

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตไบโอเอทานอลจากต้นปาล์มน้ำมัน

Bioethanol Production from Palm Oil Trunk

ดร. บัญญัติ เฉิดฉิม

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2556 รหัสโครงการ SIT560356S

สารบัญ

เนื้อหา	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
บทคัดย่อ	2
Abstract	2
1. บทนำ	3
2. วัตถุประสงค์	4
3. การตรวจเอกสาร	4
3.1 ไม้ปาล์มน้ำมัน	4
3.2 การปรับสภาพไม้	12
3.3 การเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์	13
3.4 กระบวนการหมักน้ำตาลเพื่อให้ได้ผลผลิตเอทานอล	14
3.5 ศักยภาพของปาล์มน้ำมันในอุตสาหกรรม	15
4. วิธีการทดลอง	17
4.1 สมบัติพื้นฐานของไม้ปาล์มน้ำมัน	17
4.2 ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน	17
4.3 การหาค่าประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมัน	19
4.4 การผลิตน้ำตาลกลูโคสจากไม้ปาล์มน้ำมัน	22
4.5 การหมักน้ำตาลเพื่อให้ได้ผลผลิตเอทานอล	24
5. ผลการทดลองและวิจารณ์	25
5.1 สมบัติพื้นฐานของไม้ปาล์มน้ำมัน	25
5.2 ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน	26
5.3 การหาค่าประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมัน	29
5.4 การผลิตน้ำตาลกลูโคสจากไม้ปาล์มน้ำมัน	33
5.5 การหมักน้ำตาลเพื่อให้ได้ผลผลิตเอทานอล	36

6. สรุปผลการทดลอง	40
7. เอกสารอ้างอิง	41
8. ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป	44

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยเรื่อง การผลิตไบโอเอทานอลจากต้นปาล์มน้ำมัน ได้รับการอุดหนุนทุนวิจัยจากเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประเภททุนครูณาจารย์ ประจำปีงบประมาณ 2556 สัญญาเลขที่ SIT560356S ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ เขียรศิลป์ อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อาจารย์พี่เลี้ยงที่ได้ให้คำแนะนำเพื่อวางแผนการทดลอง ดำเนินการวิจัย และเทคนิคในการวิจัยตลอดระยะเวลาสองปีของการทำวิจัย ขอขอบคุณนายสมรักษ์ ทองเงิน นางสาวจริยา สหานस्थ्य นางสาวจิรัญญา พิศาลสัมพันธ์ และนางสาวธวัลรัตน์ คงมี นักศึกษาสาขาวิชาอ้อยอุตสาหกรรมไม้ยางพาราและผลิตภัณฑ์ ที่ช่วยเหลือในการเตรียมตัวอย่างบางส่วนในการทำวิจัย ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง รวมทั้งหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไม้ ที่ให้ใช้สถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ ต่างๆ ในการทำวิจัย ขอขอบคุณอาจารย์ประจำสาขาเทคโนโลยีไม้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่ให้ความร่วมมือและสนับสนุนการทำวิจัยตลอดระยะเวลาโครงการ

บัญญัติ เฉิดฉิม

24 สิงหาคม 2558

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโครงสร้างทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน องค์ประกอบหลักทางเคมี ศึกษาวิธีการทำ chemical pretreatment โดยกรดฟอสฟอริกร่วมกับ physico-pretreatment โดยใช้ไมโครเวฟ เปรียบเทียบกับ biological pretreatment ด้วยเชื้อราฝู กระบวนการ enzymatic hydrolysis โดยใช้เอนไซม์ cellulase ในสภาวะที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อการ hydrolyze เซลลูโลสเป็นกลูโคส และผลิตไบโอเอทานอลจากต้นปาล์มน้ำมันโดยการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 37°C เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน สารละลายจากการหมักถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC และรายงานค่าเป็นร้อยละ (v/v) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความยาวลำต้นเฉลี่ยของไม้ปาล์มน้ำมันมีค่า 15-18 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 50.20 เซนติเมตร มีปริมาณโฮโลเซลลูโลสร้อยละ 77.77 ลิกนิน 20.93 และสารแทรก 20.88 สัดส่วนปริมาตรของเส้นใย (V_f) มีการกระจายตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงแบบลดหลั่นจากบริเวณใกล้เปลือกจนถึงใจกลางลำต้น การหมักไม้ปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยราฝูสีน้ำตาล *Gloeophyllum striatum* เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ก่อนนำมาหมัก ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดประมาณ 5% รองลงมาคือไม้ปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยราฝูขาว *Trametes versicolor* ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดประมาณ 4% ส่วนการหมักน้ำเลี้ยงหรือไม้ปาล์มน้ำมัน ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดประมาณ 2-3.5% ผลผลิตเอทานอลจากการหมักไม้ปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเชื้อราฝูแล้วปรับสภาพโดยใช้กรดฟอสฟอริกร่วมกับไมโครเวฟ มีผลทำให้ปริมาณเอทานอลทั้งหมดลดลงอยู่ในช่วง 0.2-0.5%

Abstract

This research aims to study the anatomical structure of palm oil wood, the chemical content, phosphoric acid-microwave pretreatment comparing to biological pretreatment by wood decay fungi, the cellulose hydrolysis by cellulase enzymes in a suitable condition to hydrolyze cellulose and efficiently as glucose, and production of bio-ethanol from palm oil wood by *Saccharomyces cerevisiae* fermentation at 37°C 150 rpm shaking for four days of incubation. Then fermentation solution was then analyzed by gas chromatography and reported as percent (v / v). The results showed that long trunk average of palm oil was 15-18 meters and diameter is 50.20. The Holocellulose, lignin and extractive content was 77.77%, 20.93%, and 20.88%, respectively. The volume fraction of fiber (V_f) was decreased from bark to center of trunk. The fermentation of palm oil wood prior pretreated for three weeks with brown rot fungus *Gloeophyllum striatum* obtained maximum ethanol content about 5%, followed with palm oil wood pretreated with white rot *Trametes versicolor* (about 4%). The other fermentable sap and palm oil wood obtained ethanol content about 2-3.5%. Ethanol production from palm oil wood pretreated with decay fungi prior to phosphoric acid and microwave irradiation obtained decreasing ethanol content about 0.2-0.5%.

1. บทนำ

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq., Palm, Arecaceae) เป็นพืชลำต้นเดี่ยว มีลำต้นกลมตรง สูง 15-18 เมตร สามารถให้ผลได้ทั้งปี มีอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 20-25 ปี จากนั้นจึงทำการกำจัดต้นออกจากสวนแล้วทำการปลูกทดแทนขึ้นมาใหม่ โดยปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการปลูกมากในแถบเอเชีย เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมเอื้อต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิต ซึ่งประเทศไทยมีพื้นที่การเพาะปลูกติดอันดับ 1 ใน 3 ของเอเชีย โดยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในปี พ.ศ. 2558 ที่สามารถให้ผลผลิตได้แล้ว 17 ล้านไร่ (ตารางที่ 1) จึงทำให้มีเศษเหลือหลังการเก็บเกี่ยวจากสวนปริมาณมาก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) ตารางที่ 1 เนื้อที่ให้ผลผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2554 ถึง พ.ศ. 2558

ตารางที่ 1 เนื้อที่ให้ผลผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ. 2554-2558

เนื้อที่ให้ผลผลิตปาล์มน้ำมันรวมทั้งประเทศ (ไร่)				
ปี 2554	ปี 2555	ปี 2556	ปี 2557	ปี 2558
3,547,163	3,682,623	3,767,336	4,184,168	4,400,589

ที่มา: ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร

ปาล์มน้ำมันที่มีอายุมากกว่า 25 ปี ถือว่าแก่มากที่จะให้ผลผลิตน้ำมันปาล์มและไม่คุ้มทุนในเชิงพานิชย์ ชาวสวนจึงนิยมตัดโค่นต้นปาล์มดังกล่าวแล้วปลูกทดแทน จากการตัดโค่นไม้ปาล์มทำให้เกิดผลผลิตชีวมวลในจำนวนมหาศาล การกำจัดชีวมวลจากสวนปาล์มที่ชาวสวนนิยมทำกันในปัจจุบันคือการเผาทิ้ง ผึ่งกลบ ใช้สารเคมีให้ยีนต้นตาย หรือปล่อยให้ย่อยสลายเองในธรรมชาติ ซึ่งไม่ก่อให้เกิดประโยชน์ใดๆ ในเชิงพานิชย์หรือสิ่งแวดล้อม แนวทางในการบริหารจัดการที่เป็นไปได้ในการนำชีวมวลจากปาล์มน้ำมันมาใช้ประโยชน์เพื่อให้เกิดมูลค่าสูงสุด และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม แนวทางหนึ่งที่น่าสนใจคือการนำต้นปาล์มน้ำมันมาผลิตเป็นไบโอเอทานอล หรือไบโอฟิวล แนวทางนี้สามารถทำให้ชาวสวนมีรายได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะช่วยให้มีรายได้ในระดับมหภาคของประเทศได้ นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยลดสภาวะโลกร้อนและการเพิ่มมลพิษให้กับสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการเผาทำลายได้อีกด้วย (Wan et al., 2007)

ความต้องการทางอุตสาหกรรม

ปาล์มน้ำมันเป็นวัตถุดิบหลักของอุตสาหกรรมหลากหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมโอเลโอเคมีคอล อุตสาหกรรมไบโอดีเซล และอุตสาหกรรมอื่นๆ อีกหลากหลายประเภท ซึ่งมีมูลค่ากว่า 70 ล้านบาท (ศูนย์ศึกษาการค้ำระหว่างประเทศ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย, 2556) ทำให้มีความต้องการผลปาล์มน้ำมันดิบปริมาณมากเพื่อป้อนเข้าสู่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มอย่างต่อเนื่อง ในปัจจุบันประเทศไทยมีความสามารถในการผลิตผลปาล์มดิบได้สูงถึง 12,574,806 ตัน คิดเป็น 2,858 กิโลกรัมต่อไร่ เกษตรกรจึงสามารถป้อนผลปาล์มน้ำมันเข้าสู่อุตสาหกรรมได้อย่างต่อเนื่องและปลูกทดแทนหลังหมดอายุการเก็บเกี่ยว (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

ไบโอเอทานอลได้มีบทบาทสำคัญในการนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิง และยังมีค่านาสนใจมากขึ้นเนื่องจากความต้องการใช้น้ำมันในตลาดโลกที่เพิ่มมากขึ้น ปริมาณที่จำกัดของน้ำมันปิโตรเลียมและแก๊ส ตลอดจนปัญหาสภาวะโลกร้อนจากการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงปิโตรเลียม นโยบายระดับชาติและระดับองค์กรจึงได้เห็นความสำคัญของการใช้พลังงานทดแทนที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยลง และผลิตจากเศษวัสดุเหลือใช้ในภาคอุตสาหกรรมหรือเกษตรกรรมที่ใช้แล้วและมีอยู่อย่างไม่จำกัด อย่างไรก็ตามเชื้อเพลิงชีวภาพในช่วงแรกจะผลิตมาจากอาหารของคนหรือสัตว์ เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง อ้อย น้ำมันปาล์ม ฯลฯ ซึ่งเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ไม่เสถียรทั้งปริมาณและราคา ซึ่งคนและสัตว์ต้องใช้ในการบริโภค ทำให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมาเช่น ปริมาณความต้องการไม่เพียงพอ ส่งผลให้ราคาของวัตถุดิบสูงขึ้น พื้นที่การเพาะปลูกมีจำกัด ไม่สามารถตอบสนองความต้องการเชิงการแข่งขันในตลาดอาหารคนและอาหารสัตว์ได้ เพื่อก้าวพ้นปัญหาที่เกิดจากข้อเสียของเชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตในระยะแรก การผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพในระยะที่สองจึงเน้นการผลิตจากวัตถุดิบที่ไม่ใช่อาหารของคนหรือสัตว์ ลิกโนเซลลูโลสจากพืชเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจมากที่สุด เพราะชีวมวลจากพืชเป็นวัสดุที่มีอยู่มากที่สุดในโลก เหมาะสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการนำมาผลิตพลังงานทดแทน รวมไปถึงพลังงานชีวภาพและผลิตภัณฑ์เคมีที่ได้จากกระบวนการผลิต ไม้ปลูก ไม้โตเร็ว หรือไม้เศษเหลือจากการเกษตรสามารถเป็นแหล่งวัตถุดิบขนาดใหญ่ที่สนับสนุนกระบวนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพในทุกภูมิภาคของโลก (Li et al. 2008; Stoecker et al. 2008; Taherzadeh and Karimi 2008; Zhu and Pan 2010; Zhu et al. 2010)

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาโครงสร้างทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน
2. เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมัน
3. เพื่อศึกษาวิธีการทำ chemical pretreatment โดยกรดฟอสฟอริกร่วมกับ physico-pretreatment โดยใช้ไมโครเวฟ เปรียบเทียบกับ biological pretreatment ด้วยเชื้อรา
4. เพื่อศึกษากระบวนการ enzymatic hydrolysis โดยใช้เอนไซม์ cellulase ในสภาวะที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพต่อการ hydrolyze เซลลูโลสเป็นกลูโคส
5. เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากต้นปาล์มน้ำมัน

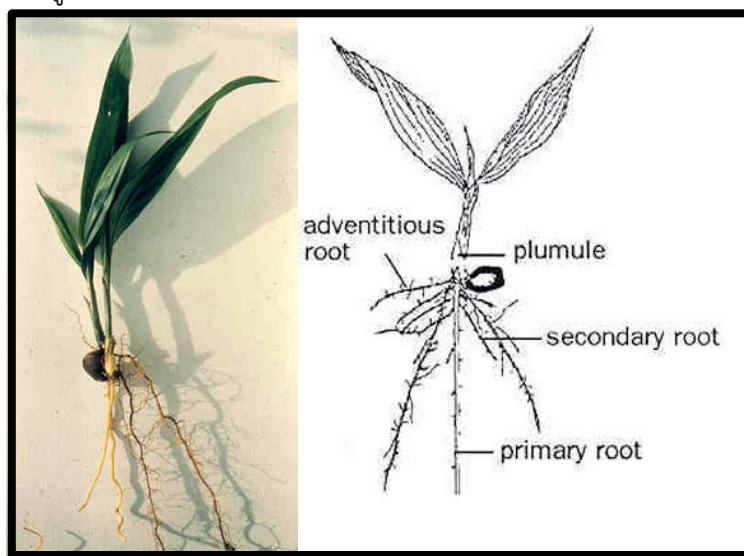
3. การตรวจเอกสาร

3.1 ปาล์มน้ำมัน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชยืนต้นใบเลี้ยงเดี่ยวที่จัดอยู่ในวงศ์ Palmae คลาส Angiospermae มีดอกเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในต้นเดียวกันแต่มีช่วงเวลาของการออกดอกไม่พร้อมกันการติดผลของปาล์มน้ำมันจึงต้องอาศัยการผสมเกสรตัวผู้จากต้นอื่น โดยส่วนประกอบของต้นปาล์มน้ำมันได้แก่

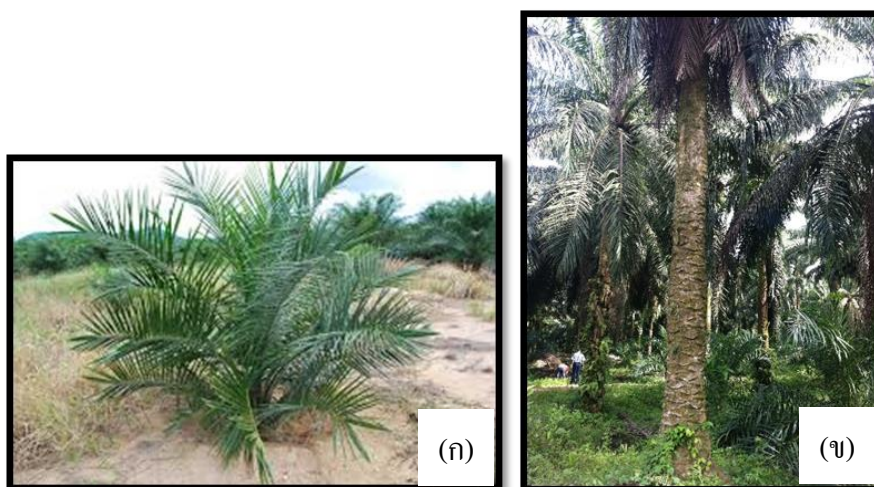
1) ราก ปาล์มน้ำมันเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) โดยรากอ่อนจะงอกออกจากเมล็ดเป็นอันดับแรก (รูปที่ 1) เมื่อต้นกล้าอายุได้ประมาณ 2-4 เดือน รากอ่อนจะหยุดเจริญเติบโตและกลายเป็นระบบรากจริงที่จะงอกออกจากส่วนฐานของลำต้น ต้นปาล์มน้ำมันที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีระบบรากที่สานกันอย่างหนาแน่นอยู่บริเวณผิวดินลึกประมาณ 30-50 เซนติเมตร



รูปที่ 1 ลักษณะและองค์ประกอบของรากของปาล์มน้ำมัน

ที่มา: เรวัต เลิศฤทัยโยธิน, 2541

2) ลำต้น ปาล์มน้ำมันมีขนาดลำต้นประมาณ 30-50 เซนติเมตร เมื่อมีอายุประมาณ 1-3 ปี (รูปที่ 2 ก) ลำต้นของปาล์มน้ำมันจะถูกหุ้มด้วยโคนกาบใบ แต่เมื่ออายุมากขึ้นโคนกาบใบจะหลุดร่วง (รูปที่ 2 ข) ลำต้นของปาล์มน้ำมันสูง 15-18 เมตร ส่วนโคนมีลักษณะเป็นรูปกรวยคว่ำ เรียกว่า bole ส่วนลำต้นเหนือดินเป็นทรงกระบอก เรียกว่า trunk ผิวของลำต้นคล้ายต้นตาล



