



รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2553

รหัสโครงการวิจัย ว-ท (ด) 9.53
การผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลจากการระเบิดด้วยไอน้ำของทะลายเปล่าปาล์มน้ำมัน
Production of fuel ethanol from steam explosion of oil palm empty fruit bunch

หัวหน้าโครงการ รศ. วิทยา บัณเฑียรธรรม
หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน
หน่วยงานหลัก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

แหล่งทุน : ทุนอุดหนุนวิจัย มก.

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระยะเวลาวิจัย 1 ปี (ปีงบประมาณ 2553)

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัย (Project)
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2553

ส่วนที่ 1 สรุปผลการดำเนินงานโครงการวิจัย (Project)

1.1 รหัส ว-ท (ด) 9.53 ชื่อโครงการ การผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลจากการเปิดด้วยไอน้ำของทะเลสาบเป่าปล้ำม
น้ำมัน

1.2 ลักษณะโครงการ ☒ เป็นโครงการวิจัยเดี่ยว
☐ เป็นโครงการย่อยในชุดโครงการวิจัย (ระบุชื่อชุดโครงการวิจัย)

1.3 ชื่อหัวหน้าโครงการ รศ.ดร.วิทยา ปั่นสุวรรณ

1.4 หน่วยงานหลักรับผิดชอบ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5 ประเภทโครงการ ☒ โครงการวิจัย 3 สาขา; ☐ เกษตรศาสตร์ ☒ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ☐ สังคมศาสตร์
☐ โครงการวิจัยสถาบันเพื่อพัฒนาคุณภาพ
☐ โครงการวิจัยและถ่ายทอดงานวิจัยสู่ประชาชน
☐ โครงการเสริมสร้างความเข้มแข็งด้านการวิจัย
☐ โครงการวิจัยเพื่อพัฒนาหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชี่ยวชาญเฉพาะ (SRU)
☐ โครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพเชิงบูรณาการเพื่อการแข่งขัน
☐ โครงการวิจัยพัฒนาร่วมภาครัฐและเอกชน

1.6 ระยะเวลาดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ 1 ปี ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2553 ถึงปีงบประมาณ 2553

1.7 สถานที่ดำเนินงานวิจัย/เก็บข้อมูล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และสถาบันกัญชาและพัฒนาผลิตผล
ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.8 งบประมาณรวมตลอดโครงการ.....บาท ประกอบด้วย

ปีงบประมาณ.....ได้รับ.....บาท ปีงบประมาณ.....ได้รับ.....บาท

ปีงบประมาณ.....ได้รับ.....บาท ปีงบประมาณ.....ได้รับ.....บาท

ปีงบประมาณ.....ได้รับ.....บาท ปีงบประมาณ.....ได้รับ.....บาท

1.9 วัตถุประสงค์โครงการวิจัย

ก. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเปิดด้วยไอน้ำที่มีการแช่ทะเลสาบเป่าปล้ำมน้ำมันในสารละลายกรด เพื่อให้ได้เอทานอลหลังการเปิดที่ประกอบด้วยเอมิเชลลูโลสในปริมาณต่ำและสารละลายไฮโดรไลสที่มีปริมาณน้ำตาลไซโลสในปริมาณสูง

ข. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสและหมักแบบแยกขั้นตอนเปรียบเทียบกับสถานะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสและหมักแบบรวมขั้นตอนเพื่อให้ได้เอทานอลของเอทานอลที่ได้หลังการเปิดด้วยไอน้ำ

ค. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการหมักสารละลายไฮโดรไลสที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสเป็นหลัก เพื่อให้ได้เอทานอล

1.10 เป้าหมายผลงานวิจัยตลอดโครงการ

ปีที่	เดือนที่	ผลงานวิจัยที่คาดว่าจะได้
1.	1-2	รู้ถึงองค์ประกอบทางเคมีในวัตถุดิบทะเลสาบปล้ำปาล์มน้ำมัน
	2-4	รู้ถึงสภาวะที่เหมาะสมในการแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคการระเหิดด้วยไอน้ำ
	4-6	รู้ถึงสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกลูโคสจากเชื้อภายหลังการระเหิดโดยการย่อยด้วยเอนไซม์
	7-8	รู้ถึงสภาวะที่เหมาะสมในการหมักน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลโดยยีสต์ทางการค้า
	8-12	รู้ถึงสภาวะที่เหมาะสมในการหมักน้ำตาลไซโลสเป็นเอทานอลโดยยีสต์ทางการค้า

1.11 สรุปการดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์ (ตามแผน)	เป้าหมาย / ผลที่คาด (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน (ปฏิบัติได้จริง)
1.เตรียมตัวอย่างทะเลสาบปล้ำปาล์ม น้ำมัน	1. เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบ ทางเคมีที่ประกอบอยู่และนำไปประเหิด ด้วยไอน้ำ	1. เตรียมตัวอย่างได้จริงและ วิเคราะห์หาองค์ประกอบทาง เคมีที่ประกอบอยู่ในทะเลสาบปล้ำ ปาล์มน้ำมันได้จริง
2. ศึกษาสภาวะในการแยก องค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคการ ระเหิดด้วยไอน้ำ	2. เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการ ระเหิดด้วยไอน้ำเพื่อให้ได้เชื้อที่ ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสในปริมาณ ต่ำและสารละลายไฮโดรไลสที่มี ปริมาณน้ำตาลไซโลสในปริมาณสูง	2. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการ ระเหิดด้วยไอน้ำเพื่อให้ได้เชื้อที่ ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสใน ปริมาณต่ำและสารละลาย ไฮโดรไลสที่มีปริมาณน้ำตาล ไซโลสในปริมาณสูงได้จริง
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต กลูโคสจากเชื้อภายหลังการระเหิดโดย การย่อยด้วยเอนไซม์	3. เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการ ผลิตกลูโคสจากเชื้อภายหลังการระเหิด โดยการย่อยด้วยเอนไซม์	3. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการ ผลิตกลูโคสจากเชื้อภายหลังการ ระเหิดโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ ได้จริง
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการ ไฮโดรไลซิสเชื้อด้วยเอนไซม์และการ หมักน้ำตาลกลูโคสด้วยเชื้อยีสต์	4. เพื่อให้ทราบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ ได้ภายหลังการไฮโดรไลซิสเชื้อและ ปริมาณเอทานอลภายหลังการหมัก	4. ได้ข้อมูลปริมาณน้ำตาล กลูโคสที่ได้ภายหลังการ ไฮโดรไลซิสและการหมักเป็น เอทานอลได้จริง
5. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการ ไฮโดรไลซิสเชื้อด้วยเอนไซม์และการ หมักแบบรวมด้วยเชื้อยีสต์	5. เพื่อให้ทราบปริมาณเอทานอลที่ได้ ภายหลังการไฮโดรไลซิสและการหมัก พร้อมกัน	5. ได้ข้อมูลปริมาณเอทานอล จริง

วัตถุประสงค์ (ตามแผน)	เป้าหมาย / ผลที่คาดหวัง (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน (ปฏิบัติได้จริง)
6. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการหมักสารละลายไฮโดรไลสที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส	6. เพื่อให้ทราบปริมาณเอทานอลที่ได้ภายหลังการหมักน้ำตาลไซโลส	6. ได้ข้อมูลปริมาณเอทานอลจริง

1.12 สรุปผลการดำเนินงานตามวัตถุประสงค์

- ☒ บรรลุ.....
- ☐ บรรลุบางส่วน (ร้อยละ.....) เหตุผล.....
- ☐ ไม่บรรลุ เหตุผล.....

1.13 ผลผลิต/ สิ่งที่ได้จากการวิจัย (Outputs) (โปรดระบุรายละเอียด)

- ☒ องค์ความรู้/ข้อมูลพื้นฐาน ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของทลายเปล่าปาล์มน้ำมัน ข้อมูลสถานะที่

เหมาะสมในการระเบิดด้วยไอน้ำและการผลิตเอทานอล

- ☐ สายพันธุ์พืช/สัตว์/จุลินทรีย์.....
- ☐ ผลิตภัณฑ์.....
- ☐ สิ่งประดิษฐ์.....
- ☒ เทคโนโลยี/นวัตกรรม การผลิตเอทานอลจากชีวมวลที่เป็นสารประเภทลิกโนเซลลูโลส
- ☐ ฐานข้อมูล/ซอฟต์แวร์.....
- ☒ คู่มือ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของชีวมวล
- ☐ วิดีทัศน์.....
- ☒ การสร้างนักวิจัย/สนับสนุนนิสิตปริญญาตรี 1 คน ปริญญาโท 1 คน ปริญญาเอก - คน
- ☒ สนับสนุนการศึกษานักศึกษาพิเศษ 1 เรื่อง (ระบุ) การระเบิดด้วยไอน้ำของทลายเปล่าปาล์ม

น้ำมันที่แช่ในสารละลายกรด วิทยานิพนธ์ 1 เรื่อง (ระบุ) การผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลจากการระเบิดด้วยไอน้ำของทลายเปล่าปาล์มน้ำมัน

- ☐ อื่นๆ (ระบุ).....

1.14 ผลลัพธ์/ผลสำเร็จที่ได้/หรือคาดว่าจะได้จากการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ (Outcomes)

(1) เป้าหมายการนำไปใช้ประโยชน์ (ระบุกลุ่มเป้าหมายของงานวิจัยเชิงปริมาณ/คุณภาพ)

- ☒ ด้านการศึกษา/เสริมการเรียนรู้การสอน ใช้ในการสอนวิชา Green Chemistry.....
- ☐ ด้านการเกษตร.....
- ☒ ด้านอุตสาหกรรม การผลิตเอทานอลจากวัสดุชีวมวล
- ☐ ด้านทรัพยากรธรรมชาติ/สิ่งแวดล้อม.....
- ☐ ด้านคุณภาพชีวิต สุขภาพอนามัย.....

