.218$ กรัม

2

กากปาล์มผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำร้อน

ของแข็งระเหยจากการวิเคราะห์	1.677	กรัม	จากกากปาล์ม	2	กรัม
ของแข็งระเหย	1	กรัม	ต้องใส่กากปาล์ม	$\frac{2 \times 1}{1.677} = 1.193$	กรัม
ของแข็งระเหยจากการวิเคราะห์	1.718	กรัม	จากกากปาล์ม	2	กรัม
ของแข็งระเหย	1	กรัม	ต้องใส่กากปาล์ม	$\frac{2 \times 1}{1.718} = 1.164$	กรัม

ดังนั้น ต้องใส่กากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ $\frac{1.193 + 1.164}{2} = 1.178$ กรัม

2

กากปาล์มผ่านการปรับสภาพด้วยกรด

ของแข็งระเหยจากการวิเคราะห์	1.641	กรัม	จากกากปาล์ม	2	กรัม
ของแข็งระเหย	1	กรัม	ต้องใส่กากปาล์ม	$\frac{2 \times 1}{1.641} = 1.219$	กรัม
ของแข็งระเหยจากการวิเคราะห์	1.676	กรัม	จากกากปาล์ม	2	กรัม
ของแข็งระเหย	1	กรัม	ต้องใส่กากปาล์ม	$\frac{2 \times 1}{1.676} = 1.193$	กรัม

ดังนั้น ต้องใส่กากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ $\frac{1.219 + 1.193}{2} = 1.206$ กรัม

2

6. ของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดของจุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน

น้ำหนัก ถ้วย ระเหย (กรัม)	น้ำหนัก ถ้วย ระเหย+ จุลินทรีย์ (กรัม)	น้ำหนัก จุลินทรีย์ 2 มิลลิลิตร (กรัม)	น้ำหนัก หลังอบ	น้ำหนัก ตัวอย่าง หลังอบ	น้ำหนัก หลัง เผา	น้ำหนัก ตัวอย่าง หลังเผา	น้ำหนัก ของ แข็ง ระเหย	ของแข็ง ทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ของแข็ง ระเหย ทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
31.14	33.21	2.07	31.39	0.25	Error	error	Error	error	11.71	0.16	error	11.31	0.28
30.24	32.27	2.03	30.48	0.24	30.25	0.01	0.23	11.82			11.50		
30.09	32.16	2.07	30.33	0.24	30.10	0.01	0.23	11.59			11.11		

ตารางที่ ค.11 แสดงค่าข้อมูลที่ต้องนำไปวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมด เปอร์เซ็นต์แข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมด ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน

7. การคำนวณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมดของจุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน

7.1 การวิเคราะห์หาของแข็งทั้งหมด (Total solids)

$$\text{ของแข็งทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(B - A) \times 100}{C}$$

โดยที่ A = น้ำหนักถ้วยระเหย
 B = น้ำหนักถ้วยระเหยและน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ
 C = น้ำหนักตัวอย่าง (น้ำหนักจุลินทรีย์ 2 มิลลิลิตร)

$$\begin{aligned} \text{ของแข็งทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของจุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจนซ้ำที่ 2} \\ &= \frac{(30.48 - 30.24) \times 100}{2.03} \\ &= 11.82 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$

7.2 การวิเคราะห์หาของแข็งระเหยทั้งหมด (Total volatile solids)

$$\begin{aligned} \text{ของแข็งระเหยทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของจุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจนซ้ำที่ 2} \\ &= \frac{[(B - A) - (D - A)] \times 100}{C} \end{aligned}$$

โดยที่ A = น้ำหนักถ้วยระเหย
 B = น้ำหนักถ้วยระเหยและน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ
 C = น้ำหนักตัวอย่าง (น้ำหนักจุลินทรีย์ 2 มิลลิลิตร)
 D = น้ำหนักถ้วยระเหยและน้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

$$\begin{aligned} \text{ของแข็งระเหยทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของกากปาล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพซ้ำที่ 1} \\ &= \frac{[(30.48 - 30.24) - (30.25 - 30.24)] \times 100}{2.03} \\ &= 11.5 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$

8. ปริมาตรก๊าซรวม เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจน และ ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจน

ตัวอย่าง ที่	องค์ประกอบภายในขวดปฏิกรณ์	วันที่วัดก๊าซ (วัน)	ปริมาตรก๊าซ รวม (มิลลิลิตร)	พื้นที่ได้กราฟ				เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น ของก๊าซไฮโดรเจน	
				ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวด ที่ 1	0.81	5.00	0	0	0	0	0	0
2	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวด ที่ 2	0.83	6.00	0	0	0	0	0	0
3	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	0.85	7.00	0	0	0	0	0	0
4	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	0.88	7.00	0	0	0	0	0	0
5	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	0.89	7.00	600	603	601.50	2.12	2.75	0.01
6	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	0.91	12.00	604	648	626	31.11	2.86	0.14
7	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่1	0.93	7.00	0	0	0	0	0	0