รูปที่ 2 ต้นปาล์มน้ำมัน (ก) อายุ 3 ปี (ข) อายุ 20-25 ปี

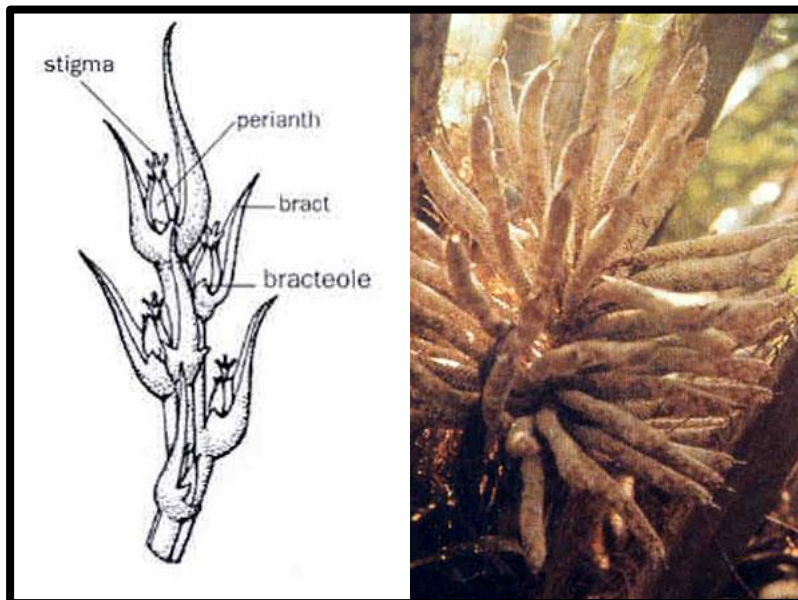
3) ใบ ปาล์มน้ำมันเป็นใบประกอบรูปขนนก (pinnate) มีส่วนของทางใบ (leaf stalk) ที่ประกอบด้วย แกนกลางใบ (rachis) ที่มีใบย่อยอยู่ 2 ข้าง และก้านใบ (petiole) ซึ่งมีขนาดสั้นกว่าส่วนแรก และมีหนามสั้นๆ อยู่ทั้ง 2 ข้าง แบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือหนามที่เกิดจากส่วนฐานของเส้นใยของกาบใบ (fiber spine) และหนามที่เกิดจากเส้นกลางใบของใบย่อย (midrib spine) แต่ละทางมีใบย่อย 100-160 คู่ แต่ละใบย่อยยาว 100-120 เซนติเมตร กว้าง 4-6 เซนติเมตร แต่ละใบแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแกนกลาง และส่วนก้านทางใบ (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ลักษณะใบของปาล์มน้ำมัน

4) ช่อดอกและดอก ปาล์มน้ำมันเป็นพืชผสมข้ามดอกโดยมีดอกเพศเมียและดอกเพศผู้แยกช่อภายในต้นเดียวกัน (monoecious) ที่ตำแหน่งของทางใบมีตาดอก 1 ตา อาจจะพัฒนาเป็นช่อดอกเพศผู้หรือเพศเมีย บางครั้งจะพบว่ามีช่อดอกกะเทยซึ่งมีทั้งดอกเพศผู้และเพศเมียอยู่รวมกัน (hermaphrodite) การบานของดอกปาล์มน้ำมันแต่ละดอกไม่พร้อมกัน การพัฒนาจากระยะตาดอกจนถึงดอกบานพร้อมที่จะรับการผสม (anthesis) ใช้เวลาประมาณ 33-34 วัน การเปลี่ยนเพศของตาดอก (sex differentiation) จะเกิดขึ้นในช่วง 20 วัน ก่อนดอกบาน ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ช่อดอกจะพัฒนาเป็นช่อดอกเพศเมียเป็นส่วนใหญ่ หลังจากการผสมเกสร 5-6 วัน ช่อดอกตัวเมียจะพัฒนาไปเป็นทะลาย ดอกตัวเมียมีกาบหุ้ม (bract) เจริญเป็นหนามยาว 1 อัน กาบรอง (bractiole) 2 แผ่น และมีกลีบดอก (perianth) 2 ชั้น ชั้นละ 3 กลีบ ในรูปที่ 4 ก. ห่อหุ้มรังไข่ 3 พูไว้ ยอดเกสรตัวเมียมี 3 แฉก เมื่อดอกบานแฉกนี้จะโค้งเปิดออก วันแรกกลีบดอกเป็นสีขาว (รูปที่ 4 ข) ตรงกลางมีต่อมผลิตของเหลวเหนียว วันต่อมาเปลี่ยนเป็นสีชมพู วันที่ 2-3 ของการบานของดอกจะเป็นระยะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผสมพันธุ์ หลังจากผสมเกสรแล้ว ยอดเกสรตัวเมียจะเปลี่ยนเป็นสีดำและแข็ง ปาล์มน้ำมันที่โตเต็มที่แล้วช่อดอกตัวเมียมีช่อดอกย่อย ประมาณ 110 ช่อ และมีดอกตัวเมียประมาณ 4,000 ดอก ดอกตัวผู้ที่เจริญเต็มที่ ก่อนที่จะบานมีขนาดกว้าง 1.5-2 มิลลิเมตร ยาว 3-4 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มด้วยกาบหุ้มรูปสามเหลี่ยม 1 แผ่น มีกลีบดอก 2 ชั้น ชั้นละ 3 กลีบ มีเกสรตัวผู้ 6 อัน รวมกันอยู่เป็นท่อตรงกลางดอก อับเกสรตัวผู้มี 2 พู ละอองเกสรจะหลุดจากช่อดอกทั้งหมดภายในเวลา 3 วัน ถ้าอากาศชื้นจะใช้เวลามากขึ้น ละอองเกสรจะมีชีวิตอยู่ได้ 7 วัน แต่หลังจากวันที่ 4 ความมีชีวิตจะต่ำลง เมื่อ

ดอกเจริญเต็มที่ช่อดอกย่อยตัวผู้มีขนาดยาว 10-20 เซนติเมตร หนา 0.8-1.5 เซนติเมตร มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ ต้นปาล์มน้ำมันที่โตเต็มที่ช่อดอกตัวผู้ 1 ดอก ให้ละอองเกสรมีน้ำหนักประมาณ 30-50 กรัม



รูปที่ 4 ส่วนประกอบของดอกปาล์มน้ำมัน (ก) และลักษณะดอกปาล์มน้ำมัน (ข)

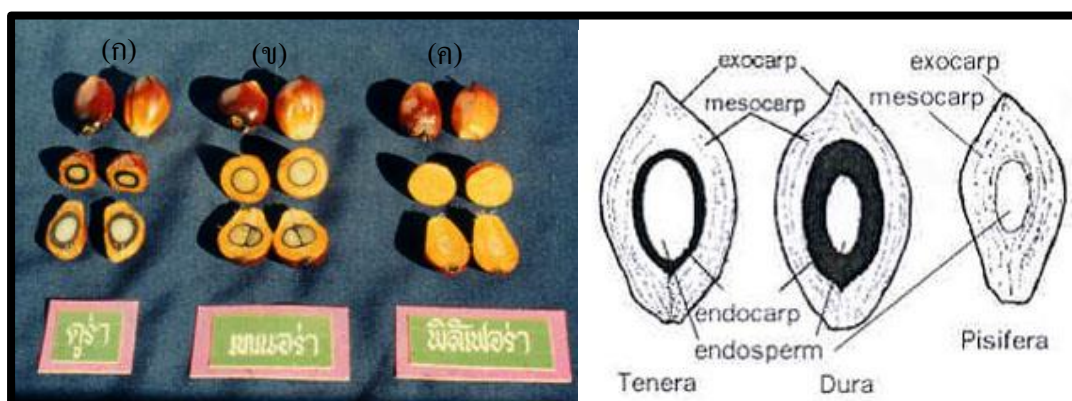
ที่มา: เรวัต เลิศฤทัยโยธิน, 2541

5) ผลและเมล็ด ผลปาล์มน้ำมันไม่มีก้านผล รูปร่างมีหลายแบบ ตั้งแต่รูปรียาวแหลมจนถึงรูปไข่หรือรูปยาวรี (รูปที่ 5) ความยาวผลอยู่ระหว่าง 2-5 เซนติเมตร น้ำหนักผลมีตั้งแต่ 3 กรัม จนถึงประมาณ 30 กรัม ประกอบด้วย ผิวเปลือกนอก กะลาและเนื้อใน ชั้นเปลือกนอกเป็นเนื้อเยื่อเส้นใย เมื่อสุกจะมีสีส้มแดง และมีน้ำมันอยู่ในชั้นนี้ ปาล์มน้ำมันที่ปลูกเพื่อการค้าโดยทั่วไปมีลักษณะของผลต่างกันตามยีนควบคุมความหนาของกะลา 1 คู่ (single gene) สามารถจำแนกลักษณะผล (fruit type) ได้ 3 แบบ ดังนี้

ก. ดูร่า (dura) มีกะลาหนา 2-8 มิลลิเมตร และไม่มีวงเส้นประสีดำอยู่รอบกะลา มีชั้นเปลือกนอกบางคิดเป็นร้อยละ 35-60 ของน้ำหนักผล

ข. เทเนอร์่า (tenera) มีกะลาบาง ตั้งแต่ 0.5-4 มิลลิเมตร มีวงเส้นประสีดำอยู่รอบกะลา มีชั้นเปลือกนอกมากคิดเป็นร้อยละ 60-90 ของน้ำหนักผล ลักษณะเทเนอร์่า เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมกันระหว่างลักษณะดูร่ากับพิลีเฟอร์่า

ค. พิลีเฟอร์่า (pisifera) เป็นผลที่ไม่มีกะลาหรือมีกะลาบาง แต่มีข้อเสีย คือ ช่อดอกตัวเมียมักเป็นหมัน (abortion) ทำให้ผลฝ่อลีบ ทะลายเล็ก เนื่องจากผลไม่พัฒนา ผลผลิตทะลายต่ำจึงไม่นิยมปลูกเพื่อการค้า



รูปที่ 5 ลักษณะผลและเมล็ดของปาล์มน้ำมัน
ที่มา: เรวัต เลิศฤทัยโยธิน, 2541

ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน

ต้นปาล์มน้ำมัน 1 ต้นให้ปริมาณเนื้อไม้เฉลี่ย 1.72 ลูกบาศก์เมตร ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ 2 ชนิด ได้แก่ กลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียง (vascular bundle) และกลุ่มเซลล์พาราเณคิมา (parenchyma) ซึ่งกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงของไม้ปาล์มน้ำมันจะมีการกระจายตัวกันแบบลดหลั่นจากเปลือกเข้าสู่ใจกลางลำต้น (รูปที่ 13) อยู่ในกลุ่มเซลล์พาราเณคิมาทำให้ความหนาแน่นของไม้ปาล์มน้ำมันบริเวณใกล้เปลือกสูงกว่าบริเวณใจกลางลำต้นและลดลงเล็กน้อยจากโคนถึงปลาย อีกทั้งยังมีน้ำตาลอิสระที่กระจายอยู่ตลอดทั้งลำต้นมีปริมาณสูงถึงร้อยละ 81.9 (รัตนา ซุหว่าง, 2554)

องค์ประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมัน

ไม้ปาล์มน้ำมันเป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลส (รูปที่ 6) ชนิดหนึ่งที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน อีกทั้งยังมีองค์ประกอบรองเรียกว่า สารแทรก ซึ่งรวมพวกเรซิน (resin) แทนนิน (tannin) น้ำตาลอิสระ แป้งและสารอื่นๆ อยู่ด้วย และสารแทรกนี้เองที่ทำให้สมบัติบางประการของไม้เช่น สี กลิ่น รส รวมถึงการต้านทานศัตรูทำลายไม้ต่างกัน โดยทั่วไปไม้ปาล์มน้ำมันมีองค์ประกอบทางเคมีที่ประกอบไปด้วยเซลลูโลสประมาณร้อยละ 48 โพลีเซลลูโลสประมาณร้อยละ 78 และลิกนินประมาณร้อยละ 18 และมีแป้งซึ่งอยู่ในกลุ่มเซลล์พาราเณคิมาร้อยละ 55 และอยู่ในกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงไม่เกินร้อยละ 3 (รัตนา ซุหว่าง, 2554)

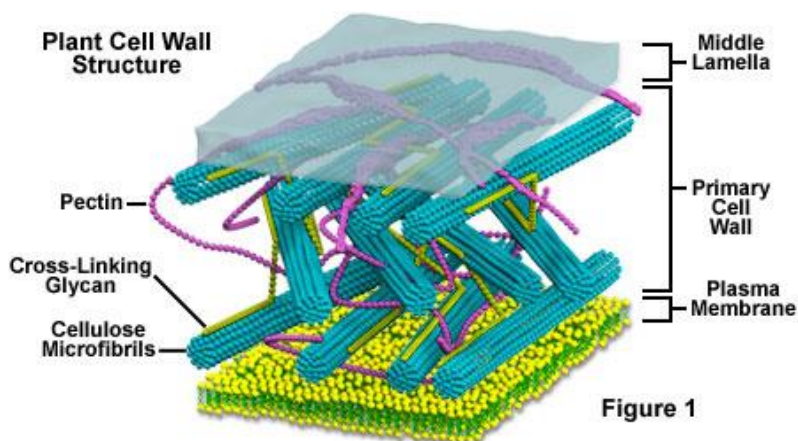
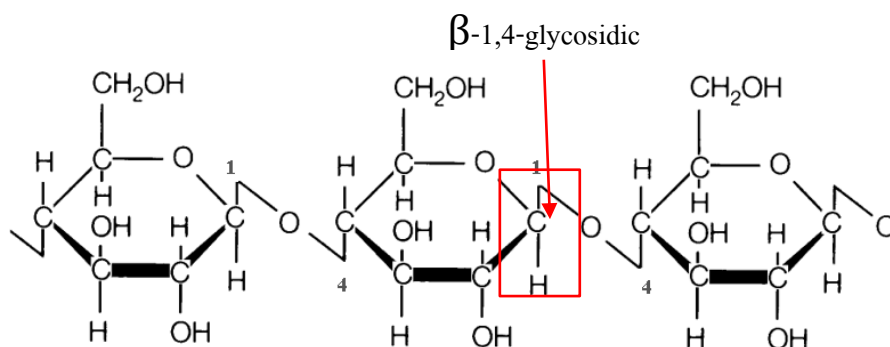


Figure 1

รูปที่ 6 โครงสร้างผนังเซลล์พืชที่มีส่วนประกอบเป็นเซลลูโลสและแพกติน
ที่มา: <http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plants/cellwall.html>

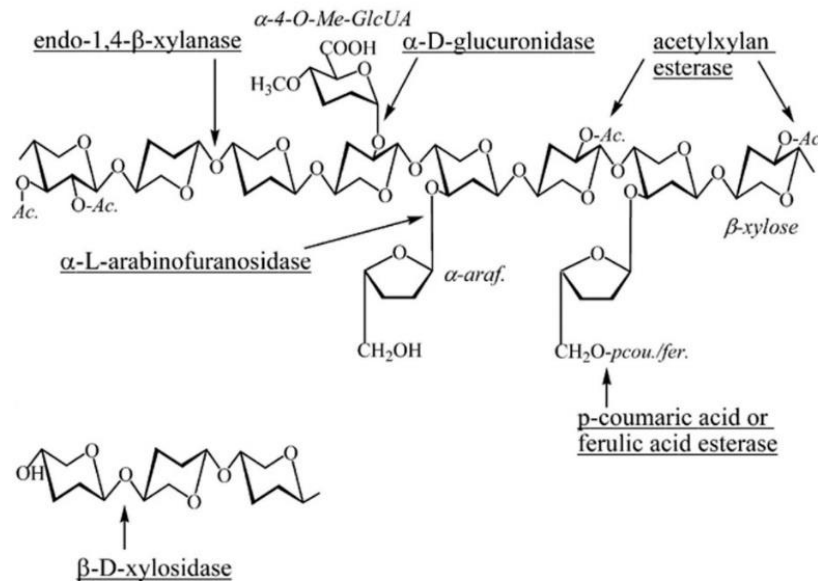
เซลลูโลส (cellulose) เป็นสารประกอบอินทรีย์มีโครงสร้างเป็นผลึก (crystalline) ที่ประกอบไปด้วย น้ำตาลกลูโคส (D-glucose) ซึ่งเป็นน้ำตาลหลักที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไบเอทานอล (Mood *et al.*, 2013) เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวดังรูปที่ 7 ด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic และมีการเชื่อมต่อระหว่างสายของเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนเกิดเป็นเส้นใย พบได้ในผนังเซลล์พืช รวมอยู่กับเฮมิเซลลูโลสและแพกติน (รูปที่ 6) ช่วยให้ความแข็งแรง ซึ่งเซลลูโลสละลายน้ำได้น้อย การย่อยสลายเส้นใยเซลลูโลสสามารถใช้วิธีทางเคมีโดยการใช้กรดในการตัดพันธะ หรือการใช้ตัวเร่งทางชีวภาพ (enzyme) อย่างเซลลูเลส (cellulase) ในการตัดพันธะได้ (Food network solution, 2015)



รูปที่ 7 การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic

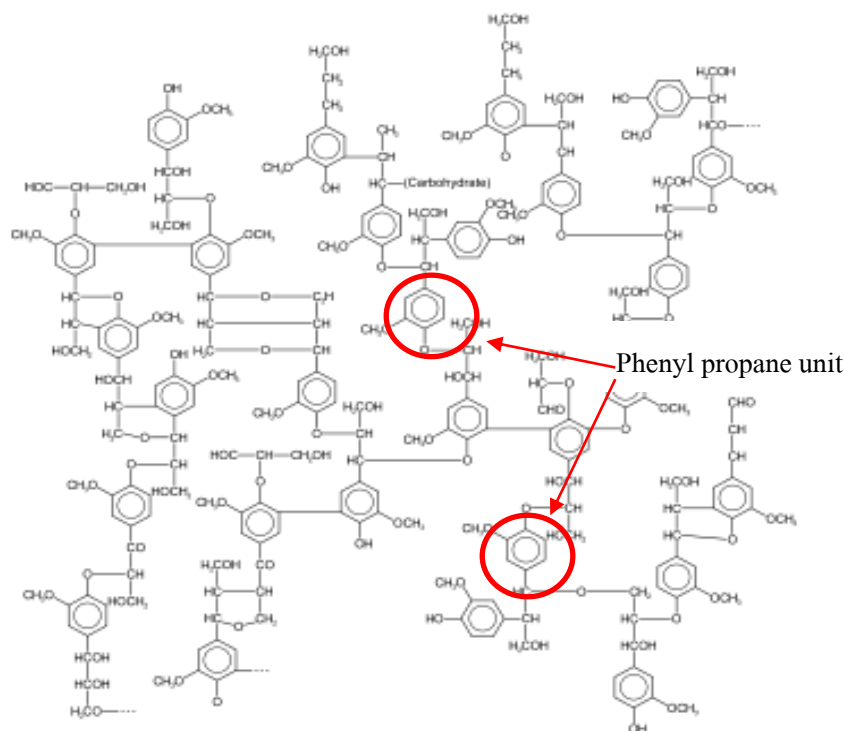
เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่ประกอบไปด้วยน้ำตาล 5 คาร์บอนอะตอม และ 6 คาร์บอนอะตอม ต่อกันเป็นพอลิเมอร์สายสั้นและแตกกิ่งแขนงขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาล ได้แก่ น้ำตาลเพนโทส (pentose) ต่อกันด้วยพันธะ β -D-xylose α -L-arabinose น้ำตาลเฮกโซส (hexose) ต่อกันด้วยพันธะ β -D-mannose β -D-glucose α -D-galactose ลักษณะโครงสร้างแบบอสัณฐาน (amorphous) มีความแข็งแรงต่ำกว่าเซลลูโลส เมื่อเชื่อมต่อกับเซลลูโลสทำให้โครงสร้างมีความแข็งแรงยิ่งขึ้น ไม่สามารถละลายน้ำได้แต่สามารถย่อยสลายได้โดยใช้กรด เบส หรือเอนไซม์ (รูปที่ 8) การนำน้ำตาลในเฮมิ

เซลลูโลสมาใช้ประโยชน์ในการผลิตไบเอทานอลจึงต้องใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอล โดยมีน้ำตาล 5 คาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต (Mood *et al.*, 2013)