- ☐ ด้านเศรษฐกิจ.....
- ☐ ด้านสังคม.....
- ☐ ด้านการทำนุบำรุงศิลป ศาสนา วัฒนธรรม.....
- ☐ ด้านการถ่ายทอดเทคโนโลยี/ฝึกอบรมแก่กลุ่มเป้าหมาย.....
- ☐ เสนอภาครัฐ เพื่อใช้กำหนดแผน/นโยบาย ฯลฯ.....
- ☒ นำความรู้ไปวิจัย/พัฒนาขั้นต่อไป **ข้อมูลที่ได้นำไปใช้ในระดับ Pilot Scale**.....
- ☐ ก่อให้เกิดความร่วมมือระหว่างหน่วยงาน/การสร้างเครือข่าย.....
- ☐ อื่นๆ (ระบุ).....

(2) สรุปผลการนำผลการวิจัยไปเผยแพร่ / ถ่ายทอด **ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ** (ระบุรายละเอียด อยู่ระหว่างดำเนินการส่งตีพิมพ์/ตีพิมพ์แล้วในรูปแบบเอกสารอ้างอิงและแนบสำเนาเป็น **ภาคผนวกของรายงาน**)

- ☒ ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการต่างประเทศ...1...เรื่อง (ระบุ) **Production of Fuel Ethanol from Steam Explosion of Oil Palm Empty Fruit Bunch.**.....
- ☐ ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ.....เรื่อง (ระบุ).....
- ☒ นำเสนอในการประชุม/สัมมนา ต่างประเทศ...1...เรื่อง (ระบุ) **Optimization Studies on Acid Impregnation- Steam Explosion Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch.**.....
- ☐ นำเสนอในการประชุม/สัมมนา ในประเทศ.....เรื่อง (ระบุ).....
- ☐ นำเสนอทางวิทยุ/โทรทัศน์/Website.....เรื่อง/ครั้ง (ระบุ).....
- ☐ นำเสนอทางนิทรรศการ.....เรื่อง/ครั้ง (ระบุ).....
- ☐ บทความ/เอกสารสิ่งพิมพ์/วีดีทัศน์.....เรื่อง/ครั้ง (ระบุ).....
- ☐ ถ่ายทอดฝึกอบรมแก่เกษตรกร/ผู้สนใจ.....เรื่อง/ครั้ง (ระบุ).....
- ☐ ถ่ายทอดสู่ภาคเอกชน/อุตสาหกรรม/ผู้ประกอบการ (ประโยชน์เชิงพาณิชย์).....เรื่อง/ครั้ง (ระบุ).....
- ☐ ภาครัฐนำไปใช้กำหนดแผน/นโยบาย ฯลฯ (ระบุ).....
- ☐ มีผู้นำผลงานวิจัยไปอ้างอิง (ระบุ).....
- ☐ อื่นๆ (ระบุ).....

1.15 การยื่นจด ☐ สิทธิบัตร ☐ อนุสิทธิบัตร ☐ ลิขสิทธิ์
☐ มีศักยภาพที่จะยื่นจด (ระบุ)..... ☐ ยื่นจดแล้ว เมื่อ.....

1.16 ผลกระทบ (Impact) ที่เกิดจากการนำผลการวิจัยไปใช้ (ระบุว่าก่อให้เกิดผลกระทบอย่างไร)

- ☐ ด้านความมั่นคง อาทิ การเมืองการปกครอง กฎหมาย การต่างประเทศ โครงสร้างพื้นฐาน และ บริการโทรคมนาคม ฯลฯ (ระบุ).....

- ☒ ด้านการเศรษฐกิจ อาทิ การพาณิชย์กรรม การเกษตรกรรม การอุตสาหกรรม การท่องเที่ยว
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี พลังงาน ฯลฯ (ระบุ) การผลิตพลังงานชีวภาพคือ เอทานอลจากวัสดุ
โนเซลลูโลส
- ☐ ด้านคุณภาพชีวิตและสังคม ศักยภาพของคนและการศึกษา การแพทย์และสาธารณสุข หลักประกัน
ความมั่นคง สวัสดิการสังคม วัฒนธรรม จริยธรรมและค่านิยม ฯลฯ (ระบุ)
- ☐ ด้านทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม การบริหารจัดการการใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์ การ
ป้องกันการทำลาย ลดการสูญเสีย การฟื้นฟูทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม ฯลฯ
- ☐ อื่นๆ (ระบุ)

1.17 ผลการดำเนินงานวิจัยสอดคล้องกับยุทธศาสตร์ชาติ ในด้าน

- ☐ ยุทธศาสตร์การจัดความยากจน
- ☐ ยุทธศาสตร์การพัฒนาคนและสังคมที่มีคุณภาพ
- ☐ ยุทธศาสตร์การปรับโครงสร้างเศรษฐกิจให้สมดุล และแข่งขันได้
- ☒ ยุทธศาสตร์การบริหารจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
- ☐ ยุทธศาสตร์การต่างประเทศและเศรษฐกิจระหว่างประเทศ
- ☐ ยุทธศาสตร์การพัฒนากฎหมายและส่งเสริมการบริหารกิจการบ้านเมืองที่ดี
- ☐ ยุทธศาสตร์การส่งเสริมประชาธิปไตยและกระบวนการประชาสังคม
- ☐ ยุทธศาสตร์การรักษาความมั่นคงของรัฐ
- ☒ ยุทธศาสตร์การรองรับการเปลี่ยนแปลงและพลวัตโลก
- ☐ อื่นๆ โปรดระบุ

1.18 ปัญหา อุปสรรค ในการดำเนินงานวิจัยและแนวทางแก้ไข ยังไม่มีอุปสรรค

1.19 งานที่จะทำต่อไป/คำชี้แจงเพิ่มเติม

1.20 ได้แนบ “รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ของโครงการ (Project)” ตามหัวข้อ ในส่วนที่ 2
(หน้าถัดไป) มาด้วยแล้ว

ลงชื่อ.....หัวหน้าโครงการ

(.....)

...../...../.....วัน/เดือน/ปี ที่รายงาน

ส่วนที่ 2

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2553

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ค)9.53

(ชื่อโครงการภาษาไทย การผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลจากการระเบิดด้วยไอน้ำของ

ทะลายเปล่าปาล์มน้ำมัน)

(ชื่อโครงการภาษาอังกฤษ Production of Fuel Ethanol from Steam Explosion of Oil

Palm Empty Fruit Bunch)

(ชื่อผู้วิจัยภาษาไทย วิทยา ปันสุวรรณ^(1,3), พรพรรณ สิริมนต์⁽²⁾, พิลานี ไวยถนอมสัจย์⁽²⁾, ภาณุ สัมเกลียง⁽³⁾)
(ชื่อผู้วิจัยภาษาอังกฤษ Vittaya Punsuvon⁽¹⁾, Pornpun Siramon⁽²⁾, Pilanee Vaitanomsat⁽²⁾, Panu Somkhang⁽³⁾)

บทคัดย่อ

การผลิตเอทานอลจากทะลายเปล่าปาล์มน้ำมันโดยการย่อยสลายด้วยเทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำโดยมีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในการทดลองใช้ชิ้นไม้สับทะลายเปล่าปาล์มน้ำมันแช่ในสารละลายกรดซัลฟริกเข้มข้น 0.14 M เป็นเวลาหนึ่งคืน แล้วนำไประเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 180, 191 และ 203 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2, 3 และ 5 นาที เชื้อที่ได้ภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำจะถูกล้างด้วยน้ำร้อนเพื่อให้ได้สารละลายเอมิเซลลูโลสซึ่งอยู่ในรูปของน้ำตาลโมโนเมอร์เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการระเบิดด้วยไอน้ำจะพิจารณาจากปริมาณของน้ำตาลโมโนเมอร์ (น้ำตาลไซโลส) ในสารละลายไฮโดรไลเซต และเปอร์เซ็นต์ผลได้ของเชื้อหลังจากการระเบิดด้วยไอน้ำ ผลการทดลองพบว่า การระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 203 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดเท่ากับ 8.78 เปอร์เซ็นต์ และผลได้ของเชื้อสูงสุดเท่ากับ 54.11 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเชื้อที่ได้จากสภาวะนี้จะถูกนำไปหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยการเปรียบเทียบระหว่างการหมักแบบการแยกไฮโดรไลซิสและการหมัก (SHF) กับการหมักแบบไฮโดรไลซิสและการหมักพร้อมกัน (SSF) ผลการทดลองพบว่า การแยกไฮโดรไลซิสและการหมักให้ค่าผลได้ของเอทานอลสูงสุด 74.43 เปอร์เซ็นต์ และการหมักแบบไฮโดรไลซิสและการหมักพร้อมกันให้ค่าผลได้ของเอทานอลสูงสุด 64.30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารละลายไฮโดรไลซิสที่ได้จะนำไปหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยการเปรียบเทียบระหว่างการแยกไฮโดรไลซิสที่ผ่านการกำจัดสารพิษ กับสารละลายไฮโดรไลซิสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษด้วยถ่านกัมมันต์ ผลการทดลองพบว่า สารละลายไฮโดรไลซิสที่ผ่านการกำจัดสารพิษให้ค่าผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 81.03 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายไฮโดรไลซิสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษให้ค่าผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 20.64 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่า การหมักแบบการแยกไฮโดรไลซิสจะให้

⁽¹⁾(ภาษาไทย) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ภาษาอังกฤษ) Department of Chemistry, Faculty of Science, Kasetsart University

⁽²⁾(ภาษาไทย) สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ภาษาอังกฤษ) Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University

⁽³⁾(ภาษาไทย) ศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านปาล์มน้ำมัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ภาษาอังกฤษ) Center of Excellence-Oil Palm, Kasetsart University