8	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่2	0.95	15.50	533	524	528.50	6.36	2.41	0.03
9	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	0.96	6.00	0	0	0	0	0	0
10	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	0.98	6.50	0	0	0	0	0	0
11	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	1.00	4.00	0	0	0	0	0	0
12	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	1.02	4.00	0	0	0	0	0	0
13	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 1	1.26	17.00	755	642	698.50	79.90	2.94	0.34
14	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 2	1.45	13.50	246	249	247.50	2.12	1.04	0.01
15	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	1.47	30.00	452	445	448.50	4.95	1.89	0.02
16	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	1.49	17.50	293	259	276	24.04	1.16	0.10
17	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	1.51	10.00	307	335	321	19.80	1.35	0.08
18	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	1.52	30.00	1353	1352	1352.50	0.71	5.69	0.00
19	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	1.54	30.00	662	627	644.50	24.75	2.71	0.10
20	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	1.56	28.00	248	225	236.50	16.26	1.00	0.07
21	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	1.58	37.50	282	281	281.50	0.71	1.18	0.00
22	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	1.59	44.00	459	404	431.50	38.90	1.82	0.16
23	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	1.61	7.00	0	0	0	0	0	0
24	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	1.64	7.50	0	0	0	0	0	0
25	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	1.66	7.00	0	0	0	0	0	0
26	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	1.68	6.00	0	0	0	0	0	0
27	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวด								

	ที่ 1	3.02	21.00	0	0	0	0	0	0
28	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวด ที่ 2	3.06	25.00	0	0	0	0	0	0
29	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	3.08	35.00	0	0	0	0	0	0
30	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	3.73	36.00	0	0	0	0	0	0
31	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	3.75	34.00	0	0	0	0	0	0
32	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	3.76	37.00	0	0	0	0	0	0
33	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่1	3.78	1.00	301	271	286	21.21	1.65	0.12
34	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่2	3.80	31.00	0	0	0	0	0	0
35	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	3.82	27.00	0	0	0	0	0	0
36	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	3.83	28.00	226	235	230.50	6.36	1.33	0.04
37	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	3.85	0.00	0	0	0	0	0	0
38	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	3.87	1.00	316	259	287.50	40.31	1.66	0.23
39	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 1	4.15	5.50	0	0	0	0	0	0
40	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 2	4.16	19.00	0	0	0	0	0	0
41	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	4.20	9.00	0	0	0	0	0	0

42	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	4.21	14.00	0	0	0	0	0	0
43	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	4.23	15.00	0	0	0	0	0	0
44	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	4.25	5.00	0	0	0	0	0	0
45	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	4.27	1.00	0	0	0	0	0	0
46	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	4.29	1.50	0	0	0	0	0	0
47	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	4.33	11.00	0	0	0	0	0	0
48	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	4.34	6.00	0	0	0	0	0	0
49	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	4.35	63.00	2437	2434	2435.50	2.12	21.65	0.02
50	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	4.37	5.00	0	0	0	0	0	0
51	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	4.39	9.00	0	0	0	0	0	0
52	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	4.41	22.00	0	0	0	0	0	0
53	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	5.70	14.00	0	0	0	0	0	0
54	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	5.72	7.00	0	0	0	0	0	0
55	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	5.73	1.50	0	0	0	0	0	0
56	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	5.75	0.00	0	0	0	0	0	0
57	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิต								

	ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	5.77	2.00	0	0	0	0	0	0
58	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิต ก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	5.788889	2.50	0	0	0	0	0	0
59	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่1	5.81	17.00	1317	1411	1364	66.47	12.49	0.61
60	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่2	5.82	2.00	0	0	0	0	0	0
61	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	5.85	17.50	0	0	0	0	0	0
62	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	5.87	19.00	0	0	0	0	0	0
63	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	5.88	0.00	0	0	0	0	0	0
64	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	5.91	3.00	0	0	0	0	0	0
65	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 1	6.15	1.00	0	0	0	0	0	0
66	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 2	6.16	1.00	0	0	0	0	0	0
67	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	6.18	0.00	0	0	0	0	0	0
68	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	6.18	1.00	0	0	0	0	0	0
69	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	6.22	2.00	0	0	0	0	0	0
70	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	6.23	0.00	0	0	0	0	0	0
71	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	6.25	0.00	0	0	0	0	0	0
72	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	6.27	1.00	0	0	0	0	0	0
73	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	6.29	1.00	0	0	0	0	0	0
74	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	6.30	0.00	0	0	0	0	0	0
75	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	6.32	0.00	903	815	859	62.23	7.86	0.57