รูปที่ 8 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและตำแหน่งการเข้าทำลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ
ที่มา: Collins (2005)

ลิกนิน (lignin) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีฟีนิลโพรเพน (phenylpropane; C₆-C₃) 3 หน่วยย่อยประกอบกันได้แก่ พาราโคมาริลแอลกอฮอล์ (p-coumaryl alcohol) โคนิเฟอร์ิลแอลกอฮอล์ (coniferyl alcohol) และซินนิพริลแอลกอฮอล์ (sinapyl alcohol) ซึ่งจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ (ester) มากกว่าสองพันธะ (รูปที่ 9) อีกทั้งยังมีพันธะเดี่ยวระหว่างอะตอมของคาร์บอนเชื่อมระหว่างโมเลกุลของสารประกอบภายในทำให้ลิกนินมีความเสถียรสูง สามารถย่อยสลายลิกนินได้โดยใช้กรดและเบส หรือการตัดพันธะเอสเทอร์ด้วยโมเลกุลของน้ำ ในธรรมชาติลิกนินจะช่วยห่อหุ้มป้องกันเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากศัตรูทำลายไม้เนื่องจากลิกนินจะมีความเป็นพิษกับศัตรูทำลายไม้ อีกทั้งยังเป็นตัวเพิ่มความแข็งแรงของผลึกลิกโนเซลลูโลส ดังนั้นจึงต้องทำการปรับสภาพไม้เพื่อลดปริมาณลิกนินก่อนการเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นกลูโคส (Singh *et al.*, 2014)



รูปที่ 9 ลักษณะโครงสร้างของลิกนิน

สารแทรก (extractive) คือสารที่ไม่ใช่องค์ประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์ไม้ มีฤทธิ์เป็นกรดหรือเป็นกลาง (สำหรับสารแทรกแบ่งเป็นสารที่สามารถละลายในน้ำรวม 10.36% และละลายได้ในสารละลายรวม 23.24%) เช่น สารไอโซพรีน เทอร์พีน เฮตเตอโรไซคลิก กรดเรซิน สารโพลีฟีนอลต่างๆ และอัลคาลอยด์ เป็นต้น เป็นสารประกอบที่เป็นสมบัติของพันธุ์ไม้แต่ละชนิด สารประกอบเหล่านี้จะทำให้ไม้แต่ละชนิดมีสี กลิ่น รส และความแข็งที่แตกต่างกัน สารแทรกมีประมาณ 5-30% โดยมีมวล ซึ่งรวมไปถึงสารส่วนน้อย (Minor constituent) เป็นสารประกอบที่ก่อให้เกิดเถ้า ได้แก่ สารประกอบแคลเซียม โปแทสเซียม ฟอสเฟสและซิลิกา เป็นต้น สารพวกนี้มีประมาณ 0.1-3% โดยมีมวล (Cherdchim, 2010) อิศรา โกมลเกียรติ (2555) ได้ทำการศึกษาน้ำคั้นจากน้ำเลี้ยง (sap) ลำต้นปาล์มน้ำมัน พบว่ามีน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ กลูโคส ซูโครส อาราบินอส เป็นต้น ซึ่งสามารถวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก (phenol-sulfuric method) ได้ 43.19 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำคั้นลำต้นปาล์มน้ำมัน

Sugar	Concentration (g/l)
Sucrose	9.30±1.94
Glucose	16.06±1.45
Xylose	7.48±0.40
Arabinose	7.29±0.33
Sucrose + Glucose + Xylose + Arabinose	40.13±4.12
Total sugar	43.19±3.32

ที่มา: อิศรา โกมลเกียรติ, 2555

องค์ประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มในรูปของ Soluble sugar จะอยู่ในรูปของน้ำตาลซูโครส ตามด้วย กลูโคสและฟรุคโตส แป้ง น้ำตาลพวกโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งมีองค์ประกอบหลักของกลูโคส กับไซโลสและ ฟรุคโตสบางชนิด ปริมาณของน้ำตาลที่พบยังขึ้นอยู่กับตำแหน่งความสูงของลำต้น อายุ หรืออื่นๆ ในไม้ปาล์ม อายุ 10 ปี พบว่ามีความสัมพันธ์ของปริมาณชีวมวลมากที่สุดเทียบกับทางใบอยู่ที่ 100 มิลลิกรัมต่อกรัมของ น้ำหนักแห้ง จากข้อมูลดังกล่าว ไม้ปาล์มจึงเป็นแหล่งวัตถุดิบขนาดใหญ่ที่ผลิตชีวมวลหรือ soluble sugar จากการเปรียบเทียบปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากต้นปาล์มที่มีอายุต่างกันและระดับความสูงของลำต้นต่างกัน พบว่าปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นเมื่อต้นปาล์มอายุมากขึ้นจนถึงแปดปี ขณะที่แป้งและน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ สูงสุดเมื่อปาล์มโตเต็มที่ และปริมาณน้ำตาลดังกล่าวจะลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ยังพบว่าปริมาณ free sugar เพิ่มขึ้นถึง 82% ตามอายุของต้นปาล์มจนถึงแปดปี ซึ่งความสัมพันธ์ตามความสูงยังพบว่าปริมาณ น้ำตาลเพิ่มขึ้นตามระดับความสูงที่เพิ่มขึ้น ที่ระดับ 4.6 เมตรพบปริมาณ soluble sugar สูงสุด 285 มิลลิกรัม ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของไม้ ขณะที่ความสูง 1.6 เมตรพบ soluble sugar เพียงแค่ 137 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของไม้ ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกันกับปริมาณน้ำตาลอิสระ แป้งและน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์มีค่าแตกต่างกันตามตำแหน่งในเนื้อไม้แต่พบว่าไม้ที่มีปริมาณมากที่สุดตรงบริเวณความสูงกึ่งกลางของลำต้น ถ้าพิจารณาในแนว รัศมีของลำต้นพบว่ากึ่งกลางของลำต้นพบน้ำตาลอิสระ และ soluble sugar มากที่สุด และมีปริมาณน้อยลง จนถึงเปลือกนอกซึ่งแตกต่างกับแป้งและโพลีแซคคาไรด์ที่เพิ่มขึ้น สามารถพูดได้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรต แตกต่างกันตามอายุหรือปัจจัยอื่นๆ ของต้นปาล์ม (Henson et al., 1999)

3.2 การปรับสภาพไม้

การปรับสภาพไม้ เป็นอีกหนึ่งขั้นตอนในกระบวนการเปลี่ยนชีวมวลเซลลูโลสเป็นน้ำตาล ที่มีความสำคัญในการแยกกลินินออกจากชีวมวล (delignification) เนื่องจากกลินินเป็นตัวขัดขวางพื้นที่ผิวในการ เข้าถึงได้ของสารเคมีหรือเอนไซม์ในกระบวนการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสเป็นกลูโคส (Singh *et al.*, 2014) ซึ่ง การปรับสภาพไม้ สามารถแบ่งได้เป็น 3 วิธีการหลักๆ ด้วยกัน ได้แก่

1) การปรับสภาพทางกายภาพ (Physical pretreatment) เป็นการลดขนาดและเพิ่มพื้นที่ผิวให้กับ การย่อยสลายชีวมวล ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีโดยเริ่มตั้งแต่การลดขนาดแบบหยาบ เช่น chipping, shredding, grinding, milling เป็นต้น จากนั้นจึงใช้วิธี Pyrolysis, steam pretreatment หรือ steam explosion และอื่นๆ ในการเปลี่ยนสภาพลิกนิน ลดความเป็นพอลิเมอร์และค่าความเป็นผลึกของเซลลูโลสลง

2) การปรับสภาพทางกายภาพและเคมีร่วมกัน (Physico-chemical pretreatment) เป็นการทำงาน ร่วมกันระหว่างวิธีทางเคมีและกายภาพ ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพให้กับการสลายลิกนิน ย่อยสลายเฮมิ เซลลูโลสและการลดระดับความเป็นพอลิเมอร์ของโครงสร้างเซลลูโลส เช่น การใช้สารเคมีพร้อมกับอุณหภูมิสูง การใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อน ซึ่งการใช้ไมโครเวฟร่วมกับสารเคมีจะประหยัดเวลาและลดปริมาณ พลังงานในการให้ความร้อนลงได้ ประสิทธิภาพของการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับชนิดสารเคมี ความเข้มข้นของ สารเคมีและเวลาที่ใช้

3) การปรับสภาพทางชีวภาพ (Biological pretreatment) เป็นการกำจัดลิกนินในลิกโนเซลลูโลสที่ถือว่าประหยัดและปลอดภัยโดยใช้หลักการย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น จากเชื้อรา (decay fungi) ซึ่งการใช้เอนไซม์ที่เหมาะสมรวมทั้งมีการใช้เอนไซม์ร่วมอย่าง ไซเลนเนส และ แลคเคส สามารถช่วยลดการใช้เอนไซม์หลักลงได้ อีกทั้งยังเพิ่มความคุ้มค่าต่อการผลิตเอทานอลได้โดยการลดปริมาณลิกนินและความเป็นพอลิเมอร์ของเซลลูโลสจะทำให้ความสารถในการเข้าถึงของเอนไซม์เพิ่มขึ้น (Taherzadeh and Karimi 2008)

การทำ pretreatment มีความสำคัญอันดับแรกในการเปลี่ยน lignocellulosic material เป็นเอทานอลในกระบวนการผลิต Bioethanol จากไม้ การทำ pretreatment เพื่อเปลี่ยนสภาพลิกนินและเอมิเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของไม้และทำหน้าที่คล้ายเกราะป้องกันการเข้าทำลายของศัตรูไม้ เช่น เชื้อรา หรือแบคทีเรีย ซึ่งทำให้เอนไซม์สามารถเข้าถึงเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น และเพื่อลดค่า degree of polymerization (Sannigrahi et al. 2010) โดยการเพิ่มพื้นที่ผิวให้กับเซลลูโลส ซึ่งเป็นผลดีต่อการย่อย cellulose ด้วยเอนไซม์ (Taherzadeh and Karimi 2008) และช่วยในการลดองค์ประกอบที่เป็นลิกนินและเอมิเซลลูโลสที่ทำหน้าที่ป้องกันเซลลูโลส และเป็นปัจจัยสำคัญในการขัดขวางประสิทธิภาพของกระบวนการ cellulose hydrolysis (Mtui 2009) การทำ pretreatment ที่มีประสิทธิภาพที่สุดจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ประโยชน์ที่จะได้ ปฏิกริยาที่มีผลต่อการปรับสภาพ lignocellulose สูง ตลอดจนเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและเป็นวิธีที่ประหยัด (Mtui 2009, Taherzadeh and Karimi 2008)

Cherdchim (2010) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพไม้ด้วยวิธีการใช้กรดชนิดต่างๆ เช่น ใช้กรดฟอสฟอริก เข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ กรดฟอร์มิก ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์และกรดอะซิติก ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ 20 วินาที จากกึ่งน้ำเซลลูโลส (Cellulosic pellet) ที่ได้ไปย่อยด้วยเอนไซม์ 4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เซลลูเลส 4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ ไซเลนเนส 4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร บ่มไว้ภายใต้การเขย่า 200 rpm อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า การใช้กรดฟอสฟอริก เข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณน้ำตาลมากที่สุดอยู่ที่ 70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ กรดฟอร์มิก ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และกรดอะซิติก ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ได้ปริมาณน้ำตาลแค่ 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเมื่อทำการศึกษาต่อโดยการลดความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 8 มิลลิลิตร และทำการย่อยด้วยเอนไซม์ต่างๆ เช่น การใช้เอนไซม์ชนิดเดียว หรือการใช้เอนไซม์หลายชนิดร่วมกัน เป็นต้น พบว่าการใช้เอนไซม์ร่วมกันระหว่าง cellulase, xylanase และ laccase หรือ cellulase, β -glucosidase และ laccase ร่วมกันในการย่อยสลายจะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลจากการเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นกลูโคสสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์

3.3 การเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์

เซลลูโลสประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส ในรูปแบบของการเชื่อมต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์ด้วยพันธะ β -1,4-glucosidic การตัดพันธะนี้จึงต้องใช้ตัวเร่งทางชีวภาพหรือเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อการตัดพันธะเข้ามาเร่งปฏิกริยาเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นกลูโคส ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลได้ ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้ได้แก่

1) เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเซลลูโลส คือ เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ผลิตได้โดยสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น ข้าวมอลต์ ข้าวบาร์เลย์ ไบยาสูบ ไล้เดือนดิน ปลวก หอยทาก แบคทีเรีย และรา เป็นต้น (Klyosov, 1990) เอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์ เป็นเอนไซม์ที่ผลิตออกมาสู่ภายนอกเซลล์ (extracellular enzyme) จัดเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่ดีที่สุด เนื่องจากสะดวกต่อการสกัดสามารถผลิตได้ในปริมาณมาก ต้นทุนการผลิตต่ำ ทั้งนี้พบว่าสภาพการเพาะเลี้ยงมีผลต่อชนิดและ ปริมาณของเอนไซม์ที่สร้างขึ้น เช่น องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ ชนิดและปริมาณของเซลลูโลสที่ใช้ ปริมาณเกลือของโลหะต่าง ๆ สภาพความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และออกซิเจน เป็นต้น (Alexander, 1967) เอนไซม์เซลลูเลสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสโดยมีลักษณะการทำงาน ดังนี้ β -1,4-endoglucanase ทำหน้าที่ตัดพันธะภายในสายเซลลูโลส cellobiohydrolase (I, II) จะทำหน้าที่ตัดพันธะ β -1,4-glucosidic bond ที่ 2 จากปลาย reducing และ non-reducing ของเซลลูโลสให้เป็น cellobiose (กลูโคส 2 ตัวต่อกัน)

2) เอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส β -1,4-glucosidase จะตัดพันธะของ cellobiose ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส โมเลกุลเดี่ยว (Jagtap et al., 2013)

3.4 กระบวนการหมักน้ำตาลเพื่อให้ได้ผลผลิตเอทานอล

ในกระบวนการหมักน้ำตาลเพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นเอทานอลนั้นเราสามารถนำมาปรับสภาพตามขั้นตอนในหัวข้อ 3.3 เมื่อได้น้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล กระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคสเพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นเอทานอลสามารถใช้ยีสต์ในกลุ่ม *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมัก เมื่อเกิดผลผลิตซึ่งเป็นเอทานอลแล้วสามารถวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ในรูปสารละลายด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) ในกระบวนการนี้จะมีปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการหมัก เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง เป็นต้น Noomtim and Cheirsilp (2011) ได้ศึกษาการผลิต acetone butanol ethanol (ABE) จากทลายปาล์มด้วยการทำ pretreatment ด้วยกรด ต่าง หรือทั้งกรดและด่าง ตามด้วยการทำ cellulose hydrolysis ด้วยเอนไซม์ cellulase เป็นเวลา 72 ชม. แล้วทำการหมักด้วยแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* เป็นเวลา 168 ชม. พบว่าการทำ pretreatment ด้วยด่างให้ปริมาณ ABE ที่ 1.262 ± 0.218 g/l ซึ่งสูงกว่าด้วยกรดที่ 1.58 ± 0.173 g/l และในปีเดียวกัน Ponthein and Cheirsilp (2011) ได้ทำการวิจัยผลิต acetone butanol ethanol (ABE) จากทลายปาล์มด้วยการทำ pretreatment ด้วยกรด ต่าง (NaOH และ H_2SO_4) ตามด้วยการทำ cellulose hydrolysis ด้วยเอนไซม์ cellulase; 30 U แล้วหมักด้วยแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* หรือร่วมกันระหว่าง *Clostridium acetobutylicum* และ *Bacillus cellulolyticus* พบว่าการหมักร่วมของแบคทีเรียทั้งสองชนิดไม่ได้ช่วยในการเพิ่มผลผลิต ABE แต่ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิต ABE คือเอนไซม์ cellulase ที่เติมลงไปในการบวนการหมัก Prawitwong et al. (2012) ได้ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากต้นปาล์มน้ำมันที่แยกออกเป็นเนื้อไม้ส่วน parenchyma cell และ เนื้อไม้กลุ่มเซลล์เส้นใย จากการศึกษาพบว่าเนื้อไม้ส่วน parenchyma cell มีแป้งเป็นองค์ประกอบประมาณ 47% (w/w) สามารถเปลี่ยนแป้งดังกล่าวให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์

amylases และหมักน้ำตาลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ผลผลิตเอทานอล 6.1% (w/v) เนื้อไม้ส่วน parenchyma cell ที่เอาแบ่งออกแล้ว และเนื้อไม้กลุ่มเซลล์เส้นใยนำมาทำ pretreatment ด้วย alkali-pretreatment โดยใช้ NaOH แล้ว hydrolyze ด้วย 18 FPU cellulase, 10 U Novozyme-188 /g substrate แล้วหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ผลผลิตเอทานอล 8.2% (w/v); เนื้อไม้ส่วน parenchyma cell ที่เอาแบ่งออก และ 8.5% (w/v); เนื้อไม้กลุ่มเซลล์เส้นใย ซึ่งเทคนิคในการแยกหมักเนื้อไม้ทั้งสองส่วนสามารถเพิ่มผลผลิตเอทานอลได้

3.5 ศักยภาพของปาล์มน้ำมันในอุตสาหกรรม

ปัจจุบันปาล์มน้ำมันมีการผลิตและส่งออกในหลายประเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในแอฟริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากมีลักษณะภูมิอากาศที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและตามนโยบายขององค์การอาหารและการเกษตรโลก (UN Food and Agricultural Organization; FAO) พื้นที่ในการปลูกปาล์มน้ำมันในอดีตจนถึงปัจจุบันเพิ่มขึ้นมากกว่าสี่เท่าจาก 3.6 ล้าน hectares ในปี 1961 เป็น 9.13 hectares ในปี 2007 (<http://www.aftasources.com/news/show-1298.html>) จนถึงขณะนี้มากกว่า 43 ประเทศปลูกปาล์มน้ำมันและมีพื้นที่กว่าหนึ่งในสิบของพื้นที่ทำการเกษตรของโลก และจากนี้มากกว่า 80% ของพื้นที่ปลูกทั้งหมดอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะ อินโดนีเซีย มาเลเซีย และไทย (<http://www.aftasources.com/news/show-1298.html>) น้ำมันปาล์มสามารถสกัดได้จากสองส่วนของปาล์มน้ำมันคือจากผลปาล์ม (น้ำมันบริโภค) และส่วนของเนื้อใน (Kernel ; อาหารและอุตสาหกรรมประเภทสบู) จากทุกๆ 100 กิโลกรัมของผลปาล์ม สามารถสกัดได้น้ำมัน 22 กิโลกรัม และ น้ำมัน Kernal ได้ 1.6 กิโลกรัม น้ำมันที่ผลิตได้ (ประมาณ 7,250 ลิตรต่อปี) ใช้ในการประกอบอาหารทั้งในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแอฟริกาและเพิ่มมากขึ้นในอุตสาหกรรมอาหารในทุกพื้นที่ทั่วโลกเนื่องจากราคาที่ถูกลง มีความเสถียรต่อการทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (Matthäus, Bertrand, 2007) และมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่เป็นจำนวนมาก น้ำมันปาล์มมีองค์ประกอบที่เป็นไขมันอิ่มตัวมากกว่าน้ำมันที่ได้จากพืชน้ำมันอื่นๆ เช่น ข้าวโพด น้ำมันลินสีด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมัน Safflower และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน และด้วยข้อดีของน้ำมันปาล์มที่ให้ความร้อนสูงในการทอดและทนต่อการทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (Che Man et al., 1998)