เปอร์เซ็นต์เอทานอลสูงกว่าการหมักแบบการไฮโดรไลซิสและการหมักรวมกัน รวมทั้งการหมักสารละลายไฮโดรไลซิสที่ผ่านการกำจัดสารพิษจะให้เปอร์เซ็นต์เอทานอลสูงกว่าการหมักสารละลายไฮโดรไลซิสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ ดังนั้นผลของการหมักเชื้อและสารละลายไฮโดรไลซิสจะทำให้เปอร์เซ็นต์รวมของเอทานอลเพิ่มขึ้นได้

คำสำคัญ: เอทานอล การระเบิดด้วยไอน้ำ การแช่กรด ทะลายเปล่าปาล์มน้ำมัน

ABSTRACT

Ethanol production from oil palm empty fruit bunch using acid-catalyzed steam explosion technique. Oil palm empty fruit bunch chips which impregnated in 0.14 M H_2SO_4 for one night was steam at temperature varying between 180, 191 and 203 °C for 2, 3 and 5 min. The steamed fiber was washed with hot water to yield a solution rich in hemicelluloses-derived monosaccharide. The optimum conditions of steam pretreatment were assessed by measuring monomer (xylose) solubilization and percentage yield of fiber. The result showed that the condition at 203 °C for 2 min of explosion time gave the maximum 8.78% xylose and 54.11% fiber. The fiber obtained from this optimum condition was also further studied ethanol yield by separate hydrolysis and fermentation (SHF) compared with simultaneous saccharification and fermentation (SSF). The result showed that separate hydrolysis and fermentation (SHF) gave maximum 74.43% ethanol of theoretical yield and simultaneous saccharification and fermentation (SSF) gave maximum 64.30% ethanol of the theoretical yield. In addition fermentation of hydrolysate that obtained from the optimum condition of steam explosion was also studied ethanol yield by detoxified hydrolysate and non-detoxified hydrolysate wear compared for the xylose fermentation into ethanol. It was found that fermentation of detoxified hydrolysate produced 81.03% ethanol of theoretical yield and fermentation of non-detoxified hydrolysate produced 20.64% ethanol of theoretical yield. The result showed that separate hydrolysis and fermentation (SHF) gave higher percent ethanol yield than simultaneous saccharification and fermentation (SSF). In addition fermentation of detoxified hydrolysate gave higher percent ethanol yield than non-detoxified hydrolysate. So, both results from fiber and hydrolysate fermentation can increase the total percentage yield of ethanol.

Keywords: ethanol, steam explosion, acid impregnation, oil palm empty fruit bunch

บทนำ

จากวิกฤติการขาดแคลนน้ำมันเชื้อเพลิง ทำให้รัฐบาลไทยส่งเสริมการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อนำน้ำมันปาล์มไปผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซล โดยตั้งเป้าการขยายพื้นที่การปลูกให้มากขึ้นเป็น 10 ล้านไร่ ซึ่งจะช่วยให้ลดการสูญเสียเงินตราในการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศเป็นจำนวนมหาศาล รวมทั้งเป็นการเพิ่มรายได้ให้เกษตรกรชาวสวนปาล์มและสร้างความมั่นคงให้แก่ประเทศชาติ ซึ่งในขั้นตอนการสกัดน้ำมันปาล์มจะมีเศษเหลือทิ้งคือทะลายเปล่าปาล์มน้ำมันตกค้างอยู่ที่โรงงานสกัดน้ำมันเป็นจำนวนมาก โดยที่ทะลายเปล่าปาล์มน้ำมันเป็นวัสดุกลไกโนเซลลูโลสที่มีองค์ประกอบหลักคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งสามารถนำไปเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้นดีกว่าการเผาทิ้งเป็นเชื้อเพลิงคือ การนำไปผลิตเป็นเชื้อเพลิงเอทานอลที่รัฐบาลไทยให้การสนับสนุนเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงรถยนต์ชนิด E20 และ E85 ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยผลิตเอทานอลจากน้ำอ้อยและแป้งมันสำปะหลังซึ่งเป็นพืชที่ใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์ ดังนั้นการผลิตเอทานอลจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งเป็นวัสดุกลไกโนเซลลูโลส เช่น ทะลายเปล่าปาล์มน้ำมันที่มีจำนวนมากและรวบรวมได้ง่ายจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่บรรดาประเทศต่าง ๆ เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ฯลฯ ให้ความสนใจในการทุ่มงบประมาณการวิจัยอยู่ในขณะนี้

เอทานอล (Ethanol) เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ผสมในน้ำมันเบนซินเพื่อเป็นน้ำมันแก๊สโซฮอล์ จากการค้นเอกสารพบว่า การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสทำได้โดยการแยกเซลลูโลสออกจากลิกนินและเฮมิเซลลูโลส แล้วนำเซลลูโลสไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยกรดหรือเอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส จากนั้นทำการหมักกลูโคสด้วยเชื้อยีสต์แบบแยกขั้นตอนและแบบรวมขั้นตอนเพื่อเปลี่ยนให้เป็นเอทานอลซึ่งขั้นตอนการแยกเซลลูโลสออกจากลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสทำได้โดยการย่อยสลายเบื้องต้น (Pretreatment) ซึ่งจำเป็นที่จะต้องใช้เทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) เข้ามาช่วยเพื่อให้โครงสร้างของเซลลูโลสที่ได้ภายหลังการระเบิดถูกย่อยได้ง่ายโดยเอนไซม์

เทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำเป็นเทคนิคที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพราะใช้ไอน้ำอย่างเดียวหรืออาจมีการปนสารเคมีประเภทกรดลงไปได้ แต่ก็อยู่ในปริมาณที่น้อยมาก การใช้เทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำนี้ได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมทางการเกษตร เช่น การผลิตแผ่นไม้อัด การผลิตเชื้อที่มีแอลฟาเซลลูโลสสูงเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ การผลิตเอทานอล เป็นต้น ในปัจจุบันนี้พบว่า เครื่องระเบิดด้วยไอน้ำสามารถทำงานได้ทั้งในรูปของการทำงานเป็นครั้ง (Batch) และการทำงานอย่างต่อเนื่อง (Continuous) หลักการในการทำงานคือใช้ไอน้ำที่ผลิตจากหม้อน้ำ (Boiler) ที่อุณหภูมิและความดันไอน้ำสูงโดยปกติจะใช้อุณหภูมิในช่วงระหว่าง 180-230 °C ระยะเวลาในการระเบิดไม่เกิน 5 นาที โดยไอน้ำจะไปละลายเอาส่วนของเฮมิเซลลูโลสออกจากส่วนของเซลลูโลสและลิกนินที่ประกอบอยู่ในไม้หรือวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ส่วนของเซลลูโลสและลิกนินที่เหลือภายหลังการระเบิดจะแยกออกจากกันโดยใช้สารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) ซึ่งสามารถย่อยเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ และเมื่อนำน้ำตาลกลูโคสมาผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ก็จะได้อเอทานอลเกิดขึ้น ดังปฏิกิริยา

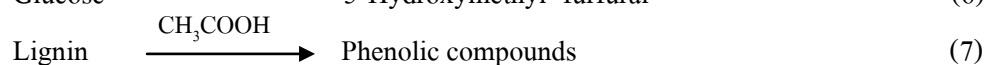
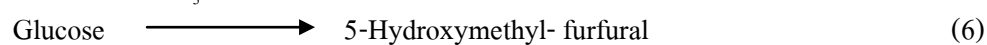


ในการผลิตเอทานอลอย่างเดียวกจากเซลลูโลส ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสจะให้ผลได้ร้อยละของเอทานอลไม่สูงนักแต่ถ้าสามารถผลิตเอทานอลจากไซโลสได้ด้วยก็จะให้ผลได้ร้อยละของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นไป ซึ่งจากเทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำนี้ก็สามารถแยกส่วนต่าง ๆ คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินไปใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตสารที่มีมูลค่าเพิ่มต่างๆ ได้ โดยตัวแปรสำหรับเทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำ คือ อุณหภูมิของไอน้ำและระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิด ซึ่งตัวแปรทั้งสองจะรวมเป็นตัวแปรเดียวเรียกว่า Severity factor (Ro) ดังความสัมพันธ์ของสมการที่ (2)