76	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	6.34	8.00	0	0	0	0	0	0
77	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	6.36	0.00	0	0	0	0	0	0
78	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	6.37	1.00	0	0	0	0	0	0
79	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	13.88	0.00	0	0	0	0	0	0
80	บัพเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	13.89	0.00	0	0	0	0	0	0
81	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	13.91	0.00	0	0	0	0	0	0
82	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	13.92	0.00	0	0	0	0	0	0
83	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 1	13.94	2.00	0	0	0	0	0	0
84	บัพเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่ 2	13.96	2.00	0	0	0	0	0	0
85	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่1	14.65	6.00	1732		1732	0	17.45	0
86	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่2	14.66	0.00	0		0	0	0	0
87	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	14.67	0.00	0		0	0	0	0
88	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	14.68	1.50	0		0	0	0	0
89	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 1	14.68	0.00	0		0	0	0	0

90	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่ 2	14.69	0.00	0		0	0	0	0
91	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 1	14.93	0.00	0		0	0	0	0
92	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่ 2	14.94	0.00	0		0	0	0	0
93	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	14.95	0.00	0		0	0	0	0
94	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	14.96	0.50	0		0	0	0	0
95	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	14.97	0.50	0		0	0	0	0
96	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	14.98	0.00	0		0	0	0	0
97	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	14.99	0.00	0		0	0	0	0
98	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	15.00	0.00	0		0	0	0	0
99	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	15.01	0.00	0		0	0	0	0
100	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	15.02	0.00	0		0	0	0	0
101	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 1	15.03	0.00	0		0	0	0	0
102	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่ 2	15.03	17.00	0		0	0	0	0
103	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 1	15.04	25.00	1631		1631	0	16.43	0
104	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่ 2	15.05	0.00	0		0	0	0	0

ตารางที่ ค.11 แสดงองค์ประกอบในขวดปฏิกรณ์ วันที่วัดก๊าซไฮโดรเจน ปริมาตรก๊าซรวม พื้นที่ใต้กราฟของก๊าซไฮโดรเจน และเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนที่คำนวณได้จากเปรียบเทียบกับก๊าซมาตรฐานไฮโดรเจน

กราฟมาตรฐาน ที่	ใช้กับตัวอย่างที่	พื้นที่ใต้กราฟของก๊าซไฮโดรเจน	ความเข้มข้นมาตรฐานของก๊าซไฮโดรเจน(เปอร์เซ็นต์)
1	1-12	878	4.01
2	13-23	953	4.01
3	24-26	3305	4.01
4	27-29	828	4.01
5	30-38	695	4.01
6	39-52	451	4.01
7	53-78	457	4.01
8	79-104	510	4.01

ตารางที่ค.12 แสดงค่าพื้นที่ใต้กราฟของก๊าซไฮโดรเจนของตัวอย่างแต่ละชุดที่ต้องเปรียบเทียบกับความเข้มข้นมาตรฐานของก๊าซไฮโดรเจน(เปอร์เซ็นต์) เพื่อนำไปคำนวณ

9. การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนและปริมาตรก๊าซไฮโดรเจน

จากผลการวิเคราะห์เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี จะได้พื้นที่ใต้กราฟมาโดยที่เราจะนำพื้นที่ใต้กราฟมาหาเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซ โดยเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของก๊าซมาตรฐานดังตัวอย่างนี้

ก๊าซมาตรฐาน	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซมาตรฐาน	พื้นที่ใต้กราฟก๊าซมาตรฐานตัวอย่างที่ 1-12	พื้นที่ใต้กราฟตัวอย่างที่ 8	ปริมาตรก๊าซรวมตัวอย่างที่ 8 (มิลลิลิตร)
ไฮโดรเจน	4.01	878	528.50	15.50

ตารางที่ ค.13 แสดงข้อมูลของก๊าซไฮโดรเจนที่ต้องนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนและปริมาตรก๊าซไฮโดรเจน

9.1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจน

$$= \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐาน}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟมาตรฐาน}}$$

$$= \frac{528.50 \times 4.01}{878} = 2.41 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

9.2 ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจน

$$\begin{aligned} &= \text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจน} \times \text{ปริมาตรก๊าซรวม} \\ &= 2.41 \times 15.50 \\ &= 37.36 \text{ มิลลิลิตร} \end{aligned}$$