โดยปกติปาล์มน้ำมันสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ประมาณ 25 ปี หลังจากนั้นจึงปลูกทดแทน ปาล์มน้ำมันที่ตัดโค่นจะมีส่วนที่เป็นลำต้นอยู่ระหว่าง 7-13 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 45-65 เซนติเมตร (วัดที่ระดับอก) ในทุกๆ หนึ่งเฮกเตอร์ สามารถปลูกปาล์มน้ำมันได้ 134 ต้น คิดเป็นปริมาตรไม้ประมาณ 1.6 ล้านลูกบาศก์เมตร เส้นใยประมาณ 54% และเศษเหลืออื่นๆ เช่น เปลือก 14% และองค์ประกอบที่เป็นพาราเรโนไคมา 32% ของน้ำหนักแห้ง จากชีวมวลจำนวนมากที่ได้จากปาล์มน้ำมันดังกล่าว เพียง 10% ที่เป็นผลผลิตน้ำมันปาล์ม ที่เหลือจะเป็นเศษเหลือที่อยู่ในรูปของ ผลปาล์มที่เหลือจากการสกัดน้ำมัน ทลายปาล์มทางใบ และส่วนของลำต้น (<http://www.bfdic.com/en/Features/Features/79.html>) ปัจจุบันมีการวิจัยจำนวนมากที่จะนำเศษเหลือจากปาล์มน้ำมันดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ เพื่อเพิ่มมูลค่าในเชิงพาณิชย์ ในบาง

ประเทศนำเศษเหลือดังกล่าวมาผลิตเป็น MDF (Medium Density Fiberboard) แม้ว่า MDF ที่ผลิตส่วนใหญ่จะใช้วัตถุดิบเป็นไม้ยางพารา ถึงแม้ว่าคุณสมบัติของบอร์ดที่ได้จะมีคุณภาพต่ำกว่าบอร์ดที่ผลิตจากไม้ยางพารา และเป็นงานวิจัยที่อยู่ในระดับ ห้องปฏิบัติการ ยังไม่ได้ผลิตในเชิงพาณิชย์ แต่ก็ยังเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้เป็นวัสดุสนับสนุน เพื่อให้มีความเพียงพอต่อการใช้ไม้ยางพาราในอุตสาหกรรม (<http://www.bfdic.com/en/Features/Features/79.html>) นอกจากนี้ไม้ปาล์มยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมไม้อัด อย่างไรก็ตามการตัดขนาดไม้จนไปถึงการปอกไม้ต้องใช้วิธีโดยเฉพาะเพราะความไม่คงที่ของส่วนที่เป็นกลุ่มเซลล์เส้นใยที่กระจายตัวอยู่ในลำต้น ซึ่งพบว่าความแข็งแรงทางกลศาสตร์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์ผ่านเกณฑ์มาตรฐานเช่น มาตรฐานญี่ปุ่น (JAS 233:2003) จากงานวิจัยพบว่าไม้ปาล์มยังไม่เหมาะที่จะนำมาผลิตเป็นเฟอร์นิเจอร์ เนื่องจากข้อดีของคุณสมบัติต่างๆ ที่ยังไม่เหมาะสมอันเป็นผลมาจากความหนาแน่นที่ต่ำของไม้ เช่น ความสามารถในการตัดให้โค้งงอและความแข็งแรงต่ำเมื่อเทียบกับไม้ที่ใช้ผลิตเฟอร์นิเจอร์ชนิดอื่น

จากรายงานของ Akihiko et al. (2010) พบว่าในน้ำเลี้ยงของปาล์มน้ำมันมีอายุมีองค์ประกอบของกลูโคสอยู่ในปริมาณมากถึง 85 กรัมต่อลิตร ปาล์มน้ำมันดังกล่าวยังอุดมไปด้วยวิตามิน กรดอินทรีย์ และแร่ธาตุอื่นๆ ตามธรรมชาติ เอทานอล กรดแลคติก (ใช้ในอุตสาหกรรม bio-plastic และ poly-lactate) ซึ่งสามารถหมักกลูโคสในน้ำเลี้ยงโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai no.7 และแบคทีเรีย homolactic acid bacterium และ *Lactobacillus lactis* ATCC19435 น้ำตาลในน้ำเลี้ยงของปาล์มน้ำมันยังสามารถเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนขึ้นกับกระบวนการตัดโค่นและจัดเก็บที่เหมาะสม เช่นเพิ่มขึ้นจาก 83 กรัมต่อลิตร เป็น 153 กรัมต่อลิตร จากการตัดโค่นและจัดเก็บด้วยวิธีที่เหมาะสม น้ำตาลที่พบในน้ำเลี้ยงสามารถจำแนกได้เป็น กลูโคส ซูโครส ฟรุคโตส และกาแลคโตส ซึ่งน้ำตาลทั้งหมดสามารถหมักได้ด้วยยีสต์ เพื่อให้ผลผลิตเอทานอลและกรดแลคติกโดยไม่ต้องเติมสารตัวเติมใดๆ ในระดับเทียบเท่ากับการหมักน้ำตาลโดยทั่วไป Yamada et al. (2010) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ bio ethanol ในต้นปาล์มน้ำมันและอ้อย พบว่าในหนึ่งเฮกแตร์ปาล์มน้ำมันผลิต bio ethanol ได้มากกว่าอ้อยอยู่ที่ระดับ 8.79-9.4 ลูกบาศก์เมตร และ 6.5 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ ปริมาณความชื้นของต้นปาล์มน้ำมันมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าอ้อยเล็กน้อย ส่วนน้ำตาลในน้ำเลี้ยงพบในปริมาณที่ไม่ต่างกัน นอกจากนี้ Shinoj et al. (2011) ทำการศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากไม้ปาล์ม (ส่วนของเส้นใย) จากการศึกษาพบว่าลักษณะและคุณสมบัติของเส้นใยปาล์มน้ำมันมีลักษณะใกล้เคียงกับเส้นใยของไม้ชนิดอื่นๆ โดยมีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลส 43-65% ลิกนิน 13-25% เฮมิเซลลูโลส 17-34% และไฮโดรเซลลูโลส 68-86% ซึ่งสามารถทำการ pretreatment ไม้ก่อนการทำ cellulose hydrolysis ด้วยเอนไซม์ได้เหมือนกับไม้โดยทั่วไป โดยใช้ยูเรียฟอร์มาลดีไฮด์ในการทำ pretreatment ก่อนนำน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการ hydrolysis ไปทำการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นเอทานอลต่อไป

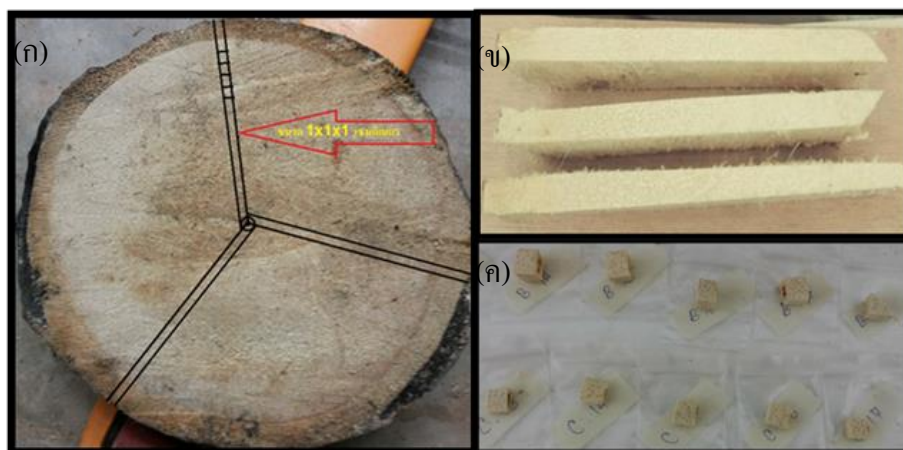
4. วิธีการทดลอง

4.1 สมบัติพื้นฐานของไม้ปาล์มน้ำมัน

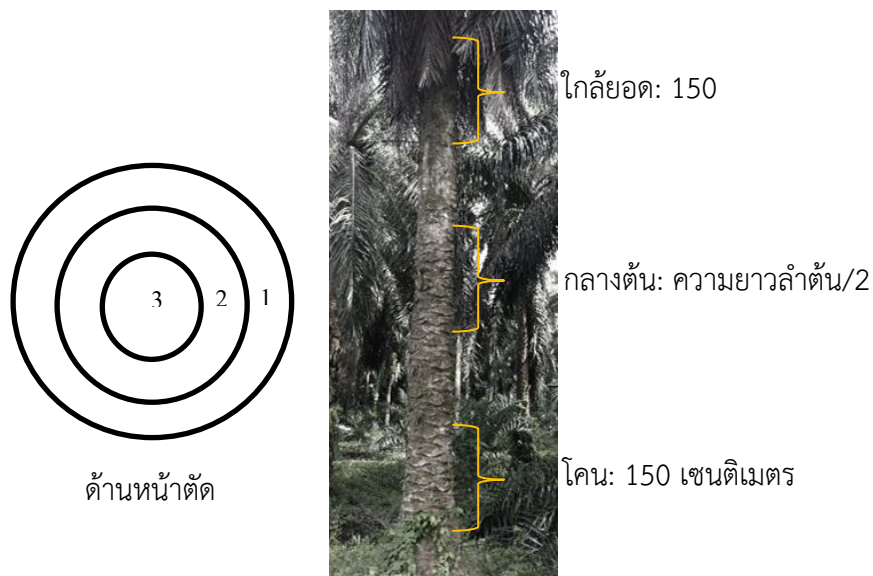
ทำการสุ่มตัดต้นปาล์มน้ำมันที่มีอายุ 25-30 ปี ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี จากนั้นทำการวัดความยาวของลำต้นและเส้นผ่านศูนย์กลางในตำแหน่งสูงจากพื้น 150 เซนติเมตร อย่างละ 3 ต้น

4.2 ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน

ทำการตัดไม้ปาล์มน้ำมันบริเวณท่อนที่อยู่สูงจากพื้น 150 เซนติเมตร ให้มีความหนาประมาณ 5 นิ้ว สุ่มตัดเนื้อไม้ 3 กลุ่ม หนา 1 เซนติเมตร แล้วจึงนำมาตัดเป็นชิ้นย่อยๆ ให้มีขนาด $1 \times 1 \times 1$ เซนติเมตร ดังรูปที่ 10 เพื่อนำศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) และศึกษาการจัดเรียงตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงเพื่อหาสัดส่วนปริมาตรเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดสะท้อนแสง (Reflected Light Microscope) ที่มีชุดบันทึกภาพระบบดิจิทัล (Digital camera capture) ดังรูปที่ 10 ในการหาปริมาณน้ำตาลในต้นปาล์มน้ำมันที่ส่วนต่างๆ ทำการตัดไม้ปาล์มน้ำมันบริเวณบริเวณโคน กลางต้น และใกล้ยอด ดังแสดงในรูปที่ 11



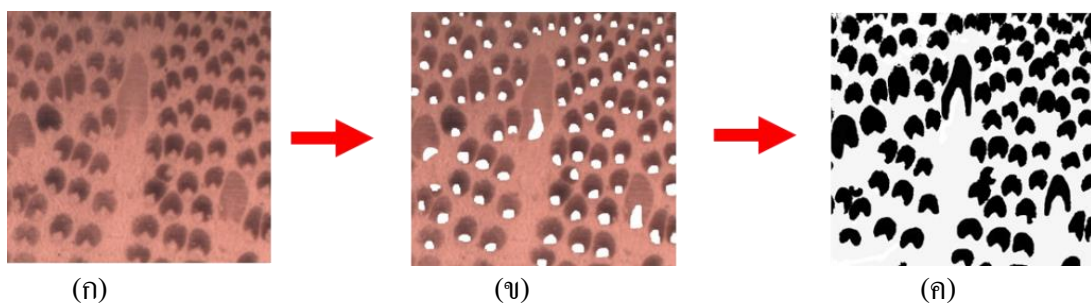
รูปที่ 10 การสุ่มตัดไม้ปาล์มน้ำมันเพื่อการศึกษาลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างระดับจุลภาค (ก) การสุ่มเนื้อไม้ปาล์มน้ำมัน (ข) ตัดเนื้อไม้หนา 1 เซนติเมตร (ค) แบ่งตัดไม้ปาล์มน้ำมันให้มีขนาด $1 \times 1 \times 1$ เซนติเมตรเรียงตามลำดับจากบริเวณใกล้เปลือกเข้าสู่ใจกลางลำต้น



รูปที่ 11 การแบ่งส่วนของลำต้นปาล์มน้ำมันเพื่อวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดในน้ำเลี้ยงลำต้น และเพื่อการหาองค์ประกอบทางเคมี

การหาปริมาตรของเส้นใย (Volume fraction of fiber; V_f)

ทำภาพปรับภาพที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดสะท้อนแสงที่ต่อกับชุดบันทึกภาพที่กำลังขยาย 31X ให้เป็นรูปขาวดำด้วยโปรแกรมแต่งรูป Photoshop CS5 ดังรูปที่ 12



รูปที่ 12 ขั้นตอนการปรับภาพเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาตรเส้นใยของไม้ปาล์มน้ำมัน (ก) ภาพถ่ายเนื้อไม้ปาล์มน้ำมันด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดสะท้อนแสง (ข) ภาพไม้ปาล์มน้ำมันหลังการใช้โปรแกรมโฟโต้ช็อปลบส่วนของท่อลำเลียงออก (ค) ภาพไม้ปาล์มน้ำมันหลังการใช้โปรแกรมโฟโต้ช็อปแต่งเป็นภาพขาวดำ

จากนั้นใช้โปรแกรม Mathematica เวอร์ชัน 5 ในการประมวลผลและคำนวณหาค่าปริมาตรของเส้นใยในไม้ปาล์มน้ำมันจากสมการ

$$V_f = \frac{P_B}{P_{BW}} \times 100\%$$

เมื่อ V_f คือ ปริมาตรของเส้นใย

P_B คือจำนวนฟีกเซลที่เป็นเส้นใย (สีดำ)

P_{BW} คือจำนวนฟีกเซลทั้งหมด (รวมฟีกเซลทั้งขาวและดำ)

โดยที่ค่าสัดส่วนของเส้นใยที่คำนวณได้จะอยู่ในรูปเปอร์เซ็นต์สัดส่วนปริมาตรของเส้นใย

4.3 การหาค่าประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมัน

1) วิธีการหาปริมาณสารแทรก (extractive free) ตามมาตรฐาน TAPPI T264-om 88

โดยการล้างทำความสะอาดชุดสกัดและขวดกักกลม แล้วนำไปอบให้แห้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างผงไม้อบแห้งมวล 10 กรัม (บันทึกผลถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในหลอดกระดาษกรอง และติดตั้งชุดการทดลอง ทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล: เบนซีน (1:2) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นแยกตัวทำละลายออกโดยการกรองตัวอย่างด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ ทำการล้างตัวอย่างไม้ด้วยเอทานอลเพื่อแยกเบนซีนออก นำตัวอย่างกลับไปทำการรีฟลักซ์ต่อโดยใช้ เอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หรือนานกว่านั้นจนเอทานอลมีสีใส การสกัดพยายามรักษาอัตราเร็ว 4 รอบต่อชั่วโมง ไว้เป็นอย่างดี กรองตัวอย่างอีกครั้งและล้างตัวทำละลายออกโดยใช้น้ำกลั่น ใส่ตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และใส่น้ำกลั่นเดือด 500 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองและล้างด้วยน้ำร้อน 500 มิลลิลิตร ปล่อยให้แห้งในอากาศ อบตัวอย่างในเตาอบที่อุณหภูมิ 102 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนมวลคงที่ สามารถคำนวณหาปริมาณสารแทรก จากสมการ

$$\text{Extractive (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\%$$

โดยที่ Extractive คือ ปริมาณสารแทรก (เปอร์เซ็นต์)

M_1 คือ มวลแห้งของไม้ตัวอย่างก่อนสกัดสารแทรก (กรัม)

M_2 คือ มวลแห้งของไม้ตัวอย่างหลังสกัดสารแทรก (กรัม)

2) วิธีการหาปริมาณไฮโดรเซลลูโลส ทำการทดลองตามวิธี Acid chlorite ของ Browning ใน Method of wood chemistry (TAPPI Section, January 10, 1946)

ทำการชั่งผงไม้ที่ผ่านการสกัดสารแทรกแล้ว 2.5 กรัม ที่ผ่านการอบไล่ความชื้นและ น้ำหนักคงที่แล้ว มาชั่งน้ำหนัก ด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลความละเอียด 4 ตำแหน่ง จดบันทึกข้อมูลไว้ หลังจากนั้นถ่ายผงไม้ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงในขวดรูปชมพู่ 150 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 0.2 มิลลิลิตร และซิงโครเดียมคลอไรด์ 2.0 กรัมใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ตามลำดับ นำขวดรูปชมพู่ไปตั้งในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70-80 องศาเซลเซียส เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 0.2 มิลลิลิตร และซิงโครเดียมคลอไรด์ 1.0 กรัมใส่ลงในขวดรูปชมพู่ตามลำดับ ทุกๆ ชั่วโมง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หรือจนกว่าตัวอย่างผงไม้จะเปลี่ยนเป็นสีขาว เมื่อครบเวลากำหนด นำขวดรูปชมพู่ไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง เพื่อให้แก๊สพิษลดการฟุ้งกระจายลง นำ

ตัวอย่างผงไม้ไปกรองผ่านถ้วยแก้วกรองโดยจะต้องชั่งน้ำหนักถ้วยแก้วกรองด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลความละเอียดสูง 4 ตำแหน่งไว้ก่อน ล้างตัวอย่างผงไม้ด้วยน้ำกลั่น สังเกตผงไม้มีสีขาวสะอาดดีแล้วจึงใช้อะซิโตนประมาณ 100 มิลลิลิตร ล้างซ้ำอีกครั้ง นำผงไม้ไปอบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลความละเอียดสูง 4 ตำแหน่ง และนำค่าต่างๆ ที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณโฮโลเซลลูโลสจากสมการ

$$\text{Holocellulose (\%)} = \frac{\text{Holocellulose (g)}}{\text{Extractive free wood (g) + Extractive (g)}} \times 100\%$$

โดยที่ Holocellulose คือ มวลของโฮโลเซลลูโลส(กรัม)

Extractive free wood คือ มวลแห้งของไม้ตัวอย่างที่สกัดสารแทรกแล้ว (กรัม)

Extractive คือ มวลแห้งสารแทรกที่มีอยู่ในไม้ตัวอย่างที่ถูกล้างออก (กรัม)