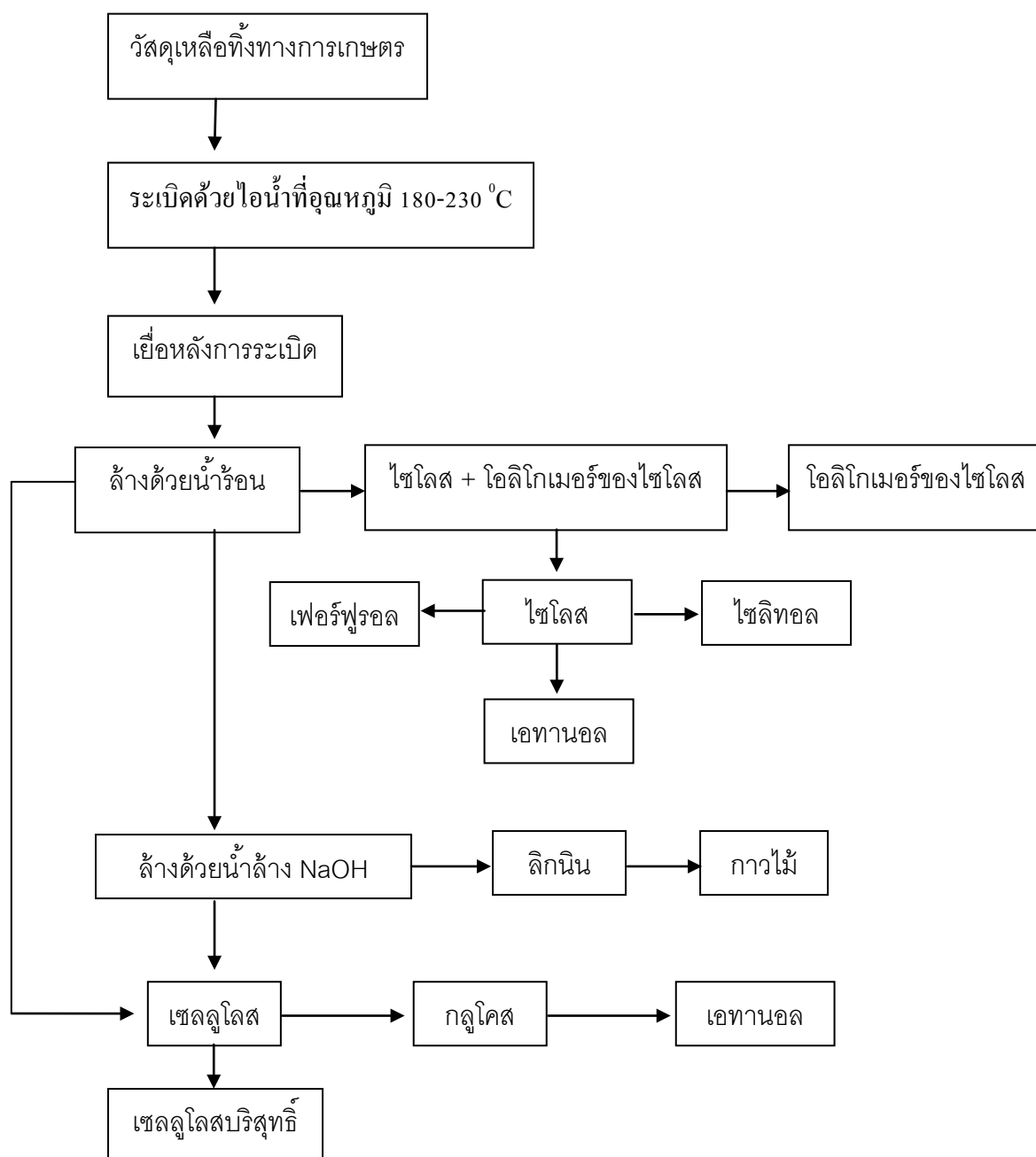
$$Ro = \int_0^t \exp[(T-100)/14.75] dt \quad (2)$$

หรือ	Log Ro =	$\log \{ t \exp [(t-100)/14.75] \}$	
เมื่อ	Ro	คือ	ค่า Severity factor
	T	คือ	อุณหภูมิของไอน้ำ (°C)
	t	คือ	ระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิด (นาท)

กลไกในการทำงานของปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในเครื่องระเบิดด้วยไอน้ำคือ ไอน้ำที่อุณหภูมิสูงจะไปทำให้หมู่อะซิติล (Acetyl group) ของโมเลกุลเฮมิเซลลูโลสชนิดไซแลนกลายเป็นกรดอะซิติล ซึ่งกรดอะซิติลจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโมเลกุลของไซแลนทำให้เกิดเป็นไซโลสและโอลิโกเมอร์ไซโลสเกิดขึ้น นอกจากนี้ถ้าสภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำรุนแรงก็สามารถเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน ทำให้โมเลกุลของไซโลสกลายเป็นเฟอร์ฟูรอลเกิดขึ้นได้ด้วย รวมทั้งการเกิดไฮโดรไลซิสโมเลกุลของเซลลูโลสเป็นกลูโคส และสลายพันธะโมเลกุลของลิกนินให้กลายเป็นสารประกอบฟีนอลิกเกิดขึ้นได้ ดังนั้นในการระเบิดด้วยไอน้ำผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในสารละลายเฮมิเซลลูโลสก็คือ ไซโลส โอลิโกเมอร์ของไซโลส กลูโคส เฟอร์ฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล กรดอะซิติล และสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดจากการสลายตัวของลิกนิน ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นขณะทำการระเบิดด้วยไอน้ำของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส แสดงในปฏิกิริยาที่ (3) ถึงปฏิกิริยาที่ (6)



ดังนั้นจากทฤษฎีที่กล่าวมานี้จึงสามารถนำเทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำมาใช้ประโยชน์ในการ Pretreatment เพื่อผลิตสารเคมีมูลค่าเพิ่มได้ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงแนวทางการใช้ประโยชน์ของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยใช้การ Pretreatment ด้วยไอน้ำ

วิธีวิจัย

1. การเตรียมชิ้นไม้สับละเอียดแผ่นน้ำมัน

การทดลองจะใช้เศษสับละเอียดแผ่นน้ำมันจากบริษัทสุขสมบูรณ์น้ำมันพืชจำกัด จ.ชลบุรี โดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C จนมีความชื้นต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการสับละเอียดแผ่นน้ำมันให้มีขนาดความกว้างและความยาวประมาณ 3 เซนติเมตร และความหนาประมาณ 5 มิลลิเมตร

2. การศึกษาค่าองค์ประกอบทางเคมีของทะลายปล้ำปาล์มน้ำมัน

โดยการบดชิ้นไม้สับด้วยเครื่อง Wiley-mill แล้วนำผงไม้ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมชและ 60 เมช (mesh) โดยจะเก็บผงไม้ที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช และตกค้างอยู่บนตะแกรงขนาด 60 เมช จากนั้นทำการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ คือ

- 2.1 ปริมาณไฮโดรเซลลูโลส โดยวิธีของ Browning in method of wood chemistry (1967)
- 2.2 ปริมาณแอลฟาเซลลูโลส โดยวิธีตามมาตรฐานของ TAPPI T203 om-88
- 2.3 ปริมาณลิกนิน โดยวิธีตามมาตรฐานของ TAPPI T222 om-88
- 2.4 ปริมาณสารแทรกที่ละลายใน Ethanol/Benzene โดยวิธีมาตรฐาน TAPPI T204 om-88
- 2.5 ปริมาณน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ เช่น กลูโคส ไซโลส อะราบิโนส กาแลกโตส และแมนโนส โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
- 2.6 ปริมาณเฟอร์ฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล กรดอะซิติก วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแช่ทะลายปล้ำปาล์มน้ำมันในสารละลายกรด H_2SO_4 ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำ

ในการทดลองจะทำการระเบิดด้วยไอน้ำโดยการแช่ตัวอย่างชิ้นไม้สับของทะลายปล้ำปาล์มน้ำมันหนัก 150 กรัม ในสารละลายกรด H_2SO_4 ความเข้มข้น 0.14 M เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการเซนติฟิวส์เพื่อแยกน้ำออก ก่อนที่จะนำเข้าเครื่องระเบิดด้วยไอน้ำ และนำไประเบิดด้วยเครื่องระเบิดไอน้ำที่สภาวะทดลองดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะที่ใช้ในการทดลองการระเบิดทะลายปล้ำปาล์มน้ำมันด้วยไอน้ำ

การทดลอง	อุณหภูมิของไอน้ำ ($^{\circ}C$)	ระยะเวลาในการระเบิด (นาท)	ความดันของไอน้ำ (kg/cm^2)
1	203 $\pm$ 1	2	15.5
2	203 $\pm$ 1	3	15.5
3	203 $\pm$ 1	5	15.5
4	214 $\pm$ 1	2	21.6
5	214 $\pm$ 1	3	21.6
6	214 $\pm$ 1	5	21.6
7	223 $\pm$ 1	2	23.9
8	223 $\pm$ 1	3	23.9
9	223 $\pm$ 1	5	23.9

เชื้อที่ได้ภายหลังการระเบิดจะนำไปล้างในน้ำร้อนโดยใช้อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการกรองเพื่อแยกเชื้อออก ส่วนสารละลายไฮโดรไลสที่ได้ทำการ

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์และผลิตภัณฑ์ผลพลอยได้ (เฟอร์ฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล และกรดอะซิติก) ด้วยเครื่อง HPLC จากนั้นนำสารละลายไฮโดรไลเสทไปไฮโดรไลซ์ต่อด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ $120\text{ }^{\circ}C$ เป็นเวลานาน 60 นาที เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลโอลิโกเมอร์ของไซโลสที่ประกอบอยู่ในสารละลายไฮโดรไลเสทให้เป็นน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์คือ น้ำตาลไซโลสและกลูโคส หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC อีกครั้งหนึ่งเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณรวมทั้งหมดของน้ำตาลกลูโคสและไซโลสที่ประกอบอยู่ในสารละลายไฮโดรไลเสท นอกจากนี้ส่วนเชื้อที่ได้ภายหลังการระเบิดจะนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่ประกอบอยู่ในเชื้อด้วย

4. การศึกษาการไฮโดรไลซิสเชื้อที่ได้ภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำด้วยเอนไซม์ทางการค้าเพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคส

เชื้อที่ได้ภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะต่างๆจะนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสที่ประกอบอยู่ในเชื้อให้เป็นน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส(Celluclast 1.5 L)และเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (Novozyme 188) ซึ่งมีแอกติวิตีเท่ากับ 15 FPU/g และ 15 IU/g ตามลำดับโดยเติมพร้อมกันในการทดลองจะใช้เชื้อที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของสารละลาย Acetate buffer ที่มีพีเอช 4.8 จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ $50\text{ }^{\circ}C$ โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 สารละลายที่เก็บได้แต่ละช่วงเวลานำไปต้มที่อุณหภูมิ $100\text{ }^{\circ}C$ เป็นเวลา 3 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ในสารละลาย จากนั้นนำเข้าเครื่องเซ็นตริฟิวส์เพื่อแยกตะกอนออกจากสารละลายแล้วนำสารละลายไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่อง HPLC

5. การศึกษาการหมักแบบการแยกไฮโดรไลซิสและการหมัก (SHF)