10. ค่าพีเอชสุดท้าย

ขวดที่	องค์ประกอบภายในขวดปฏิกรณ์	พีเอชสุดท้าย
1	บัฟเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่1	6.19
2	บัฟเฟอร์+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่2	6.08
3	บัฟเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่1	6.01
4	บัฟเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 1+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่2	6.06
5	บัฟเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่1	6.81
6	บัฟเฟอร์+เอนไซม์ชนิด 2+จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจน ขวดที่2	6.82
7	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่1	5.04
8	กากปาล์ม+เอนไซม์ผสม ขวดที่2	6.17
9	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่1	5.46
10	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ผสม ขวดที่2	5.71
11	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่1	4.84
12	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ผสม ขวดที่2	4.88
13	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่1	6.02
14	กากปาล์มที่ไม่มีการปรับสภาพ ขวดที่2	6.13
15	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่1	6.05
16	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่2	5.97
17	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่1	5.89
18	กากปาล์ม+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่2	5.91
19	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่1	5.94
20	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่2	6.00
21	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่1	5.92
22	กากปาล์ม+น้ำร้อน+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่2	5.93
23	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่1	5.58
24	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 1 ขวดที่2	5.64
25	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่1	6.10
26	กากปาล์ม+กรด+เอนไซม์ชนิด 2 ขวดที่2	5.80

ตารางที่ ค.14 แสดงพีเอชสุดท้ายในขวดปฏิกรณ์

ประวัติผู้วิจัย

NIPON PISUTPAISAL, Ph.D.

ACADEMIC AFFILIATION: Environmental Technology Program

Department of Agro-Industry Technology
Faculty of Applied Science,
King Mongkut's University Technology North Bangkok
Bangseu, Bangkok 10800
Phone: 662-587-8257, Fax: 662-587-8257

EDUCATION:

The Pennsylvania State University, University Park, PA

Doctor of Philosophy, Environmental Engineering, (August 2003)

Dissertation: "Sorption and Biodegradation of Ionizable Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Estuarine Sediments"

The Pennsylvania State University, University Park, PA

Master of Science, Environmental Engineering, (December 1999)

Thesis: "Biodegradation of 1-Naphthol in the Presence of Humic Acid"

Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Bachelor of Science (Biochemistry), (1996)

Senior Project: "Immunization of Papaya Trees to Prevent the Infection from Papaya Ring Spot Virus"

PROFESSIONAL EXPERIENCE

November 2005-Present	Employer: King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok Position Held: Assistant Professor
-----------------------	---

February 1997- October 2005	Employer: King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok Position Held: Lecturer
-----------------------------	--

FIELDS OF INTEREST

- Environmental Biotechnology
- Microbial Fuel Cell Technology
- Biogas Technology
- Bioremediation

CURRENT RESEARCH

- Biological Hydrogen Production from Wastewaters.
- Biological Hydrogen and Biogas Production from Oil Palm Mill Solid Wastes.
- Biogas Production of Municipal Solid Wastes.

TEACHING

- Wastewater Treatment Technology I
- Environmental Management
- Environmental Pollution and Control
- Environmental Biotechnology
- Biochemistry

PUBLICATIONS AND PRESENTATIONS

Journal Publications

Burgos, W.D. and **Pisutpaisal, N** (2006), Sorption of Naphthoic Acids and Quinoline Compounds to Estuarine Sediment. *Journal of Contaminant Hydrology*. 84:107-126.

Burgos, W.D., **Pisutpaisal, N.**, Mezzare, M., Chorover, J. (2002), Adsorption of quinoline to kaolinite and montmorillonite. *Environmental Engineering Science*, 19:59-68.

Burgos, W.D., **Pisutpaisal, N.**, Tuntoolavest, M., Chorover, J., and Unz, R.F. (2000). Biodegradation of 1-Naphthol in the presence of humic acid. *Environmental Engineering Science*; 17:343-351.

CONFERENCE PUBLICATION

11th World Congress on Anaerobic Digestion, Brisbane, Australia, September 23 – 27, 2007. Improvement of Biohydrogen Production from Oil-Palm Fruit Kernel by Dilute Acid Hydrolysis, “

World Renewable Energy Congress IX, Florence, Italy, August 19 – 25, 2006, “Effect of Pretreatment Methods on Biogas and Bioethanol Production from Willow Woodchip”

4th International Symposium “Anaerobic Digestion of Solid Wastes,” Copenhagen, Denmark, August 31 – September 3, 2005, “Biogas Production Using Two Stage Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors”

1st IWA-ASPIRE (Asia Pacific Regional Group) Conference & Exhibition, Singapore, July 10-15, 2005, “New Trends in Biological Wastewater Treatment Processes.”

1st IWA-ASPIRE (Asia Pacific Regional Group) Conference & Exhibition, Singapore, July 10-15, 2005, “Treatment of Wastewater Using Two Stage Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors.”

Joint International Conference “Sustainable Energy and Environment (SEE), Hua Hin, Thailand, December 1-3, 2004, “Future wastewater treatment technology: Simultaneous treatment of wastewater and electrical generation”

Proceedings of the Thirty-Second Mid-Atlantic Industrial and Hazardous Waste Conference. New York, USA, June, 2000, “Biodegradation of 1-Naphthol in the presence of humic acid.”