3) วิธีการหาปริมาณแอลฟาเซลลูโลส คัดแปลงตามมาตรฐาน TAPPI 203 cm-99

ทำการชั่งโฮโลเซลลูโลสปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 25 มิลลิลิตร กวนผสมให้เข้ากัน และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำตัวอย่างไปกรองผ่านถ้วยแก้วกรองที่ผ่านการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลความละเอียดสูง 4 ตำแหน่งไว้ก่อนแล้ว จากนั้นนำกากที่เหลือในถ้วยกรองมาผสมกับกรดอะซิติกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการกรองตัวอย่างอีกครั้งด้วยถ้วยแก้วกรอง และล้างด้วยน้ำร้อนปริมาณ 1 ลิตร อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลความละเอียดสูง 4 ตำแหน่ง และนำค่าต่างๆ ที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอลฟาเซลลูโลสจากสมการ

$$\alpha\text{-cellulose (\%)} = \frac{\alpha\text{-cellulose (g)} \times (\% \text{ holocellulose})}{\text{Holocellulose (g)}} \times 100\%$$

โดยที่ α -cellulose คือ มวลของเซลลูโลส(กรัม)

% holocellulose คือ ปริมาณโฮโลเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)

Holocellulose คือ มวลแห้งของโฮโลเซลลูโลสที่ใช้ (กรัม)

4) วิธีการหาปริมาณลิกนิน ตามมาตรฐาน TAPPI T222-om88

ทำการชั่งตัวอย่างผงไม้ที่ปราศจากสารแทรก 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร วางบีกเกอร์ลงในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นค่อยๆ เติมนกรดซัลฟูริก 72 เปอร์เซ็นต์ ที่แช่เย็นไว้ลงไป 15 มิลลิลิตร ขณะที่เติมนกรดให้วางบีกเกอร์ในอ่างน้ำแข็งและคนด้วยแท่งแก้วตลอดเวลาจนกระทั่งสารละลายกระจายตัวทั่วผงไม้ ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา และควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 20 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พร้อมคนสารละลายอย่างสม่ำเสมอทุกๆ 15 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 1,000

มิลลิลิตร และถ่ายสารละลายจากบีกเกอร์ลงในขวดก้นกลมและใช้กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ล้างข้างบีกเกอร์และเทลงในขวดก้นกลม จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวมเท่ากับ 575 มิลลิลิตร ทำการต้มให้เดือด เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (ต้องคอยเติมน้ำเพื่อรักษาระดับน้ำให้คงที่) หลังจากนั้นเทสารละลายทั้งหมดลงในบีกเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน กรองตัวอย่างผ่านด้วยแก้วกรองที่ทราบน้ำหนักแล้ว ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำออกมาทำให้เย็นลงในโถดูดความชื้นและนำไปชั่งน้ำหนักรวมของถ้วยแก้วกรองและลิกนิน สามารถคำนวณหาปริมาณลิกนิน จากสมการ

$$\text{Lignin (\%)} = \frac{\text{Lignin (g)}}{\text{Extractive free wood (g) + Extractive (g)}} \times 100\%$$

โดยที่ Lignin คือ มวลของลิกนิน (กรัม)

Extractive free wood คือ มวลแห้งของไม้ตัวอย่างที่สกัดสารแทรกแล้ว (กรัม)

Extractive คือ มวลแห้งสารแทรกที่มีอยู่ในไม้ตัวอย่างที่ถูกสกัดออก (กรัม)

5) การวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดในน้ำคั้นลำต้นปาล์มน้ำมัน โดยวิธี Total sugar Phenol-sulfuric method (Wang et al., 2009)

ทำการปิเปตสารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐานปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ตารางที่ 3) ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมฟีนอลเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 0.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วทิ้งไว้ 3 นาที เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว โดยปล่อยให้ผิวหน้าของของเหลวโดยตรงจะทำให้การผสมเกิดขึ้นได้ดีกว่าการค่อยๆ ปล่อยให้ข้างหลอด จากนั้นทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรโดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลนด์ (blank) และสารมาตรฐานปริมาณน้ำตาลได้โดยการเทียบผลการจากกราฟ

$$\text{Glucose (mg/l)} = \frac{\text{OD}_{490 \text{ nm}} \times \text{dilutionfactor}}{\text{slope}}$$

โดยที่ Glucose คือ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$\text{OD}_{490 \text{ nm}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

Dilutionfactor คือ อัตราการเจือจาง

Slope คือ ค่าความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลที่วัด

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณกลูโคสในการทำกราฟมาตรฐาน

Tube	Water (ml)	Sample (ml)	Glucose (ml)	Standard
1. Blank	1.00	-	-	
2. Standard # 1	0.98	-	0.02	
3. Standard # 2	0.96	-	0.04	
4. Standard # 3	0.94	-	0.06	
5. Standard # 4	0.92	-	0.08	
6. Test	-	1.00	-	

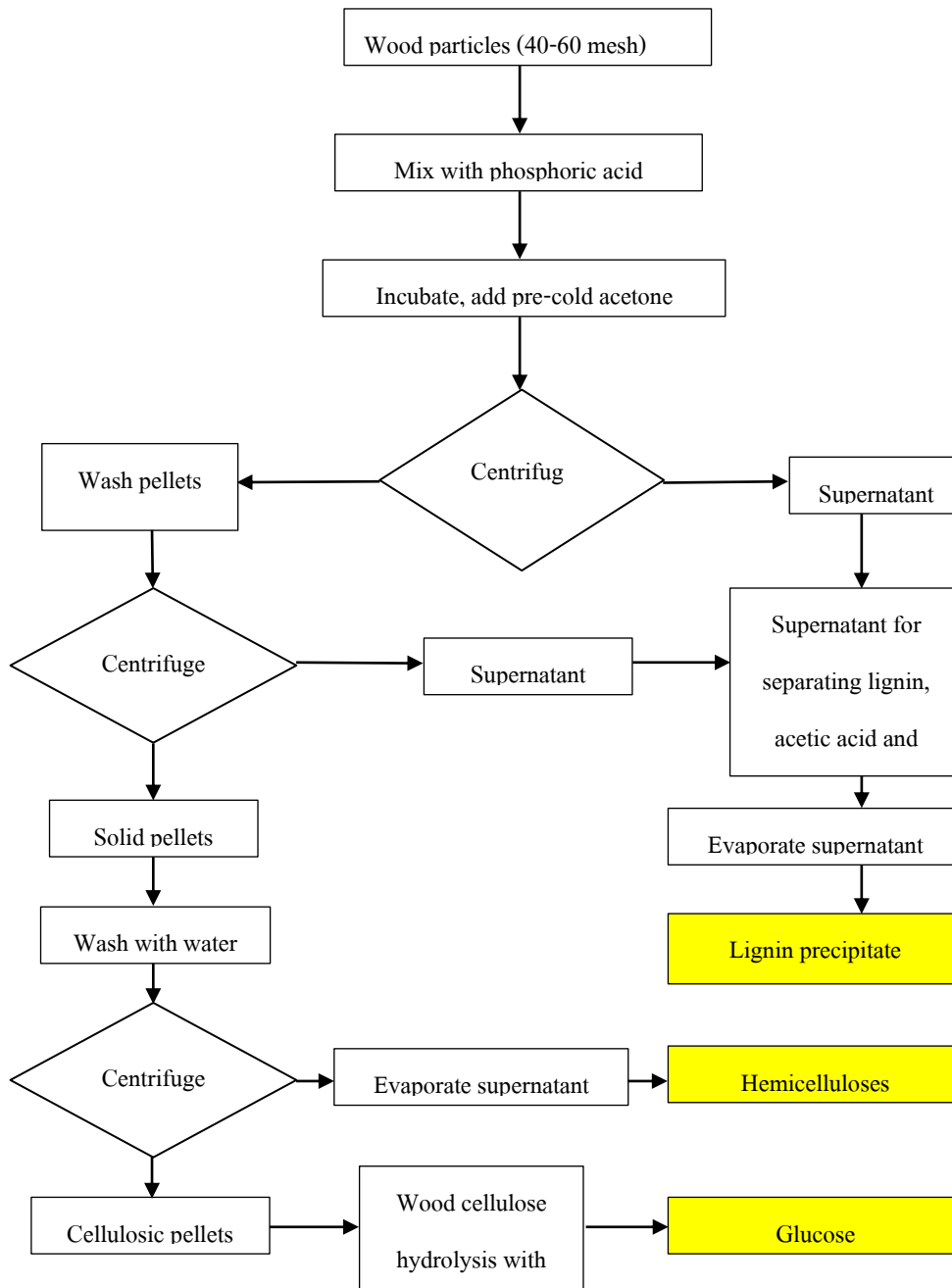
4.4 การผลิตน้ำตาลกลูโคสจากไม้ปาล์มน้ำมัน

1. การปรับสภาพไม้ปาล์มน้ำมัน

เตรียมไม้ปาล์มน้ำมัน อายุ 25 ปี ที่ได้จากการสุ่มจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ให้มีขนาด 40-60 mesh แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักคงที่ ทำการสกัดสารแทรกของไม้ปาล์มน้ำมันด้วยน้ำกลั่น สกัดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำไม้ตัวอย่างที่สกัดสารแทรกแล้วไปอบอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักคงที่ ทำการปรับสภาพโดยใช้กรดฟอสฟอริก เข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 8 มิลลิลิตร ต่อไม้แห้ง 1 กรัม ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ เป็นเวลา 20 วินาที จากนั้น นำไปล้างด้วยอะซิโตน เพื่อเอาลิกนินออก แล้วล้างด้วยน้ำอีกครั้งเพื่อนำเฮมิเซลลูโลสออกโดยดัดแปลงวิธีจาก Zhang *et al.* (2007) อ้างโดย Cherdchim. (2010) แสดงดังรูปที่ 13 จากนั้นนำเซลลูโลส (cellulosic pellets) ที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนกว่าน้ำหนักคงที่

2. การย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์

ชั่งตัวอย่างเซลลูโลส (Cellulosic pellet) 100 มิลลิกรัม มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้การเขย่า 200 rpm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นสุ่มสารละลายหลังจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มา 1 มิลลิลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงเอาส่วนใส (supernatant) มาวัดปริมาณน้ำตาลวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร



รูปที่ 13 แผนผังการปรับสภาพไม้โดยใช้กรดฟอสฟอริกการย่อยสลายโดยเอนไซม์ และผลิตภัณฑ์ที่ได้
ที่มา: Cherdchim (2010)

3. การวัดน้ำตาลกลูโคสด้วยชุด Glucose (GO) assay kit (GAGO-20)

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ดังตารางที่ 4 ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเริ่มใส่ assay reagent ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ในหลอดที่ 1 เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นก็ใส่ในหลอดถัดไปโดยระวังไม่ให้ระยะห่างในการใส่ assay reagent เกินช่วง 30-60 วินาที ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศา

เซลล์ยีส จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม 2.0 มิลลิลิตร ของ กรดซัลฟูริก เข้มข้น 12 นอโมลิตี ลงในแต่ละหลอด ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละหลอดด้วยความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณสารในการทำการกราฟมาตรฐานและทดสอบของ GAGO-20

Tube	Water (ml)	Sample (ml)	Glucose Standard (ml)
1. Reagent Blank	1.00	-	-
2. Standard # 1	0.98	-	0.02
3. Standard # 2	0.96	-	0.04
4. Standard # 3	0.94	-	0.06
5. Standard # 4	0.92	-	0.08
6. Test	-	1.00	-

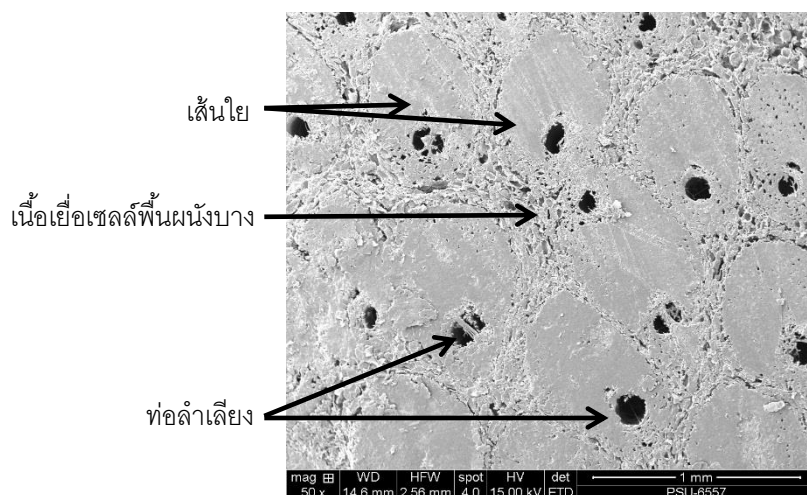
4.5 การหมักน้ำตาลเพื่อให้ได้ผลผลิตเอทานอล

การหมักน้ำตาลด้วยยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เพื่อได้ผลผลิตเป็นเอทานอล โดยการดัดแปลงการทดลองตามวิธีของ Itoh et al. 2003 โดยการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Nutrient media) ซึ่งเตรียมจาก $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/l, yeast extract 2g/l ส่วน Media สำหรับการหมัก (Simultaneous scarification and fermentation; SSF) เตรียมใน 0.05 M Na-citrate buffer pH 5.0 ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 4U/ml และ yeast 10% (w/v) โดยใช้ Substrate 0.5 g ของแข็งแห้ง หรือ 0.5 ml ของเหลว ในหลอดทดลองขนาด 20 ml ปริมาตร 10 ml (Nutrient media; 5 ml และ SSF media 5 ml) incubate ที่ 37°C 150 rpm shaking เป็นเวลา 4 วัน ในกระบวนการนี้จะศึกษาเทคโนโลยีการหมักสมัยใหม่ที่มีประสิทธิภาพต่อการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล ซึ่งได้กล่าวไว้แล้วในความสำเร็จ หลักการ และเหตุผลของโครงการวิจัยว่าต้นปาล์มน้ำมันมีองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นแป้งและน้ำตาลอิสระสูง ซึ่งเป็นผลดีต่อการนำองค์ประกอบทางเคมีดังกล่าวมาเปลี่ยนเป็นเอทานอลในกระบวนการนี้ได้เช่นกัน สุดท้ายเป็นการวัดปริมาณเอทานอลที่ได้ด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography) ที่ดัดแปลงตามวิธีของ Itoh et al. 2003 โดยการ Pipet สารละลายที่ได้จากการหมักตัวอย่างละ 1 ml ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 15,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที นำของเหลวใส (Supernatant) ที่ได้ไปวัดปริมาณเอทานอลเทียบกับกราฟเอทานอลมาตรฐานด้วยเครื่อง GC ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

5. ผลการทดลองและวิจารณ์

5.1 สมบัติพื้นฐานของไม้ปาล์มน้ำมัน

ไม้ปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการทดลองเตรียมจากต้นปาล์มน้ำมันที่มีอายุประมาณ 25-30 ปี สุ่มตัดจากพื้นที่ตำบลมะขามเตี้ย อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยนำตัวอย่างปาล์มน้ำมันมาวัดความยาวของลำต้นจากโคนถึงปลายเพื่อวัดความสูงของทุกต้น นำไม้ปาล์มน้ำมันมาตัดที่ตำแหน่งกลางลำต้น ให้มีความยาวตามต้องการเพื่อสุ่มเป็นตัวแทนของชิ้นไม้จากแต่ละต้น จากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น จากการสุ่มวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยกลางลำต้นมีค่าเฉลี่ย 50.20 เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ยวัดได้ 15-18 เมตร ปาล์มน้ำมันมีลักษณะลำต้นตรง ไม่มีกิ่งแขนง ลักษณะเดียวกับต้นตาล และมีการจัดเรียงตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงเช่นเดียวกับไม้ไผ่ กล่าวคือมีกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงหนาแน่นบริเวณเปลือกและลดหลั่นลงไปสู่ชั้นในของเนื้อไม้ มีลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคแบบไม่มีพอร์ทั่วไป (รูปที่ 14) โครงสร้างของเนื้อไม้ปาล์มน้ำมันประกอบด้วย กลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงซึ่งทำหน้าที่ในการลำเลียงและให้ความแข็งแรงแก่ลำต้น และเนื้อเยื่อเซลล์ผนังบางทำหน้าที่ในการสะสมอาหาร

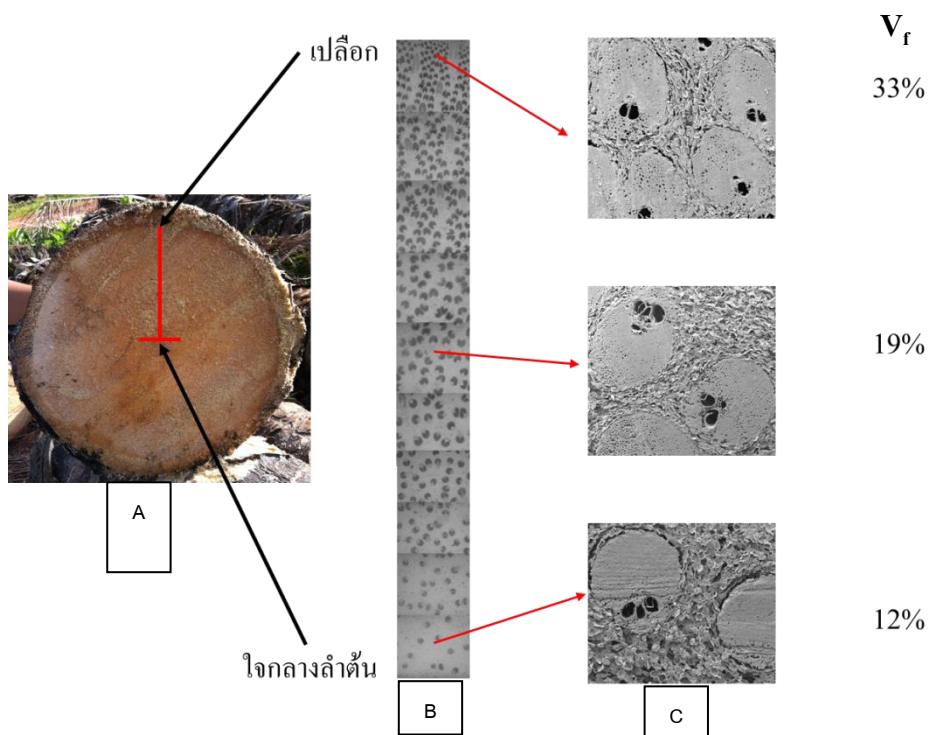


รูปที่ 14 การจัดเรียงตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงในไม้ปาล์มน้ำมัน อายุ 25-30 ปี ที่ตัดจากระดับความสูงจากพื้นดิน 1.50 เมตร ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่กำลังขยาย 50X

จากการถ่ายภาพชิ้นไม้ปาล์มน้ำมันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เพื่อศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน พบว่าไม้ปาล์มน้ำมันมีลักษณะเป็นวัสดุประกอบ (composite materials) ที่ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่ให้ความแข็งแรง คือกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียง ที่ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเซลล์ผนังบาง ซึ่งทำหน้าที่ให้ความยืดหยุ่นและดูดซับแรงภายนอกที่มากระทำกับต้นปาล์มน้ำมัน ปาล์มน้ำมันจึงดำรงชีวิตอยู่ในธรรมชาติด้วยโครงสร้างที่เป็นวัสดุประกอบที่ให้ทั้งความแข็งแรงและความยืดหยุ่นดังกล่าว เซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงฝังตัวอยู่ในเซลล์ผนังบาง ซึ่งกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียง ประกอบด้วย เส้นใย (fiber) เซลล์เนื้อเยื่อผนังบาง (parenchymatous ground tissues) และท่อลำเลียง (vessel) ดังแสดงในรูปที่ 14