การหมักเอทานอลจะทำการเปรียบเทียบระหว่างสารละลายน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์กับสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ โดยตัวอย่างทั้งสองจะปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 50 g/l พีเอช 5.5 (0.1 M NaOH และ 0.1 M HCl) เพื่อใช้ในกระบวนการหมัก โดยจะใช้ขวดรูปชมพูนขนาด 125 ml โดยใส่ 50 ml ของสารละลายที่หมัก ซึ่งประกอบด้วยสารละลายน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 50 g/l, ยูเรีย 6.4 g/l, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0 g/l, KH_2PO_4 2.0 g/l, Yeast extract 10.0 g/l แล้วหมัก (Fermentation) โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 g/l อุณหภูมิ $30\text{ }^{\circ}C$ อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 สารละลายที่เก็บได้แต่ละช่วงเวลานำไปต้มที่อุณหภูมิ $100\text{ }^{\circ}C$ เป็นเวลา 3 นาที เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่ในสารละลาย จากนั้นนำสารละลายเข้าเครื่องเซ็นตริฟิวส์เพื่อแยกตะกอนออกจากสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยเครื่อง GC และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC เป็นช่วงๆเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเกิดเอทานอลมากที่สุด

6. การศึกษาการไฮโดรไลซิสและการหมักพร้อมกัน (SSF)

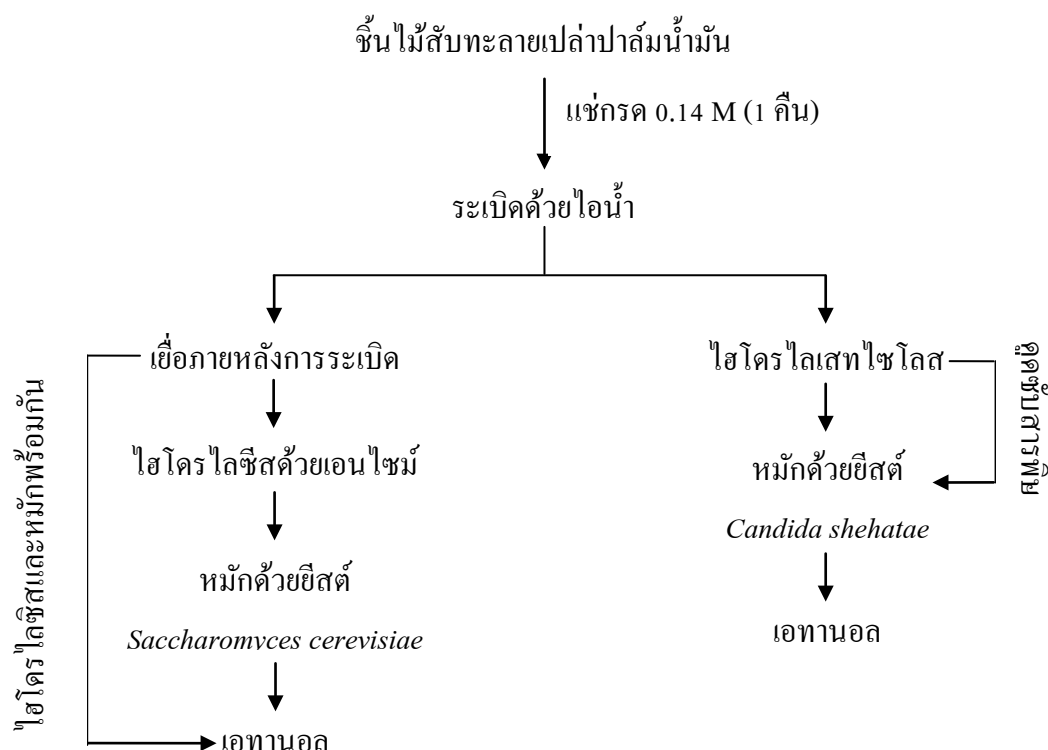
การทดลองโดยใช้เชื้อทะเลสาบปาล์มหนัก 5 กรัม ใส่ขวดรูปชมพูนขนาด 250 ml จากนั้นเติมสารละลาย Acetate buffer พีเอช 5.5 ปริมาตร 80 ml นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำมาเติมเอนไซม์เซลลูเลส(Celluclast 1.5 L)

และเบต้า-กลูโคซิเดส (Novozyme 188) ซึ่งมีแอกติวิตีเท่ากับ 15 FPU/g และ 15 IU/g ตามลำดับ จากนั้นเติมสารอาหารสูตรเดียวกับการหมักแบบข้อ 5 แล้วหมัก (Fermentation) โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 g/l อุณหภูมิ 37 °C อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 สารละลายที่เก็บได้แต่ละช่วงเวลานำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 นาที เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่อยู่ในสารละลาย จากนั้นเซ็นตริฟิวส์เพื่อแยกตะกอนออกจากสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยเครื่อง GC เป็นช่วงๆเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเกิดเอทานอลมากที่สุด

7. การศึกษาการหมักเอทานอลจากน้ำตาลไซโลสในสารละลายไฮโดรไลส

การหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการเปิดด้วยไอน้ำจะเปรียบเทียบระหว่างสารละลายน้ำตาลไซโลสบริสุทธิ์ สารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษโดยใช้ Activated carbon (ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) Villarreal *et al.* (2005) และสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ โดยทั้งสามสภาวะจะปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 40 g/l และพีเอช 5.5 (0.1 M NaOH และ 0.1 M HCl) เพื่อใช้ในกระบวนการหมัก โดยจะใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml โดยใส่ 50 ml ของสารละลายที่หมัก ซึ่งประกอบด้วยสารละลายน้ำตาลไซโลสเข้มข้น 40 g/l, Yeast nitrogen base 1.7 g/l, Urea 2.27 g/l, Peptone 1.2 g/l แล้วหมัก (Fermentation) โดยใช้เชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 2.5 g/l อุณหภูมิ 30 °C อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 สารละลายที่เก็บได้แต่ละช่วงเวลานำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 นาที เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่ในสารละลาย จากนั้นเซ็นตริฟิวส์เพื่อแยกตะกอนออกจากสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยเครื่อง GC และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC เป็นช่วงๆเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเกิดเอทานอลมากที่สุด

สรุปแผนผังการทดลองดังนี้



ผลและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ของทะลายปล่าปล่าม้ำมัน

ทำการเตรียมวัตถุดิบโดยนำชิ้นไม้สับทะลายปล่าปล่าม้ำมันที่ผ่านการบด และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40/60 เมช (mesh) โดยจะเก็บผงไม้ส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช และตกค้างอยู่บนตะแกรงขนาด 60 เมชไปวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณน้ำตาล แสดงผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2 และตารางที่ 3

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของทะลายปล่าปล่าม้ำมัน

องค์ประกอบทางเคมี	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง
ไฮโดรเซลลูโลส	74.24
แอลฟาเซลลูโลส	40.52
เฮมิเซลลูโลส	33.72
ลิกนิน	22.90
สารแทรก (เอทานอล/เบนซิน)	11.87

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของทะลายปล่าปล่าม้ำมันพบว่า มีปริมาณไฮโดรเซลลูโลส และแอลฟาเซลลูโลสซึ่งก็คือเซลลูโลสนั่นเองเป็นองค์ประกอบถึง 74.24 เปอร์เซ็นต์ และ 40.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่มากเพียงพอในการนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงเอทานอล แต่อย่างไรก็ตามยังมีองค์ประกอบที่เป็น เฮมิเซลลูโลสถึง 33.72 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในเฮมิเซลลูโลสนี้มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก โดยน้ำตาลไซโลสนี้จะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเชื้อยีสต์ในกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคสเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอล ฉะนั้นจึงจำเป็นต้องกำจัดองค์ประกอบที่เป็นเฮมิเซลลูโลสที่มีอยู่ในทะลายปล่าปล่าม้ำมันให้เหลือปริมาณน้อยที่สุดโดยใช้เทคนิคการระเบิดทะลายปล่าปล่าม้ำมันด้วยไอน้ำเพื่อให้เฮมิเซลลูโลสทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ ไอน้ำที่ใช้ในกระบวนการระเบิดทะลายปล่าปล่าม้ำมัน ส่วนตารางที่ 3 เป็นตารางแสดงองค์ประกอบของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่ประกอบอยู่ในทะลายปล่าปล่าม้ำมัน

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณน้ำตาลของทะลายปล่าปล่าม้ำมัน

ปริมาณน้ำตาล	เปอร์เซ็นต์
กลูโคส	31.44
ไซโลส	15.62
อะราบิโนส	1.40
กาแลกโตส	1.16
แมนโนส	0.31

2. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแช่ละลายปล่าปล่ามันน้ำมันในสารละลายกรด H_2SO_4 ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำ

2.1 องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณน้ำตาลในเยื่อทะเลลายปล่าปล่ามันน้ำมันภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำ

การทดลองการเตรียมวัตถุดิบโดยการแช่ชิ้นไม้สับทะเลลายปล่าปล่ามันน้ำมันหนัก 150 กรัม ในสารละลายกรด H_2SO_4 ความเข้มข้น 0.14 M เป็นเวลา 1 คืน ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำ หลังจากนั้นนำชิ้นไม้สับทะเลลายปล่าปล่ามันน้ำมันเข้าเครื่องระเบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะต่างๆ จากการระเบิดจะมีส่วนเยื่อทะเลลายปล่าปล่ามันน้ำมันและส่วนของสารละลายไฮโดรไลเซส โดยเยื่อที่ได้รับภายหลังการระเบิดจะถูกนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี โดยผลการวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะต่าง ๆ