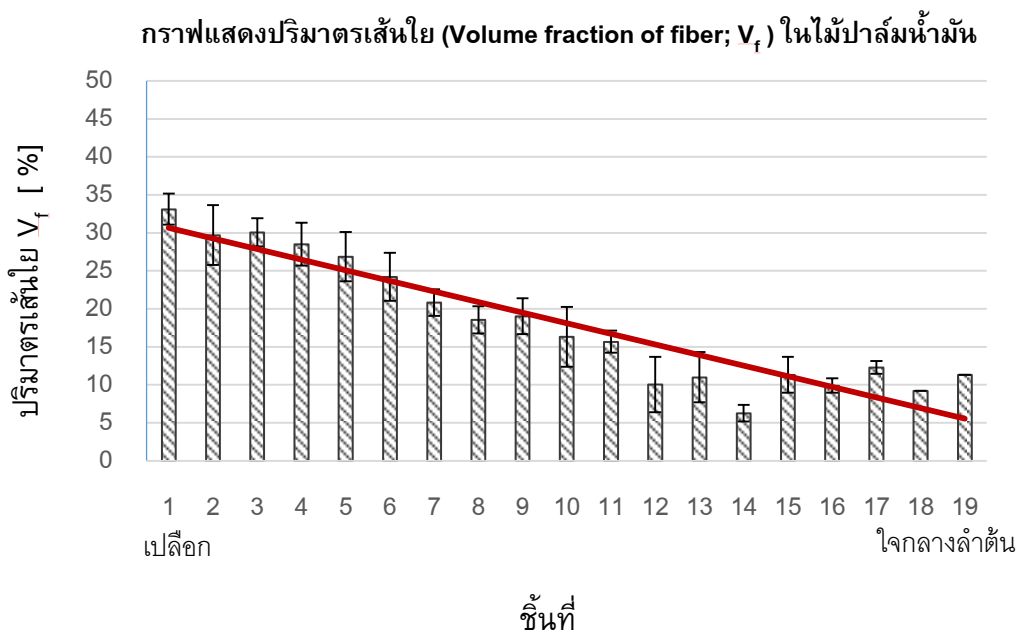
5.2 ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมัน

นำชิ้นตัวอย่างไม้ปาล์มน้ำมัน (รูปที่ 15A) ที่เหลือจากการศึกษาลักษณะทางกายภาพมาศึกษาลักษณะทางกายวิภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสะท้อน (Reflected Light Microscope) ที่กำลังขยาย 31X ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี และศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) ที่กำลังขยาย 50X ณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จากการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมันด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสะท้อน เพื่อศึกษาการจัดเรียงตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงจากเปลือกถึงเนื้อไม้ด้านในของไม้ปาล์มน้ำมัน พบว่าการจัดเรียงตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงกระจายอยู่ในเนื้อเยื่อเซลล์พื้นผนังบาง ที่บริเวณเปลือก กลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงมีขนาดเล็ก รูปร่างคล้ายรูปไข่ และมีความหนาแน่นมากกว่าบริเวณเนื้อไม้ด้านใน มีเนื้อเยื่อเซลล์พื้นผนังบางแทรกอยู่เพียงเล็กน้อย บริเวณเนื้อไม้ด้านในของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงมีขนาดใหญ่ รูปร่างมีลักษณะกลม กระจายตัวมาก และมีเนื้อเยื่อเซลล์พื้นผนังบางแทรกตัวอยู่มากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 15B และ 15C



รูปที่ 15 การจัดเรียงตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงจากเปลือกถึงเนื้อไม้ด้านในลำต้นของไม้ปาล์มน้ำมันที่ระดับความสูงจากพื้น 1.50 เมตร A) ภาคตัดขวางของลำต้นไม้ปาล์มน้ำมัน B) ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสะท้อนของการจัดเรียงตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงจากเปลือกสู่ใจกลางลำต้น C) ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดแสดงรูปร่างของกลุ่มเซลล์เส้นใยแล้วท่อลำเลียง V_f : volume fraction of fiber

ผลจากการศึกษาไม้ปาล์มน้ำมัน (ความหนาประมาณ 19 ซม.) ด้วยวิธีการวิเคราะห์หาปริมาตรเซลล์เส้นใยด้วยโปรแกรม Mathematica เวอร์ชัน 5.0 เพื่อดูการกระจายตัวของกลุ่มเซลล์เส้นใยที่ตำแหน่งต่างๆ 1 เซนติเมตร โดยส่วนของเนื้อไม้มีกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงกระจายอยู่ในกลุ่มเซลล์พาราเรนาโคมา และพบกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงมีความหนาแน่นสูงที่บริเวณใกล้เปลือกมากกว่าใจกลางลำต้น ลักษณะเช่นนี้จะทำให้ไม้ปาล์มน้ำมัน มีความแข็งแรง ทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น โน้ม เอียง เอน ได้โดยลำต้นไม่แตกหัก สัดส่วนปริมาตรเส้นใยไม้ปาล์มน้ำมันลดลงแบบเชิงเส้นจากเปลือกสู่ใจกลางลำต้น โดยในบริเวณใกล้เปลือก ส่วนกลางและใจกลางลำต้น มีสัดส่วนปริมาตรของเส้นใยเฉลี่ย เท่ากับ 33.12 เปอร์เซ็นต์ 18.55 เปอร์เซ็นต์ และ 12.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 15C และ รูปที่ 16)

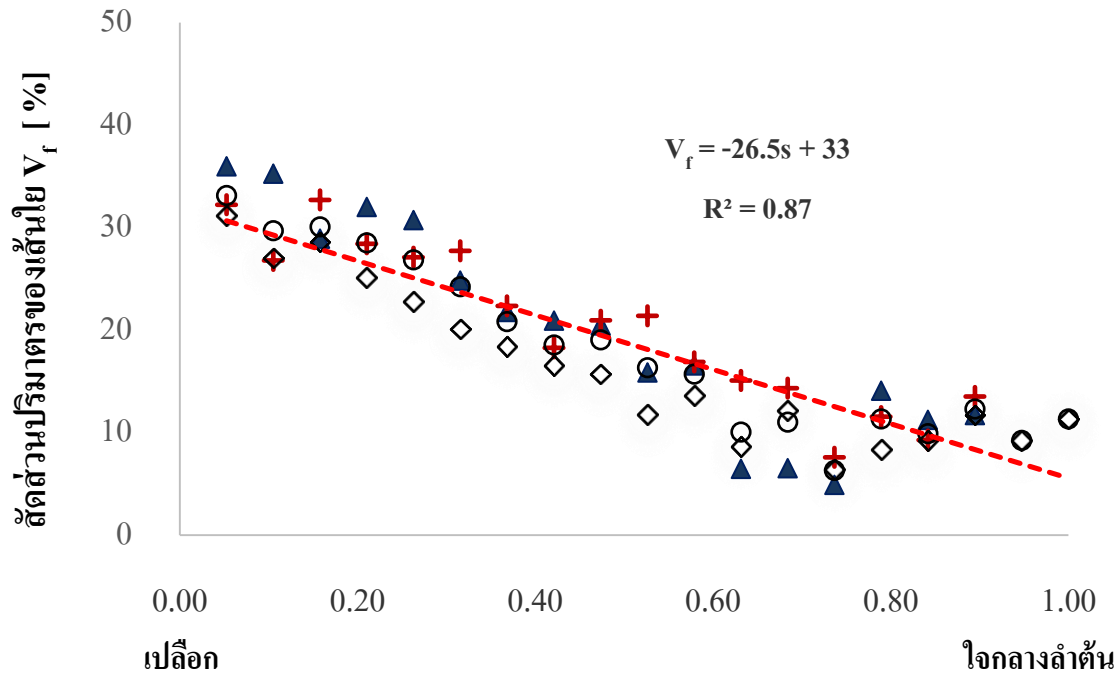


รูปที่ 16 สัดส่วนปริมาตรของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงจากเปลือกถึงเนื้อไม้ด้านในลำต้นของไม้ปาล์มน้ำมันที่ระดับความสูงจากพื้น 1.50 เมตร ชันตัวอย่างหนาจากเปลือกสู่ใจกลางลำต้นประมาณ 19 เซนติเมตร ศึกษาด้วยโปรแกรม Mathematica เวอร์ชัน 5.0

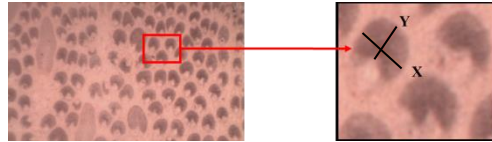
การศึกษาสัดส่วนปริมาตรของเส้นใยตามแนวรัศมี โดยกำหนดเงื่อนไขของการวัดสัดส่วนปริมาตรของเส้นใยจากผิวด้านหนึ่งถึงผิวอีกด้านของชันตัวอย่างซึ่งนิยามโดยสมการ

$$S = \frac{h - x}{h}$$

เมื่อ S คือสัดส่วนระยะทางจากเปลือกถึงใจกลางลำต้นของไม้ปาล์มน้ำมัน h คือ ความหนาของตัวอย่างไม้ปาล์มน้ำมัน และ x คือระยะทางจากผิวด้านหนึ่งของตัวอย่าง โดยที่เปลือก $S=0$ และใจกลางลำต้น $S=1$ ผลจากการทดลองพบว่าสัดส่วนปริมาตรของเส้นใยของไม้ปาล์มน้ำมันมีค่าลดลงแบบเชิงเส้นตามสมการ $V_f = -26.5S + 33$ โดยมีค่าสูงสุดที่เปลือกประมาณ 33% และใจกลางลำต้นประมาณ 12% (รูปที่ 17)



รูปที่ 17 สัดส่วนปริมาตรของกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงตามแนวรัศมีจากเปลือกถึงเนื้อไม้ด้านในลำต้นของไม้ปาล์มน้ำมันที่ระดับความสูงจากพื้น 1.50 เมตร ขึ้นตัวอย่างหนาจากเปลือกสู่ใจกลางลำต้นประมาณ 19 เซนติเมตร ศึกษาด้วยโปรแกรม Mathematica เวอร์ชัน 5.0



รูปที่ 18 ขนาดรูปร่างของกลุ่มเซลล์เส้นใยของไม้ปาล์มน้ำมันวัดในทิศทางแกน X และ แกน Y

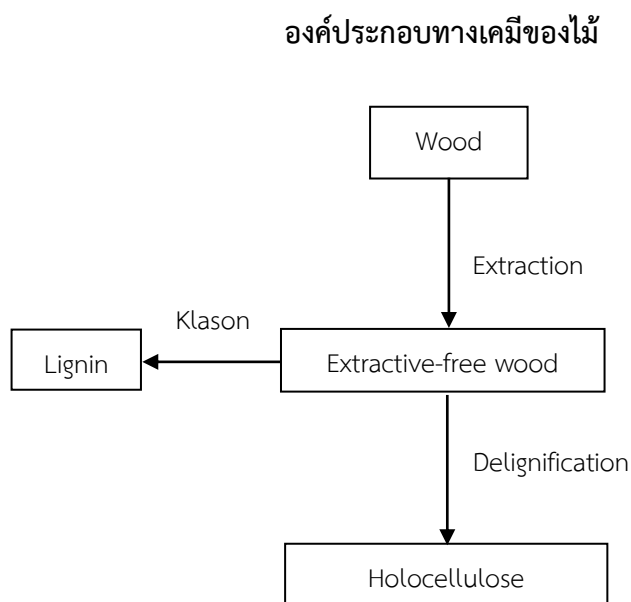
ตารางที่ 5 ขนาดกลุ่มเซลล์เส้นใยเฉลี่ยในไม้ปาล์มน้ำมัน ที่ระดับความสูงจากพื้น 1.50 เมตร ขึ้นตัวอย่างหนาจากเปลือกสู่ใจกลางลำต้นประมาณ 19 เซนติเมตร

ขนาดกลุ่มเซลล์เส้นใยและท่อลำเลียงเฉลี่ยในไม้ปาล์มน้ำมัน (mm)					
บริเวณการตัดตัวอย่าง		ชุดตัวอย่าง A	ชุดตัวอย่าง B	ชุดตัวอย่าง C	เฉลี่ย
ใกล้เปลือก	x	0.10	0.11	0.11	0.11 (0.005)
	y	0.15	0.13	0.15	0.14 (0.009)
ส่วนกลาง	x	0.15	0.14	0.14	0.14 (0.005)
	y	0.23	0.23	0.23	0.23 (0.000)
ใจกลางลำต้น	x	0.14	0.14	0.16	0.15 (0.009)
	y	0.21	0.21	0.22	0.21 (0.005)

ทั้งนี้ไม้ปาล์มน้ำมันมีขนาดรูปร่างของเซลล์เส้นใย (รูปที่ 18) ใหญ่ขึ้นจากเปลือกเข้าสู่ใจกลางลำต้น ซึ่งมีขนาดใหญ่สุดประมาณ 0.23 มิลลิเมตร และเล็กสุดที่เปลือกประมาณ 0.11 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 5

5.3 การหาค่าองค์ประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมัน

ในพืชต่างๆ ไปมีองค์ประกอบหลักทางเคมี (รูปที่ 19) ที่สำคัญประกอบอยู่ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และองค์ประกอบรองที่สำคัญคือ สารแทรก โดยที่เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสรวมกันเรียกว่าโฮโลเซลลูโลส (holocellulose) ถ้าทั้งเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินรวมกันเรียกว่าลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) หรือถ้าทั้งเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และสารแทรกเรียกทั่วไปคือ ไม้ (wood)



รูปที่ 19 ลำดับการทดสอบหาค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อไม้

นำตัวอย่างไม้ปาล์มน้ำมันมาปรับขนาดเป็นผงไม้ขนาด 40-60 mesh เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีคือโฮโลเซลลูโลส ลิกนิน และสารแทรกด้วยมาตรฐาน TAPPI องค์ประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมันโดยประมาณ ประกอบด้วย โฮโลเซลลูโลส 77.77% ลิกนิน 20.93% สารแทรก 20.88% (สารละลายในแอลกอฮอล์-เบนซีน)

การหาปริมาณสารแทรกในไม้ (Wood extractives) ตามมาตรฐาน TAPPI T204-om88

ในการสกัดสารแทรกในไม้ปาล์มน้ำมัน ใช้ผงไม้ปาล์มน้ำมันจากการตัดโค่นต้นปาล์มในตำบลมะขามเตี้ย อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งมีขนาดผงไม้ 40-60 mesh ตามมาตรฐาน TAPPI T204-om88 จากการทดลอง ปริมาณสารแทรกที่ออกมาจากตัวทำละลายสี่ครั้งด้วยกัน ครั้งแรกจากการสกัดสารแทรกด้วยเอทานอล: เบนซีน ในอัตราส่วน 1:2 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร และจากการแยกตัวทำละลายออกโดยการกรองตัวอย่างด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศแล้วทำการล้างตัวอย่างไม้ด้วยเอทานอลเพื่อแยกเบนซีนออก ครั้งที่สองจากการสกัดสารแทรกด้วยเอทานอล 95% ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ครั้งที่สามจากการแยกตัวทำละลายออกโดยการกรองตัวอย่างด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศแล้วทำการล้างตัวอย่างไม้ด้วยน้ำกลั่น ครั้งที่สี่จากการต้มด้วยน้ำและทำการล้างด้วยน้ำร้อน 500 มิลลิลิตรทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) และทำการชั่งน้ำหนักของสารแทรกทั้งสี่ครั้งแล้วนำค่ามารวมกันเป็นปริมาณสารแทรกทั้งหมดที่สกัดได้ ซึ่งปริมาณสารแทรกที่สกัดได้แสดงดังตารางที่ 6 สารแทรกส่วนใหญ่ในไม้ปาล์มน้ำมันสามารถละลายออกมามากที่สุด (0.4831 กรัม) ด้วยสารละลายเอทานอล: เบนซีน ในอัตราส่วน 1:2 รองลงมาคือสามารถละลายในน้ำได้ 0.3284 กรัม ซึ่งปริมาณสารแทรกในไม้ปาล์มน้ำมันมีปริมาณมากถึง 20.88% ถือว่าเป็นไม้ที่มีปริมาณสารแทรกสูง ส่วนหนึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำตาลอิสระและแป้งที่สามารถละลายในน้ำได้ และอีกส่วนเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่ได้อธิบายไว้ในตารางที่ 8

ตารางที่ 6 ปริมาณสารแทรกที่สกัดได้จากตัวอย่างไม้ปาล์มน้ำมัน

ชนิดไม้	ปริมาณสารแทรกที่สกัดได้ (กรัม)					ปริมาณสารแทรก (%)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	รวม	
ไม้ปาล์มน้ำมัน	0.4831	0.2195	0.1268	0.3284	1.1578	20.88

การหาปริมาณไฮโดรคลอไรต์ ตามวิธี Acid chlorite ของ Browning ใน Method of wood chemistry (TAPPI Section, January 10 , 1946)

จากการทดลอง ปริมาณไฮโดรคลอไรต์ที่สกัดได้จากไม้ปาล์มน้ำมัน 77.77% เนื่องจากผงไม้ที่นำมาสกัดเป็นเศษเหลือจากการเกษตรที่มีทุกส่วนของลำต้น ทั้งเปลือกไม้และเนื้อไม้ผสมกันจึงทำให้ค่าที่ได้ค่อนข้างสูงกว่าปกติของไม้ทั่วไป

การวิเคราะห์หาปริมาณลิกนิน ตามมาตรฐาน TAPPI T222-om88

จากการทดลองพบว่าปริมาณลิกนินที่สกัดได้จากไม้ปาล์มน้ำมันมีค่าเท่ากับ 20.93% ซึ่งสรุปได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมันประกอบด้วย สารแทรก 21% โอลิโกลูโคส 78% และลิกนิน 21% (ตารางที่ 7) ในกระบวนการเปลี่ยนเซลลูโลสในไม้ให้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการหมักเป็นไบโอเอทานอล องค์ประกอบต่างๆ ทางเคมีล้วนมีความสำคัญต่อผลผลิตกลูโคสที่ได้ เช่น ปริมาณโอลิโกลูโคสที่มากย่อมสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้มาก ลิกนินหรือสารแทรกซึ่งมีองค์ประกอบพื้นฐานของ phenolic compound อาจมีผลยับยั้งปฏิกิริยาการย่อย (cellulose hydrolysis) ในกระบวนการเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นกลูโคส เป็นต้น ในเบื้องต้นวัสดุไม้ปาล์มน้ำมันเป็นวัสดุที่ถือว่าเป็นวัสดุที่น่าสนใจในการนำมาผลิตเป็นน้ำตาลกลูโคส เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการหมักเป็นไบโอเอทานอลต่อไป

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีในไม้ปาล์มน้ำมัน

	สารแทรก (%)	โอลิโกลูโคส (%)	ลิกนิน (%)
ไม้ปาล์มน้ำมัน	20.88	77.77	20.93

จากการศึกษาปริมาณสารแทรกในไม้ปาล์มน้ำมันจากผงไม้ขนาด 40-60 mesh ตามมาตรฐาน TAPPI T204-om88 ด้วย Soxhlet extractor และวิเคราะห์สารเคมีในสารแทรกโดยใช้ GC-MSMS ณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จากการวิเคราะห์องค์ประกอบสารแทรกของไม้ปาล์มน้ำมัน ปรากฏว่ามีสารประกอบทั้งหมด 16 ชนิด ได้แก่ Phenol, Methyl Methanethiosulfinate, 2-6-Dimethoxy Phenol, 4-hydroxy-3 methoxy (Vanillin), 2-4-Ditert-butylphenol, 4-hydroxy-3 methoxy-phenyl, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy (Syringaldehyde), Acetonsyringone, Hexadecanoic acid, Sinapaldehyde, Heptadecanoic acid, Methyloleate, 9-Octadecanoic acid, Stearic acid, Cholest-5-en-3-ol (Lanol), Stigmasta-5-22-dien-3-ol, และ Cycloartenol ซึ่งมีปริมาณที่แตกต่างกันในเชิงคุณภาพ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 แสดงองค์ประกอบเคมีในสารแทรกของไม้ปาล์มน้ำมัน

No.	Compound	RT	Area (%)
1	Phenol	6.78	0.23
2	Methyl Methanethiosulfinate	6.89	0.10
3	2-6-Dimethoxy Phenol	10.91	0.22
4	4-hydroxy-3 methoxy (Vanillin)	11.69	0.66
5	2-4-Ditert-butylphenol	12.70	0.13
6	4-hydroxy-3 methoxy-phenyl	13.89	0.39
7	4-hydroxy-3,5-dimethoxy (Syringaldehyde)	14.77	0.53
8	Acetonsyringone	16.47	0.15
9	Hexadecanoic acid	17.73	0.96
10	Sinapaldehyde	18.22	0.33
11	Heptadecanoic acid	18.61	0.10
12	9-Octadecanoic acid	19.40	0.87
13	Octadecanoic acid (Stearic acid)	19.56	0.19
14	Cholest-5-en-3-ol (Lanol)	27.06	0.08
15	Stigmasta-5-22-dien-3-ol	27.91	0.46
16	Cycloartenol	28.84	0.08

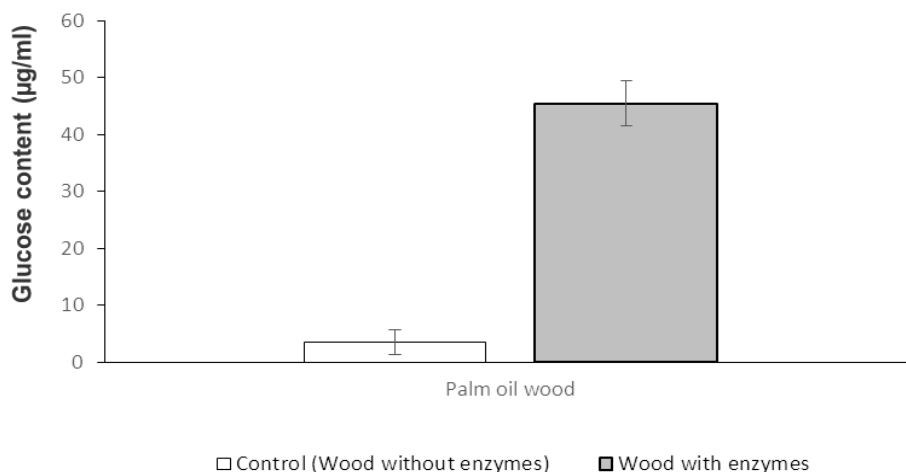
RT: Retention Time (min), Area (%): ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่วัดได้จากการวิเคราะห์เทียบกับสารมาตรฐาน

จากประสบการณ์ของผู้วิจัยพบว่าสารแทรกในไม้ที่อยู่ในรูปองค์ประกอบเคมีพวก Phenolic compounds มีผลต่อการยับยั้งปฏิกิริยา hydrolysis เซลลูโลสเป็นกลูโคส ซึ่งในไม้ปาล์มน้ำมันมีสารประกอบดังกล่าวที่วิเคราะห์พบด้วย GC-ISQMS เช่น Phenol, 2-6-Dimethoxy Phenol, 4-hydroxy-3 methoxy, 4-hydroxy-3 methoxy-phenyl และ 4-hydroxy-3,5-dimethoxy เป็นต้น ซึ่งสามารถกำจัดด้วยยับยั้งของสารแทรกโดยเอนไซม์ร่วม เช่น laccase โดยดำเนินการตามวิธีของ Cherdchim, 2010 ซึ่งในการทดลองได้ทำการสกัดสารแทรกออกก่อนนำผงไม้ปาล์มมาทำการทดลองในส่วนของการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส และการหมักน้ำตาลที่ได้เพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นเอทานอล ดังนั้นผงไม้ซึ่งใช้ในการทดลองจึงปราศจากสารแทรก (Extractives free wood) จึงไม่มีผลของสารแทรกต่อปฏิกิริยาการย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคสดังกล่าว

5.4 การผลิตน้ำตาลกลูโคสจากไม้ปาล์มน้ำมัน

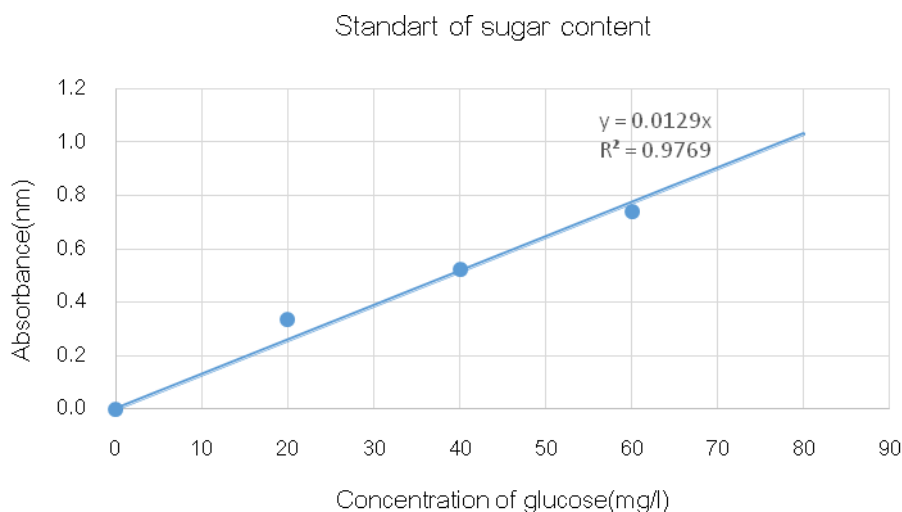
การปรับสภาพไม้ด้วยวิธี Physico-Chemical pretreatment จะมุ่งเน้นวิธีที่สามารถทำได้ง่ายและใช้ทรัพยากรราคาไม่แพงอย่างการใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นน้อยลงจาก 85% เป็น 80% ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 20 วินาที แทนการให้ความร้อนจากอ่างให้ความร้อนที่ต้องใช้เวลาหลายชั่วโมง หลังจากนั้นทำการย่อยเซลลูโลสให้เป็นกลูโคสด้วยเอนไซม์ร่วมเซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส และแลคเคส ในปริมาณที่ลดลงจาก 4U/ml เป็น 2 U/ml (U; unit คือค่าที่บอกปริมาณเอนไซม์ที่เปลี่ยนซับสเตรตจำนวน 1 μ M ให้เป็นผลิตภัณฑ์ได้ในหนึ่งนาที่) จากการทดลองการย่อยเซลลูโลสให้เป็นกลูโคสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส แลคเคส ร่วมกันนั้นทำให้ได้ปริมาณกลูโคสเฉลี่ยในไม้ปาล์มน้ำมัน เท่ากับ 45.50 \pm 3.49 μ g/ml ดังแสดงดังรูปที่ 20

Conversion of cellulose to glucose



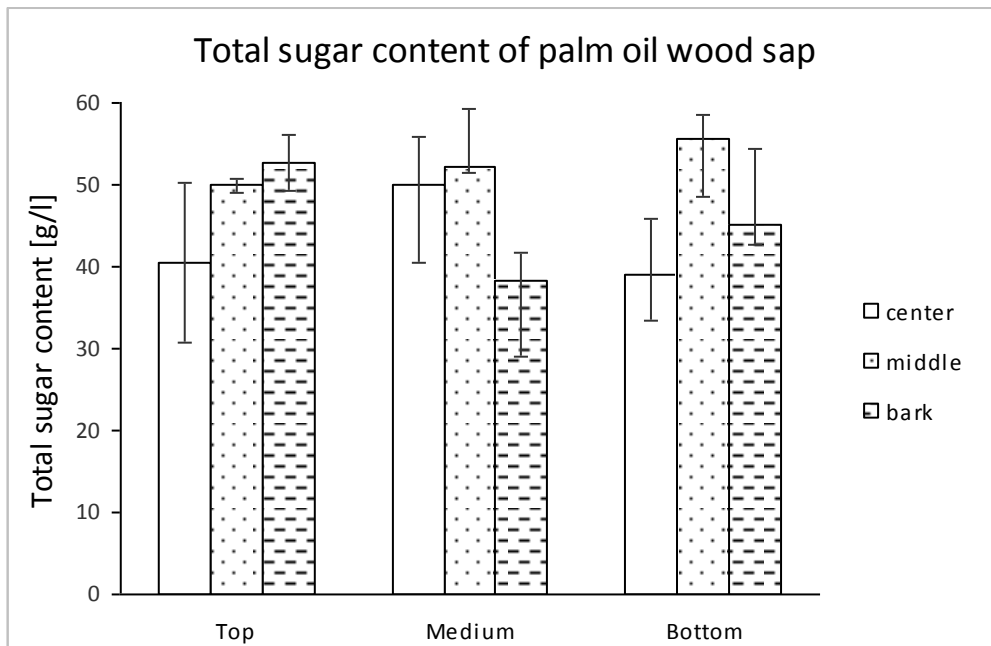
รูปที่ 20 กราฟปริมาณกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส และแลคเคส ร่วมกัน 2 U/ml ในโซเดียมอะซิเตสบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 5.0 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ต่อ เซลลูโลสิค-เพลเลส 100 ไมโครกรัม ภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

จากการหาค่า Slope ของกราฟมาตรฐานโดยใช้กลูโคสเป็นตัวแทนน้ำตาลทั้งหมดได้เท่ากับ 0.0129 ดังรูปที่ 21



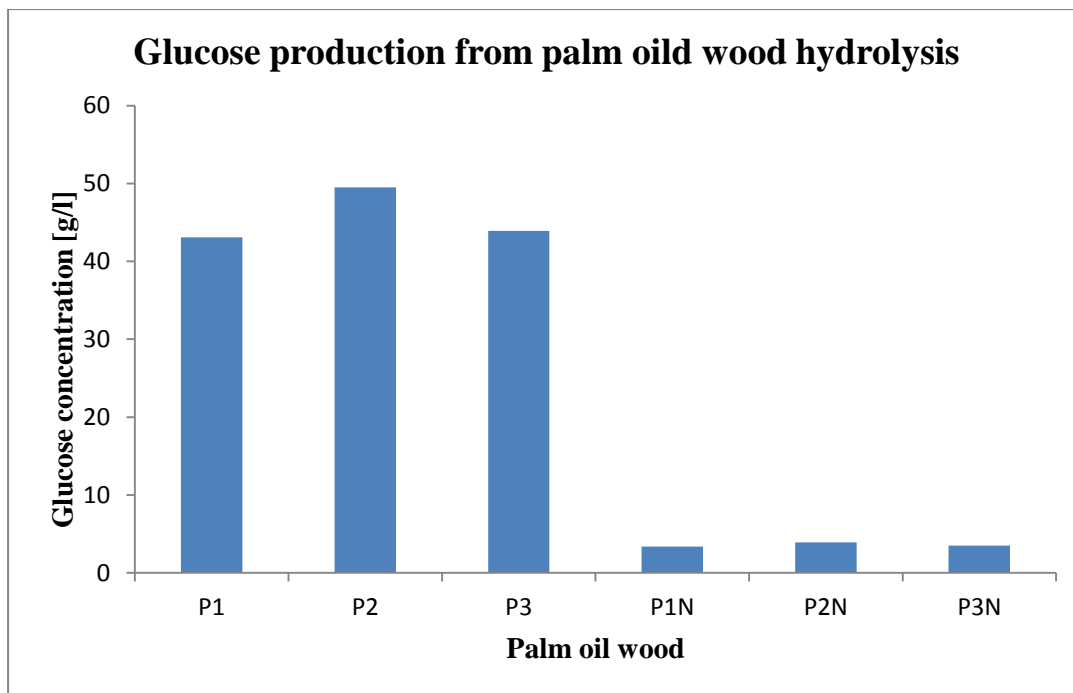
รูปที่ 21 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสเพื่อใช้ในการคำนวณเทียบหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

จากการวัดปริมาณน้ำตาลของต้นปาล์มน้ำมันในส่วนต่างๆ พบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเฉลี่ยของส่วนของต้นปาล์มที่ห่างจากโคนทางใบลงมา 1.5 เมตร (Top) ในบริเวณใจกลางของลำต้น (center) มี 40.45 ± 9.7 กรัมต่อลิตร บริเวณที่อยู่ระหว่างเปลือกกับใจกลางลำต้น (middle) มี 49.89 ± 0.75 กรัมต่อลิตร และบริเวณที่อยู่ใกล้เปลือก (bark) มี 52.62 ± 3.4 กรัมต่อลิตร ส่วนของต้นปาล์มที่อยู่กึ่งกลางลำต้นในบริเวณใจกลางของลำต้นมี 50.11 ± 5.6 กรัมต่อลิตร บริเวณที่อยู่ระหว่างเปลือกกับใจกลางลำต้นมี 52.23 ± 7.1 กรัมต่อลิตร และบริเวณที่อยู่ใกล้เปลือกมี 38.25 ± 9.2 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ห่างจากโคน 1.5 เมตร ในบริเวณใจกลางของลำต้นมี 38.96 ± 6.9 กรัมต่อลิตร บริเวณที่อยู่ระหว่างเปลือกกับใจกลางลำต้นมี 55.55 ± 3.0 กรัมต่อลิตร และบริเวณที่อยู่ใกล้เปลือกมี 45.09 ± 2.3 กรัมต่อลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แสดงดังรูปที่ 22



รูปที่ 22 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในน้ำเลี้ยงต้นปาล์มน้ำมันโดยวิธี Phenol-sulfuric method

จากการทดลองย่อยไม้ปาล์มน้ำมัน (Palm oil wood hydrolysis) ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส และแลคเคส จำนวน 3 ซ้ำ และวัดปริมาณน้ำตาลที่เป็นผลผลิตจากปฏิกิริยา hydrolysis พบว่าน้ำตาลที่ได้มีปริมาณ 40-50 g/l ดังแสดงในรูปที่ 23 หลังจากเก็บน้ำตาลไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ พบว่าปริมาณน้ำตาลลดลงไปกว่า 10 เท่า จากปริมาณเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่าในการผลิตกลูโคส ควรเก็บน้ำตาลกลูโคสนั้นมาใช้ทันทีหลังจากปฏิกิริยา hydrolysis หรือควรเก็บน้ำตาลที่ได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -20 °C เนื่องจากในกระบวนการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C จุลินทรีย์บางชนิดยังมีการเจริญเติบโต จึงเกิดการย่อยน้ำตาลเพื่อเป็นผลผลิตอื่นๆ ทำให้น้ำตาลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์มีปริมาณลดลงมาก

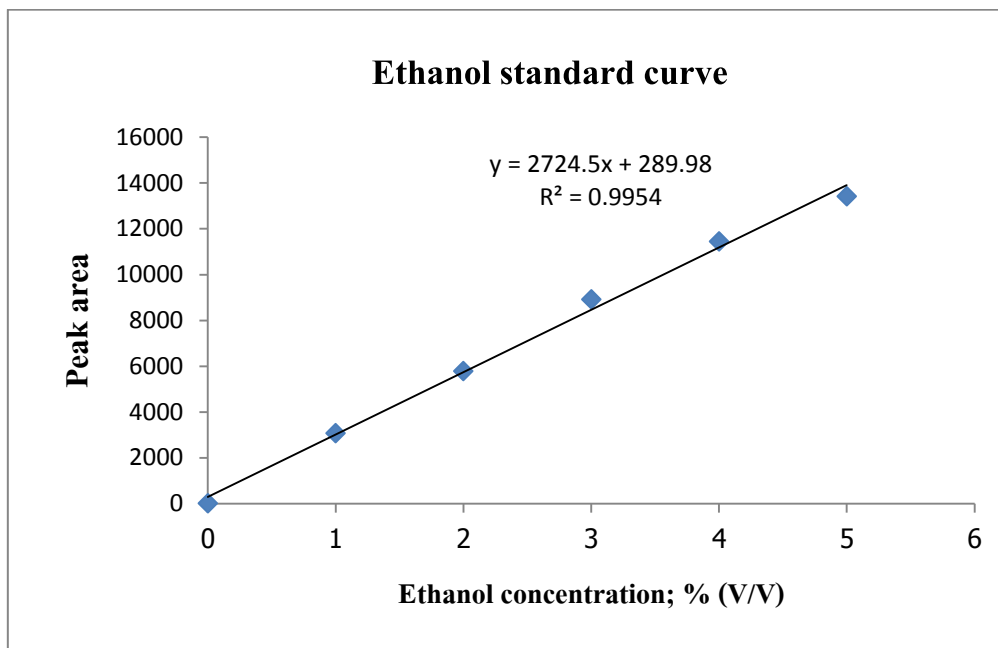


รูปที่ 23 ปริมาณกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส และแลคเคสร่วมกัน 2 U/ml ในโซเดียมอะซิเตสบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 5.0 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ต่อเซลลูโลซิก-เพลเลส 100 ไมโครกรัม ภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (P1, P2, P3 คือปริมาณน้ำตาลที่วัดได้ทันทีหลังปฏิกิริยา hydrolysis; P1N, P2N, P3N คือปริมาณน้ำตาลที่วัดได้หลังปฏิกิริยา hydrolysis และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์)