การทดลอง	สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำ			องค์ประกอบทางเคมี (%)*			
	อุณหภูมิ ($^{\circ}C$)	เวลา (min)	%เยื่อ	ลิกนิน	โซโล เซลลูโลส	แอลฟา เซลลูโลส	เฮมิ เซลลูโลส
1	203	2	54.11	40.05	56.81	47.23	9.58
2	203	3	53.59	42.21	59.67	45.73	13.94
3	203	5	46.22	42.29	61.04	46.71	14.33
4	214	2	49.16	42.80	57.30	44.54	12.76
5	214	3	48.37	43.96	59.67	45.84	13.83
6	214	5	47.16	46.12	38.85	47.95	10.90
7	223	2	46.98	43.89	54.83	42.33	12.50
8	223	3	43.07	45.40	56.99	43.43	13.56
9	223	5	42.54	48.03	56.83	44.06	12.77

* เทียบกับน้ำหนักเยื่อแห้งภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำ

จากผลการวิเคราะห์พบว่า สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำที่สามารถลดปริมาณเฮมิเซลลูโลสในทะเลลายปล่าปล่ามันน้ำมันคือ สภาวะการระเบิดที่อุณหภูมิ $203^{\circ}C$ เป็นเวลา 2 นาที โดยสามารถลดปริมาณเฮมิเซลลูโลสให้เหลืออยู่ในเยื่อทะเลลายปล่าปล่ามันน้ำมันได้เท่ากับ 9.58 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณลิกนินที่ได้ภายหลังการระเบิดมีค่าไม่แตกต่างจากวัตถุดิบก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำทั้งนี้อาจเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา Recondensation ระหว่างลิกนินในเยื่อกับองค์ประกอบอื่นๆ ในสารละลายที่ได้ภายหลังการระเบิด (Shevchenko *et al.* 2000, Ballesteros *et al.* 2002, Calvalheiro *et al.* 2004) แสดงให้เห็นว่าการระเบิดด้วยไอน้ำไม่สามารถกำจัดลิกนินที่อยู่ในทะเลลายปล่าปล่ามันน้ำมันได้ ส่วนเปอร์เซ็นต์เยื่อและปริมาณแอลฟาเซลลูโลสที่ได้หลังผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำพบว่า สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ $203^{\circ}C$ เป็นเวลา 2 นาที มีเปอร์เซ็นต์เยื่อสูงสุดคือ 54.11 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณแอลฟาเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 47.23 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการระเบิดที่สภาวะต่างๆ ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่ค่อนข้างสูงเหมาะในการนำมาผลิตเชื้อเพลิงเอทานอล

นอกจากองค์ประกอบทางเคมีของทะเลสาบเปล่าปาล์มน้ำมันที่กล่าวมาข้างต้นแล้วยังศึกษาปริมาณน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่สำคัญที่ประกอบอยู่ในเยื่อภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำคือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลส แสดงผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลกลูโคสและไซโลสที่ประกอบอยู่ในภายหลังการระเบิดไอน้ำ

สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำ		% น้ำตาลในเยื่อภายหลังการระเบิด	
อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	เวลา (min)	กลูโคส	ไซโลส
203	2	40.84	0.65
203	3	42.00	0.63
203	5	43.75	0.67
214	2	40.17	0.51
214	3	38.37	0.56
214	5	40.06	0.50
223	2	40.97	0.51
223	3	41.35	0.54
223	5	41.94	0.54

2.2 ปริมาณน้ำตาลในไฮโดรไลสจากทะเลสาบเปล่าปาล์มน้ำมันภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำ

เมื่อนำไฮโดรไลสจากการระเบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะต่าง ๆ มาปรับให้มีปริมาตรเท่ากับ 1 ลิตร แล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่ประกอบอยู่ในสารละลายไฮโดรไลสด้วยเครื่อง HPLC ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณน้ำตาลในไฮโดรไลสที่ได้จากการระเบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์ก่อนไฮโดรไลซิสด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (Prehydrolysis)

การทดลอง	สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำ		องค์ประกอบน้ำตาล (%)*				
	อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	เวลา (min)	กลูโคส	ไซโลส	กาแลคโตส	อะราบิโนส	แมนโนส
1	203	2	1.32	8.78	0.52	1.04	0.54
2	203	3	2.25	8.00	0.64	1.21	0.60
3	203	5	2.60	5.02	0.55	0.84	0.39
4	214	2	0.69	3.40	0.26	0.82	0.00
5	214	3	0.78	2.85	0.30	0.81	0.00
6	214	5	1.00	2.30	0.29	0.72	0.04
7	223	2	1.16	3.02	0.30	0.87	0.06
8	223	3	0.96	2.49	0.34	0.77	0.04
9	223	5	1.03	1.56	0.24	0.54	0.08

* เทียบกับน้ำหนักของวัตถุดิบทะเลสาบเปล่าปาล์มน้ำมันแห้ง

หลังจากนั้นนำสารละลายไฮโดรไลเซสที่ได้ไปทำการไฮโดรไลซ์ต่อด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ $120\text{ }^{\circ}C$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์เป็นน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์แสดงผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณน้ำตาลในไฮโดรไลเซสที่ได้จากการระเบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์หลังไฮโดรไลซิสด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3% (Posthydrolysis)

การทดลอง	สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำ		องค์ประกอบน้ำตาล (%)*				
	อุณหภูมิ ($^{\circ}C$)	เวลา (min)	กลูโคส	ไซโลส	กาแลคโตส	อะราบิโนส	แมนโนส
1	203	2	0.50	3.78	0.48	1.29	0.00
2	203	3	0.80	3.38	0.55	1.02	0.00
3	203	5	0.79	2.06	0.24	0.61	0.00
4	214	2	0.98	3.17	0.68	0.73	0.00
5	214	3	0.96	2.61	0.65	0.66	0.00
6	214	5	0.88	1.67	0.22	0.54	0.00
7	223	2	0.96	2.05	0.65	0.69	0.00
8	223	3	0.84	1.60	0.18	0.44	0.00
9	223	5	0.81	0.97	0.15	0.37	0.00

* เทียบกับน้ำหนักของวัตถุดิบทะลายปล่าปาล์มน้ำมันแห้ง

ตารางที่ 6 และ 7 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลก่อนและหลังการไฮโดรไลซิส (Prehydrolysis and Posthydrolysis) ด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ในไฮโดรไลเซสจากการระเบิดทะลายปล่าปาล์มน้ำมันด้วยไอน้ำจะมีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก รองลงมาคือ น้ำตาลกลูโคส อะราบิโนส กาแลคโตส และน้ำตาลแมนโนส ตามลำดับ โดยพบว่า ปริมาณน้ำตาลไซโลสและกลูโคสที่ทำการวิเคราะห์ก่อนและหลังไฮโดรไลซิสมีค่าไม่แตกต่างกัน เนื่องจากการแช่สารละลายกรดในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อระเบิดด้วยไอน้ำนั้นเพียงพอที่จะไฮโดรไลซ์น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำลำให้แตกตัวเป็นน้ำตาลชนิดโมโนแซคคาไรด์ ดังนั้นในขั้นตอนการทำ Posthydrolysis ในน้ำลำที่ได้จากการระเบิดด้วยไอน้ำจึงไม่มีความจำเป็น

จากผลการทดลองดังกล่าวทำให้ทราบว่า การแช่กรด H_2SO_4 ความเข้มข้น 0.14 M เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำมีผลต่อการไฮโดรไลซิสขณะทำการระเบิดด้วยไอน้ำ โดยสามารถลดปริมาณเฮมิเซลลูโลสในเชื้อทะลายปล่าปาล์มน้ำมันได้ดี และที่สภาวะความรุนแรงในการระเบิดสูงส่งผลทำให้น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลกลูโคสเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันกลายเป็นเฟอร์ฟูรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงปริมาณของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอลในไฮโดรไลสภายหลังจาก
ระเบิดด้วยไอน้ำ

สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำ		เปอร์เซ็นต์ *	
อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	เวลา (min)	เฟอร์ฟูรอล	5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล
203	2	0.08	0.92
203	3	0.16	1.70
203	5	0.27	2.55
214	2	0.19	1.93
214	3	0.21	1.96
214	5	0.38	3.03
223	2	0.34	2.86
223	3	0.30	2.20
223	5	0.54	3.06

*เทียบกับน้ำหนักของวัตถุดิบทะลายเปล่าปาล์มน้ำมันแห้ง

ผลการวิเคราะห์จากตารางที่ 8 พบว่า เมื่อสภาวะในการระเบิดใช้อุณหภูมิและเวลามากขึ้นส่งผลทำให้เฟอร์ฟูรอลที่ประกอบอยู่ในไฮโดรไลสเพิ่มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ส่วนปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอลมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นมาก เนื่องจากเมื่อสภาวะที่อุณหภูมิและเวลามากขึ้นส่งผลให้น้ำตาลกลูโคสที่อยู่ในเยื่อเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชันกลายเป็น 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล โดยจะละลายออกมาพร้อมกับไอน้ำที่ใช้ในกระบวนการระเบิด ทำให้ในไฮโดรไลสที่มีปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอลเพิ่มขึ้นตามลำดับ ซึ่งปริมาณเฟอร์ฟูรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล ที่เกิดขึ้นเหล่านี้มีผลต่อการทำงานของเชื้อยีสต์ในกระบวนการหมัก (Mussatto *et al.* 2005) ดังนั้นก่อนทำการหมักจะต้องกำจัดผลพลอยได้เหล่านี้ออกไปโดยอาศัยวิธีการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ (Activated charbon)

3. ผลการศึกษาการไฮโดรไลซิสเยื่อที่ได้ภายหลังจากการระเบิดด้วยไอน้ำด้วยเอนไซม์ทางการค้าเพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคส

เยื่อทะลายเปล่าปาล์มน้ำมันที่ได้ภายหลังจากการระเบิดด้วยไอน้ำของทุก ๆ สภาวะจะถูกนำมาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Celluclast 1.5 L) และเบต้า-กลูโคซิเดส (Novozyme 188) ซึ่งมีแอกติวิตีเท่ากับ 15 FPU/g และ 15 IU/g ตามลำดับ เพื่อให้เอนไซม์ทำการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่อง HPLC ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตจากเชื้อภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำโดยการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลกลูโคสที่สภาวะต่างๆของการระเบิดด้วยไอน้ำ (%)*								
	203 °C	203 °C	203 °C	214 °C	214 °C	214 °C	223 °C	223 °C	223 °C
	2 min	3 min	5 min	2 min	3 min	5 min	2 min	3 min	5 min
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	16.87	16.42	14.56	17.03	12.24	8.40	13.79	9.75	9.31
24	19.09	20.47	19.08	18.19	14.70	13.57	19.14	19.25	10.86
36	22.62	22.73	21.18	24.08	22.62	20.84	20.24	19.55	16.64
48	24.78	24.82	26.81	26.46	22.68	21.86	22.48	20.59	18.12
60	26.35	29.02	28.58	28.25	25.20	23.18	22.65	21.55	19.51
72	30.99	29.78	29.21	30.37	26.05	26.82	29.25	21.55	20.83

* เทียบกับน้ำหนักเชื้อแห้งภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำ

ผลการทดลองผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์ โดยทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตขึ้นที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า เมื่อระยะเวลาในการไฮโดรไลซิสเชื้อทะเลยาเปล่าปาล์มน้ำมันเพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลิตน้ำตาลกลูโคสมากขึ้นตามลำดับ โดยพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ การไฮโดรไลซิสเชื้อด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 203 °C เป็นเวลา 2 นาที โดยสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุดถึง 30.99 %

4. ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสจากเชื้อที่ได้ภายหลังการระเบิดไอน้ำด้วยเอนไซม์

ทะเลยาเปล่าปาล์มน้ำมันที่ได้ภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำจะถูกนำมาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Celluclast 1.5 L) และเบต้า-กลูโคซิเดส (Novozyme 188) ซึ่งมีแอกติวิตีเท่ากับ 15 FPU/g และ 15 IU/g ตามลำดับ เพื่อให้เอนไซม์ทำการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ผลการทดลองแสดงเปอร์เซ็นต์เอนไซม์ไฮโดรไลซิสดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์เอนไซม์ไฮโดรไลซิสที่ได้จากการย่อยเชื้อทะเลสาบปล้ำปล้ำน้ำมันด้วยเอนไซม์

เอนไซม์ไฮโดรไลซิส (%)									
สถานะต่างๆของการระเบิดด้วยไอน้ำ									
เวลา (ชั่วโมง)	203 °C 2 min	203 °C 3 min	203 °C 5 min	214 °C 2 min	214 °C 3 min	214 °C 5 min	223 °C 2 min	223 °C 3 min	223 °C 5 min
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	41.31	39.10	33.28	42.39	31.90	20.97	33.66	23.58	22.20
24	46.74	48.74	43.61	45.28	38.31	33.87	46.72	46.55	25.89
36	55.39	54.12	48.41	59.95	58.95	52.02	49.40	47.28	39.68
48	60.68	59.10	61.28	65.87	59.11	54.57	54.87	49.79	43.20
60	64.52	69.10	65.33	70.33	65.68	57.86	55.28	52.12	46.52
72	75.88	70.90	66.77	75.60	67.89	66.95	71.39	52.12	49.67

ผลการทดลองผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์ โดยทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์เอนไซม์ไฮโดรไลซิส ดังตารางที่ 9 พบว่า เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้นสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์เอนไซม์ไฮโดรไลซิสของเชื้อทะเลสาบปล้ำปล้ำน้ำมันที่ผ่านการแช่ด้วยกรดและทำการระเบิดด้วยไอน้ำได้ โดยเชื้อที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำที่มีเปอร์เซ็นต์เอนไซม์ไฮโดรไลซิสสูงสุดคือ ที่เวลา 72 ชั่วโมง ของสถานะในการระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 203 °C เป็นเวลา 2 นาที โดยให้เปอร์เซ็นต์เอนไซม์ไฮโดรไลซิสเท่ากับ 75.88 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารละลายน้ำตาลที่ผ่านการย่อยเชื้อดังกล่าวจะนำไปหมักด้วยเชื้อยีสต์เพื่อผลิตเป็นเอทานอลในขั้นตอนต่อไป

5. ผลการผลิตเอทานอลโดยการหมักด้วยเชื้อยีสต์ (SHF)

การหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์กับสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์จะปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 50 g/l แล้วทำการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 ที่ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น 5 g/l พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 30 °C อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 ผลการทดลองแสดงปริมาณเอทานอลและน้ำตาลกลูโคสที่เหลือดังตารางที่ 10 และ 11

ตารางที่ 10 ผลการทดลองการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก

เวลา (ชั่วโมง)	กลูโคสที่เหลืออยู่ (g/l)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/l)	ผลได้เอทานอล (g/g)	*ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับ กับค่าทางทฤษฎี (%)
0	50.00	0.00	0.00	0.00
12	27.21	12.50	0.25	49.02
24	10.93	17.96	0.36	70.43
36	0.38	22.45	0.45	88.04
48	0.02	23.53	0.47	92.27
60	0.00	23.13	0.46	90.71
72	0.00	23.05	0.46	90.39

*ผลได้เอทานอลทางทฤษฎีมีค่าเท่ากับ 0.51 g Ethanol/g Glucose

ตารางที่ 11 ผลการทดลองการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ที่
ระยะเวลาต่างๆ ของการหมัก

เวลา (ชั่วโมง)	กลูโคสที่เหลืออยู่ (g/l)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/l)	ผลได้เอทานอล (g/g)	*ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับ กับค่าทางทฤษฎี (%)
0	50	0.00	0.00	0.00
12	32.54	5.47	0.11	21.45
24	15.69	10.56	0.21	41.41
36	6.17	16.63	0.33	65.22
48	1.03	18.87	0.38	74.00
60	0.02	18.98	0.38	74.43
72	0.00	18.54	0.37	72.71

*ผลได้เอทานอลทางทฤษฎีมีค่าเท่ากับ 0.51 g Ethanol/g Glucose

ผลจากการนำน้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์และน้ำตาลกลูโคสจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 50 g/l ไปหมักแบบแยกโดยทำการเก็บข้อมูลดังตารางที่ 10 และ 11 ตัวอย่างที่เก็บได้ในแต่ละช่วงเวลาจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นและปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลืออยู่ ปรากฏว่าการหมักโดยใช้น้ำตาลกลูโคสบริสุทธิ์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดคือ 23.53 g/l หรือคิดเป็นผลได้เอทานอลทางทฤษฎีเท่ากับ 92.27% ส่วนการหมักน้ำตาลกลูโคสจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 60 ชั่วโมง สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดคือ 18.98 g/l หรือคิดเป็นผลได้เอทานอลทางทฤษฎีเท่ากับ 74.43 เปอร์เซ็นต์

6. การศึกษาการหมักแบบไฮโดรไลซิสและการหมักพร้อมกัน (SSF)

การทดลองโดยใช้เชื้อทะเลลายเปล่าปาล์มน้ำมันที่ได้จากสภาวะการระเบิดที่อุณหภูมิ 203 °C เป็นเวลา 2 นาทีหนัก 5 กรัม จากนั้นเติมสารละลาย Acetate buffer พีเอช 5.5 ตามด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Celluclast 1.5 L) และเบต้า-กลูโคซิเดส (Novozyme 188) ซึ่งมีแอกติวิตีเท่ากับ 15 FPU/g และ 15 IU/g ตามลำดับ และทำการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 g/l อุณหภูมิ 37 °C อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการทดลองการผลิตเอทานอลโดยการไฮโดรไลซิสและหมักพร้อมกัน(SSF) ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/l)	ผลได้เอทานอล (g/g)	ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับ ค่าทางทฤษฎี (%)
0	0.00	0.00	0.00
12	4.73	0.23	45.39
24	5.52	0.27	52.98
36	6.57	0.32	63.05
48	6.60	0.32	63.34
60	6.67	0.33	64.01
72	6.70	0.33	64.30

ผลจากการนำไปไฮโดรไลซิสและหมักพร้อมกันโดยทำการเก็บข้อมูลดังตารางที่ 12 ตัวอย่างที่เก็บได้ในแต่ละช่วงเวลานำไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นปรากฏว่าที่ช่วงเวลา 0-72 ชั่วโมง มีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยที่เวลาหลังจาก 60 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์เอทานอลเริ่มคงที่ โดยช่วงเวลาที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสหมักพร้อมกันที่จะให้เปอร์เซ็นต์เอทานอลสูงสุดคือ ที่ช่วงเวลา 60 ชั่วโมงโดยให้เปอร์เซ็นต์ผลได้เอทานอลทางทฤษฎีเท่ากับ 64.01 เปอร์เซ็นต์

จากผลการหมักเอทานอลแบบ Separate hydrolysis and fermentation (SHF) และหมักแบบ Simultaneous Saccharification and fermentation (SSF) สามารถเปรียบเทียบได้ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 แสดงการเปรียบเทียบผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับค่าทางทฤษฎี (%) ของการหมัก
แบบ SHF และ SSF ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับค่าทางทฤษฎี (%)	
	SHF	SSF
0	0.00	0.00
12	21.45	45.39
24	41.41	52.98
36	65.22	63.05
48	74.00	63.34
60	74.43	64.01
72	72.71	64.30

จากการเปรียบเทียบการหมักแบบ SHF และ SSF พบว่าการหมักแบบ SHF ให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 74.43% ที่เวลา 60 ชั่วโมง ส่วนการหมักแบบ SSF ให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 64.30% ที่เวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งจะเห็นได้ว่าระยะเวลาที่ใช้ในการหมักแบบ SHF จะต่ำกว่าแบบ SSF และการหมักแบบ SHF จะให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้เอทานอลสูงกว่าการหมักแบบ SSF เนื่องจากการหมักแบบ SSF จะเป็นการหมักร่วมกันระหว่างเอนไซม์กับจุลินทรีย์ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์จะอยู่ในช่วง 40-50 °C ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 30-37 °C ซึ่งในขั้นตอนการหมักไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการหมักได้ ดังนั้นจึงส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ผลได้เอทานอลต่ำกว่าการหมักแบบ SHF

7. การศึกษาการหมักเอทานอลจากน้ำตาลไซโลสในสารละลายไฮโดรไลส

การหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการเปิดด้วยไอน้ำจะเปรียบเทียบระหว่างสารละลายน้ำตาลไซโลสบริสุทธิ์ สารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษโดยใช้ Activated carbon และสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ โดยปรับความเข้มข้นสารละลายน้ำตาลไซโลสให้เท่ากับ 40 g/l และพีเอช 5.5 (0.1 M NaOH และ 0.1 M HCl) เพื่อใช้ในกระบวนการหมัก โดยจะใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml โดยใส่ 50 ml ของสารละลายที่หมัก ซึ่งประกอบด้วยสารละลายน้ำตาลไซโลสเข้มข้น 40 g/l, Yeast nitrogen base 1.7 g/l, Urea 2.27 g/l, Peptone 1.2 g/l แล้วหมัก (Fermentation) โดยใช้เชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 2.5 g/l อุณหภูมิ 30 °C อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นดังตารางที่ 13, 14 และ 15

ตารางที่ 13 ผลการทดลองการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลไซโลสบริสุทธิ์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลสที่เหลืออยู่ (g/l)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/l)	ผลได้เอทานอล (g/g)	ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับ กับค่าทางทฤษฎี (%)
0	40.00	0.00	0.00	0.00
12	26.50	2.9	0.07	14.22
24	5.75	7.83	0.20	38.38
36	0.09	13.58	0.34	66.57
48	0.00	16.97	0.42	83.19
60	0.00	15.23	0.38	74.66
72	0.00	15.12	0.38	74.12

ตารางที่ 14 ผลการทดลองการผลิตเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษโดยใช้
Activated carbon ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลสที่เหลืออยู่ (g/l)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/l)	ผลได้เอทานอล (g/g)	ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับ กับค่าทางทฤษฎี (%)
0	40.00	0.00	0.00	0.00
12	34.52	0.83	0.02	4.07
24	31.77	6.67	0.17	32.70
36	12.47	13.98	0.35	68.53
48	1.27	16.53	0.41	81.03
60	0.47	15.23	0.38	74.66
72	0.00	14.78	0.37	72.45

ตารางที่ 15 ผลการทดลองการผลิตเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษโดยใช้
Activated carbon ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลสที่เหลืออยู่ (g/l)	ความเข้มข้นของ เอทานอล (g/l)	ผลได้เอทานอล (g/g)	ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับ กับค่าทางทฤษฎี (%)
0	40.00	0.00	0.00	0.00
12	33.95	0.98	0.02	4.80
24	31.66	1.25	0.03	6.13
36	28.76	2.65	0.07	12.99
48	25.44	3.79	0.09	18.58
60	22.30	4.42	0.11	21.67
72	19.86	4.21	0.10	20.64

จากผลการหมักเอทานอลโดยใช้สารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษด้วย Activated carbon และสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ สามารถเปรียบเทียบได้ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงการเปรียบเทียบผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับค่าทางทฤษฎี (%) ของการหมักสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษและไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ผลได้เอทานอลเปรียบเทียบกับค่าทางทฤษฎี (%)	
	กำจัดสารพิษ	ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ
0	0.00	0.00
12	4.07	4.80
24	32.70	6.13
36	68.53	12.99
48	81.03	18.58
60	74.66	21.67
72	72.45	20.64

จากการเปรียบเทียบการหมักสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษและไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ พบว่าการหมักสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 81.03% ที่เวลา 48 ชั่วโมง ส่วนการหมักสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 20.64% ที่เวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งจะเห็นได้ว่าระยะเวลาที่ใช้ในการหมักสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ผ่านการกำจัดสารพิษจะต่ำกว่าการหมักสารละลายไซโลสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ และการหมักสารละลายไซโลสที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้เอทานอลสูงกว่าที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ เนื่องจากในสารละลายที่ทำการหมักมีการปนเปื้อนของสารพิษที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida shehatae* ที่ใช้ในการหมักน้ำตาลไซโลสให้เป็นเอทานอล โดยสารพิษเหล่านี้คือ เฟอร์ฟูรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล Cao *et al.* (2010) ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบปริมาณสารพิษในสารละลายน้ำตาลไซโลสระหว่างที่ผ่านการดูดซับด้วย Activated carbon และไม่ผ่านการดูดซับด้วย Activated carbon

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (%)	
	เฟอร์ฟูรอล	5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล
ผ่านการดูดซับด้วย Activated carbon	3.19	0.30
ไม่ผ่านการดูดซับด้วย Activated carbon	346.18	10.49

จากผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปผลได้เป็นข้อๆได้ดังต่อไปนี้คือ

1. องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบทะลายปล่าปาล์มน้ำมันประกอบด้วยแอลฟาเซลลูโลส 40.52% เฮมิเซลลูโลส 33.72 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน 22.90 เปอร์เซ็นต์ และสารแทรกที่ละลายในเอทานอล/เบนซิน 11.87 เปอร์เซ็นต์ โดยอ้างอิงกับน้ำหนักแห้งของไม้

2. ปริมาณแอลฟาเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสถือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการผลิตเอทานอล และเมื่อทำการเตรียมวัตถุดิบทะลายปล่าปาล์มน้ำมันโดยการแช่กรด H_2SO_4 ความเข้มข้น 0.14 M เป็นเวลา 1 คืน แล้วใช้เทคนิคการระเบิดขึ้นไม้สับทะลายปล่าปาล์มน้ำมันด้วยไอน้ำจะทำให้องค์ประกอบของแอลฟาเซลลูโลสสูงขึ้นและเฮมิเซลลูโลสลดลง โดยพบว่า ที่สภาวะในการระเบิดที่รุนแรงสามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้ดีแต่จะเป็นการลดปริมาณผลได้ของเยื่อภายหลังการระเบิดด้วย และจากผลการวิเคราะห์ข้างต้นจะพบว่า ที่สภาวะการระเบิดที่อุณหภูมิไอน้ำ 203 °C เป็นเวลา 2 นาที ให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเยื่อและปริมาณแอลฟาเซลลูโลสสูงที่สุด คือเท่ากับ 54.11 เปอร์เซ็นต์ และ 47.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3. ผลจากการไฮโดรไลซิสเยื่อภายหลังการระเบิดด้วยเอนไซม์พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ การไฮโดรไลซิสเยื่อด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 203 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที โดยสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุดเท่ากับ 30.99 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเท่ากับ 75.88 เปอร์เซ็นต์

4. การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้จากการหมักแบบ Separate hydrolysis and fermentation (SHF) ที่ระยะเวลา 60 ชั่วโมง ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 74.43 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการหมักแบบ Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 64.30 เปอร์เซ็นต์

5. การหมักน้ำตาลไซโลสในสารละลายไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อ *Candida shehatae* TISTR 5843 ระหว่างสารละลายไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดสารพิษด้วยถ่านกัมมันต์และไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ พบว่าการหมักสารละลายไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดสารพิษที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 81.03% โดยที่สารละลายไฮโดรไลเสทมีสารพิษเฟอร์ฟูรอลประกอบอยู่ 3.19% และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอลประกอบอยู่ 0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการหมักสารละลายไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 20.64% โดยที่สารละลายไฮโดรไลเสทมีสารพิษเฟอร์ฟูรอลประกอบอยู่ 346.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอลประกอบอยู่ 10.49 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดังนั้นจากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการแช่ขึ้นไม้สับในสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 0.14 M เป็นเวลา 1 คืน แล้วตามด้วยการระเบิดไอน้ำสามารถผลิตเอทานอลได้ทั้งส่วนที่เป็นเยื่อและส่วนที่เป็นสารละลายไฮโดรไลเสท ซึ่งสารละลายไฮโดรไลเสทที่ได้จะต้องมีการกำจัดสารพิษออกก่อน (เฟอร์ฟูรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล) ที่จะนำไปหมักเพื่อผลิตเป็นเอทานอล จะทำให้ปริมาณเอทานอลมีค่าสูงขึ้นจากการผลิตเอทานอลด้วยเยื่อภายหลังการระเบิดด้วยไอน้ำเพียงอย่างเดียว

เอกสารอ้างอิง

- Ballesteros. I., J.M. Oliva., M.J. Negro., P. Manzanares and M. Ballesteros. (2002). Ethanol production from olive oil extraction residue pretreated with hot water. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 98-100:717-732.
- Calvalheiro. F., M.P. Esteves., J.C. Parajo., H. Pereira and F.M. Girio. (2004). Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. **Bioresource Technology**. 91:93-100.
- Cao, G.L., N.Q. Ren, A.J. Wang, W.Q. Guo, J.F. Xu and B.F. Liu. 2010. Effect of lignocellulose-derived inhibitors on growth and hydrogen production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. **Int. Jour. of Hydrogen Energy**. 9: 127-134.
- Mussatto, S.I., G. Dragone and I.C. Roberto. 2005. Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. **Process Biochem**. 40: 3801-3806.
- Shevchenko, S.M., K. Chang., J. Robinson and J.N. Saddler. (2000). Optimization of monosaccharide recovery by post-hydrolysis of the water-soluble hemicellulose component after steam explosion of softwood chips. **Bioresource Technology**. 72:207-211.
- Villarreal, M.L.M., A.M.R. Prata, M.G.A. Felipe, J.B. Almeida and E. Silva. 2005. Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. **Enz. and Microb. Technol**. 40: 17-24.