5.5 การหมักน้ำตาลเพื่อให้ได้ผลผลิตเอทานอล

จากการหมักไม้ปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเคมี-ฟิสิกส์ (กรดฟอสฟอริก 80% และใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟ 700 วัตต์ เป็นเวลา 20 วินาที) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อรา (ราฟลูสีขาว; *Trametes versicolor*, ราฟลูสีน้ำตาล *Gloeophyllum striatum*) และน้ำเลี้ยงที่หีบจากต้นปาล์มน้ำมันด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อได้ผลผลิตเป็นเอทานอล โดยดัดแปลงการทดลองตามวิธีของ Itoh et al. 2003 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient media 5 ml กับ Simultaneous scarification and fermentation; SSF media 5 ml ปริมาตรรวม 10 ml (Nutrient media; 5 ml และ SSF media 5 ml) โดยใช้ไม้ปาล์มน้ำมันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเคมี-ฟิสิกส์ 0.5 g หรือใช้ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อรา 0.5 g หรือใช้น้ำเลี้ยงที่หีบจากต้นปาล์มน้ำมัน 0.5 ml หรือใช้ไม้ปาล์มน้ำมันผสมน้ำเลี้ยงในอัตราส่วน 1:1 (ไม้ปาล์มน้ำมัน 0.25 g ต่อน้ำเลี้ยง 0.25 ml) ในหลอดทดลองขนาด 20 ml แล้ว incubate ที่อุณหภูมิ 37°C เขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 4 วัน แล้ววัดปริมาณเอทานอลที่ได้ด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography) หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการหมักตัวอย่างละ 1 ml ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำของเหลวใส (Supernatant) ที่ได้ไปวัดปริมาณเอทานอลเทียบกับ

กราฟเอทานอลมาตรฐาน จากการหาค่า Slope ของกราฟมาตรฐานเอทานอลโดยใช้เอทานอลเป็นตัวแทนเอทานอลทั้งหมดได้เท่ากับ 2724.5 ดังรูปที่ 24

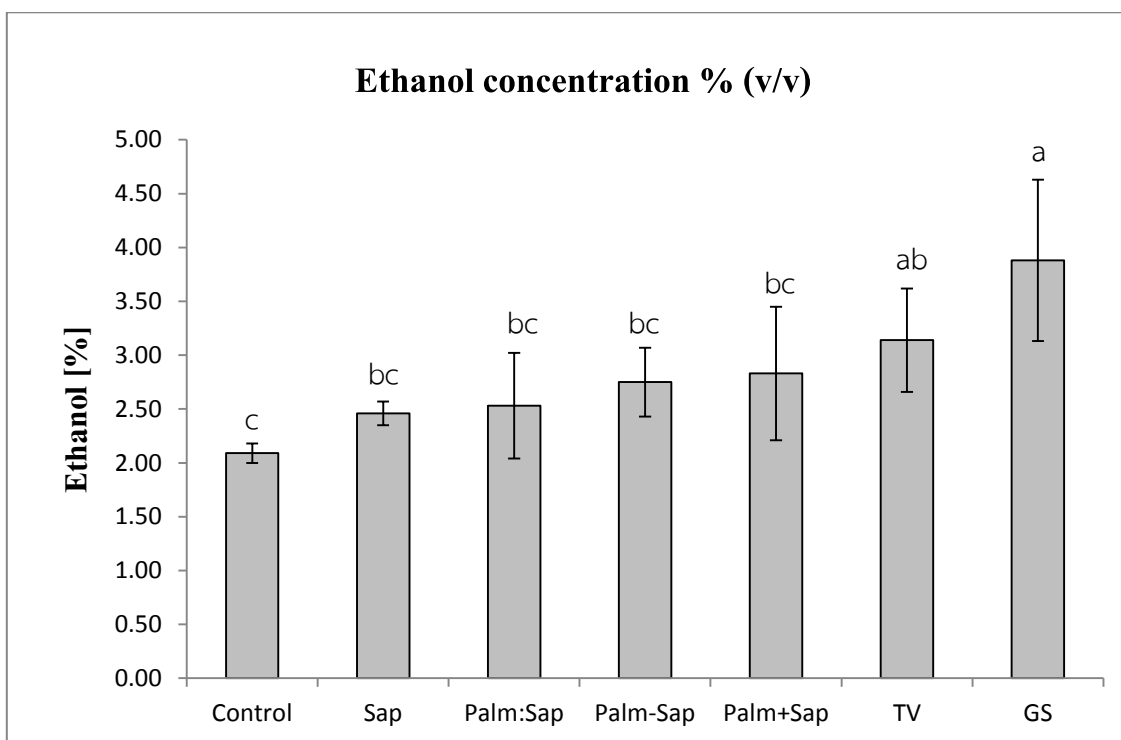


รูปที่ 24 แสดงกราฟมาตรฐานเอทานอลเพื่อใช้ในการคำนวณเทียบหาปริมาณเอทานอลทั้งหมดจากการหมัก

จากการวัดปริมาณเอทานอล (รูปที่ 25) จากการหมักน้ำเลี้ยงลำต้นปาล์มน้ำมัน (Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันผสมน้ำเลี้ยงในอัตราส่วน 1:1 (Palm:Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยงออก (Palm-Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยง (Palm+Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีขาว; *T. versicolor* (TV) และไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีน้ำตาล; *G. striatum* (GS) ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าปริมาณเอทานอลทั้งหมดเฉลี่ยจากการหมักสูงสุดเกือบ 5% ซึ่งปริมาณเอทานอลจากการหมักน้ำเลี้ยงลำต้นปาล์มน้ำมัน มีค่า $2.46 \pm 0.11\%$ ไม้ปาล์มน้ำมันผสมน้ำเลี้ยงในอัตราส่วน 1:1 มีค่า $2.53 \pm 0.49\%$ ไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยงออก มีค่า $2.75 \pm 0.32\%$ ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยง มีค่า $2.83 \pm 0.62\%$ ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีขาว มีค่า $3.14 \pm 0.48\%$ และไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีน้ำตาล มีค่า $3.88 \pm 0.75\%$

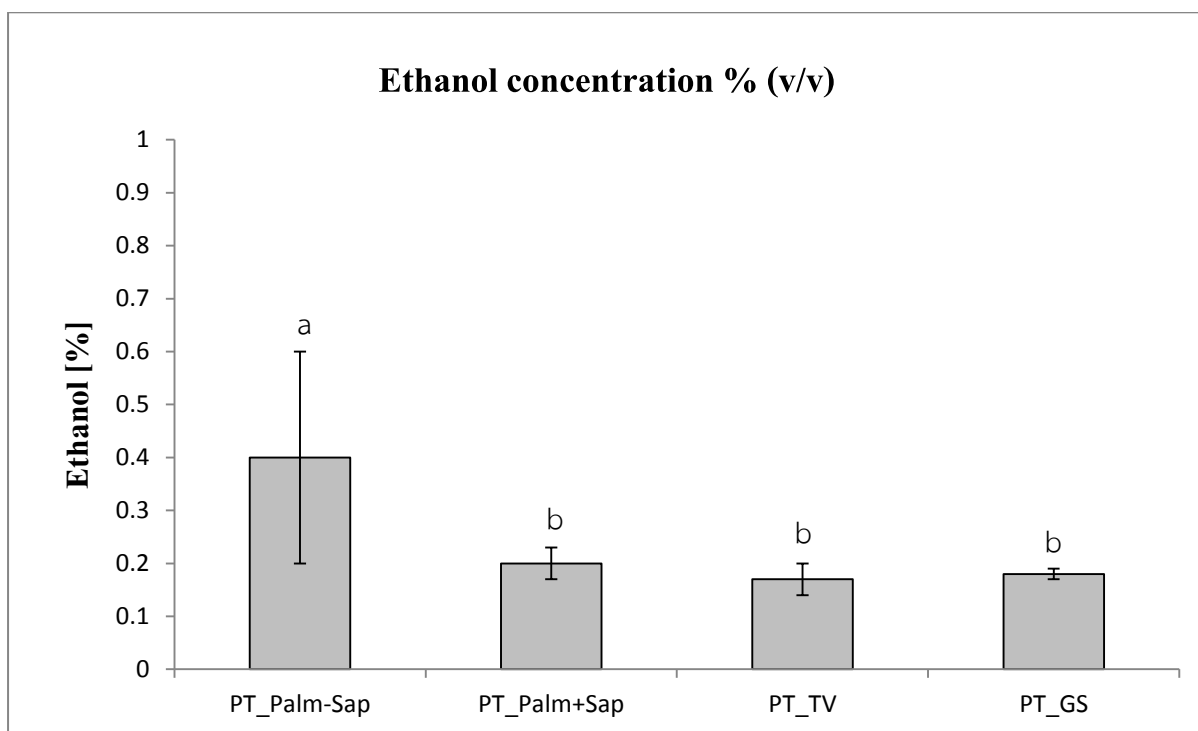
จากรูปที่ 25 จะเห็นว่าการปรับสภาพไม้ปาล์มน้ำมันด้วยเชื้อราฟุมีผลทำให้ปริมาณเอทานอลทั้งหมดเฉลี่ยจากการหมักไม้ปาล์มน้ำมันสูงขึ้นเทียบเท่าการหมักน้ำตาลโดยทั่วไปจากอ้อย (Yamada et al., 2010) ซึ่งเป็นผลมาจากเชื้อราฟุที่มีศักยภาพในการทำลายไม้โดยทั่วไปเข้าไปปรับสภาพองค์ประกอบหลักทางเคมีของไม้ โดยเฉพาะ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ผลที่เกิดกับลิกนินเมื่อเชื้อราสร้างเส้นใยเข้าไปในเซลล์ของไม้เชื้อราฟุสายพันธุ์เชื้อราฟุขาวจะหลั่งเอนไซม์ประเภท Peroxidase เช่น Manganese peroxidase และเอนไซม์ laccase ที่มีฤทธิ์ในการทำลายลิกนินซึ่งเป็นเกราะห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสตามธรรมชาติเมื่อลิกนินถูกทำลาย เอนไซม์ที่มีฤทธิ์ในการย่อยเซลลูโลส เช่น เซลลูเลส (ใช้ในการทดลอง 4 U/ml) จึง

สามารถเข้าไปย่อยสายใยเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น (Cellulose accessibility) ผลผลิตที่ได้จากการย่อยเซลลูโลสคือน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นผลผลิตเริ่มต้นที่ใช้ในการหมักด้วยยีสต์ให้เป็นเอทานอล ผลต่อเซลลูโลสจากการปรับสภาพไม้ปาล์มน้ำมันด้วยเชื้อรา ซึ่งปกติเอนไซม์ประเภท Peroxidase เช่น Manganese peroxidase และเอนไซม์ laccase มีฤทธิ์หลักต่อลิกนิน แต่ก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลลูโลสบางส่วน ซึ่งมีผลทำให้โครงสร้างของเซลลูโลสเปลี่ยนไป เช่นมีน้ำหนักรวมลดลง ทำให้พื้นผิวของเซลลูโลสมีสภาพง่ายต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ เป็นต้น แต่ผลที่เกิดกับเซลลูโลสหลักๆ เป็นผลมาจากเอนไซม์ประเภทเซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส เป็นต้น ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวสามารถผลิตได้จากเชื้อราผู้สายพันธุ์ราผู้สืบน้ำตาล เชื้อราผู้สืบน้ำตาลสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และเบต้ากลูโคซิเดส ที่มีฤทธิ์ในการย่อยเซลลูโลสหรืออนุพันธ์ของเซลลูโลสให้เล็กลงจนเป็นน้ำตาลกลูโคสโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งเป็นผลผลิตน้ำตาลในการหมักด้วยยีสต์ให้เป็นเอทานอลดังกล่าว ผลจากการทดลอง ค่าเฉลี่ยสูงสุดของเอทานอลได้จากการปรับสภาพไม้ด้วยราผู้สืบน้ำตาล รองลงมาคือราผู้สืขาว จากการออกแบบการทดลอง เซลลูโลสที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เซลลูเลส และเบต้ากลูโคซิเดส ได้เป็นกลูโคสจะถูกหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการหมักโดยทั่วไป ในขณะเดียวกัน ไม้ที่ถูกปรับสภาพด้วยราผู้ก็ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ใส่ลงไปในระบบ 4 U/ml มีผลที่เสริมกันทำให้ได้ปริมาณเอทานอลที่มากขึ้นดังกล่าว



รูปที่ 25 ปริมาณเอทานอลจากการหมักน้ำเลี้ยงลำต้นปาล์มน้ำมัน (Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันผสมน้ำเลี้ยงในอัตราส่วน 1:1 (Palm:Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยงออก (Palm-Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยง (Palm+Sap) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราผู้สืขาว; *T. versicolor* (TV) และไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราผู้สืบน้ำตาล; *G. striatum* (GS) ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae*

จากการหมักไม้ปาล์มน้ำมันที่แตกต่างกัน 4 ชนิด (รูปที่ 26) โดยใช้ 1) ไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยง ออก แล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก 80% และใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟ 700 วัตต์ เป็นเวลา 20 วินาที (PT_Palm-Sap) 2) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยง แล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก 80% และใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟ 700 วัตต์ เป็นเวลา 20 วินาที (PT_Palm+Sap) 3) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีขาว *T. versicolor* แล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก 80% และใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟ 700 วัตต์ เป็นเวลา 20 วินาที (PT_TV) และ 4) ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีน้ำตาล *G. striantum* แล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก 80% และใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟ 700 วัตต์ เป็นเวลา 20 วินาที (PT_GS) หลังจากนั้นหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 37°C เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 4 วัน แล้ววัดปริมาณเอทานอล ผลจากการทดลองพบว่าพบว่ามีปริมาณเอทานอลทั้งหมดเฉลี่ยจากการหมักสูงสุดประมาณ 0.5% ซึ่งปริมาณเอทานอลจากการหมักไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยงออกแล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกร่วมกับไมโครเวฟ มีค่า $0.4 \pm 0.2\%$ ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยงแล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกร่วมกับไมโครเวฟ มีค่า $0.2 \pm 0.03\%$ ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีขาวแล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกร่วมกับไมโครเวฟ มีค่า $0.17 \pm 0.03\%$ และไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีน้ำตาลแล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกร่วมกับไมโครเวฟ มีค่า $0.18 \pm 0.01\%$



รูปที่ 26 ปริมาณเอทานอลจากการหมักไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยงออก ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยง ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีขาว *T. versicolor* และไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟุสีน้ำตาล หลังจากนั้นนำมาปรับสภาพอีกครั้งด้วยกรดฟอสฟอริกร่วมกับไมโครเวฟ (PT_Palm-Sap, PT_Palm+Sap, PT_TV และ PT_GS ตามลำดับ) และหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 37°C เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 4 วัน

จากรูปที่ 26 จะเห็นว่าการปรับสภาพไม้ปาล์มน้ำมันด้วยเชื้อราแล้วปรับสภาพโดยใช้กรดฟอสฟอริก ร่วมกับไมโครเวฟ มีผลทำให้ปริมาณเอทานอลทั้งหมดลดลงเมื่อเทียบกับไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยเชื้อรามาก่อนจะปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก ร่วมกับไมโครเวฟ ซึ่งเป็นผลมาจากในกระบวนการปรับสภาพไม้ปาล์มน้ำมันด้วยกรดฟอสฟอริก ร่วมกับไมโครเวฟ มีขั้นตอนในการล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตนและน้ำ (รูปที่ 13) ทำให้น้ำตาลซึ่งเป็นน้ำตาลอิสระ และน้ำตาลที่เป็นอนุพันธ์ขนาดเล็กของเซลลูโลส (จากการปรับสภาพด้วยเชื้อราดังอธิบายไว้ในรูปที่ 25) ถูกสกัดออกไปในกระบวนการนี้ ทำให้ผลิตผลน้ำตาลที่เป็นน้ำตาลเริ่มต้นในกระบวนการหมักลดลง มีผลทำให้เอทานอลที่ผลิตได้ลดน้อยลงไปด้วย ซึ่งในไม้ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยเชื้อรามาก่อน มีบางส่วนของน้ำตาลอิสระเท่านั้นที่สูญเสียไปในกระบวนการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก ร่วมกับไมโครเวฟ แต่น้ำตาลที่เป็นอนุพันธ์ขนาดเล็กของเซลลูโลสไม่มี (ไม่ได้ปรับสภาพด้วยเชื้อรา) จึงไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลในองค์ประกอบของสายใยเซลลูโลส ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก ร่วมกับไมโครเวฟ เซลลูโลสที่ได้ (Cellulosic pellet) จึงถูกย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (4 U/ml) ที่ใส่ไว้ในระบบการหมัก ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลที่สูงกว่าดังกล่าว ทั้งนี้เมื่อเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากรูปที่ 25 จะเห็นได้ว่าปริมาณเอทานอลมีค่าน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสามารถอธิบายได้จากปริมาณน้ำตาลอิสระและอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่สูญเสียไปในขั้นตอนการล้างด้วยอะซิโตนและน้ำในกระบวนการปรับสภาพไม้ด้วยกรดฟอสฟอริก ร่วมกับไมโครเวฟที่ได้กล่าวไว้แล้ว

6. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพและกายวิภาคของไม้ปาล์มน้ำมันอายุ 25-30 ปี ไม้ปาล์มน้ำมันมีความยาวลำต้นเฉลี่ย 15-18 เมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 50.20 เซนติเมตร ซึ่งลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคของไม้ปาล์มน้ำมันจะมีการกระจายตัวของกลุ่มเซลล์ท่อลำเลียงแบบลดหลั่นจากบริเวณใกล้เปลือกจนถึงใจกลางลำต้น และในส่วนของใจกลางลำต้นมีค่าคงที่ของสัดส่วนปริมาตรเส้นใยคิดเป็น 1 ใน 3 ส่วนของเนื้อไม้ทางด้านหน้าตัด เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไม้ปาล์มน้ำมันพบว่าปริมาณไฮโดรเซลลูโลส ร้อยละ 77.77 ลิกนิน 20.93 และสารแทรก 20.88

จากการศึกษาปริมาณน้ำตาลในน้ำเลี้ยงของลำต้นปาล์มน้ำมันในส่วนต่างๆ ของลำต้นและวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16 พบว่ามีค่าทางสถิติไม่แตกต่างกัน โดยในส่วนที่อยู่ห่างจากทางใบลงมา 1.5 เมตร บริเวณใจกลางลำต้น ระหว่างเปลือกกับใจกลางลำต้นและใกล้เปลือก มีปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย 40.45 ± 9.7 กรัมต่อลิตร 49.89 ± 0.75 กรัมต่อลิตร และ 52.62 ± 3.42 กรัมต่อลิตร ส่วนกลางลำต้นมีปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย 50.11 ± 5.66 กรัมต่อลิตร 52.23 ± 7.13 กรัมต่อลิตร และ 38.25 ± 9.21 กรัมต่อลิตร ส่วนโคนที่ห่างจากพื้นดิน 1.5 เมตร มีปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย 38.96 ± 6.91 กรัมต่อลิตร 55.55 ± 3.05 กรัมต่อลิตร และ 45.10 ± 2.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จากการศึกษาการเปลี่ยนเซลลูโลสในไม้ปาล์มน้ำมันให้เป็นกลูโคสโดยการนำไม้ปาล์มน้ำมันมาปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและเบต้ากลูโคซิเตสร่วมกัน พบว่าปริมาณกลูโคสในไม้ปาล์มน้ำมันเท่ากับ 45.50 ± 3.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการศึกษาปริมาณเอทานอลจากการหมักจากการหมักน้ำเลี้ยงลำต้นปาล์มน้ำมัน ไม้ปาล์มน้ำมันผสมน้ำเลี้ยงในอัตราส่วน 1:1 ไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยงออก ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยง ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟูลีขาว; *T. versicolor* และไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟูลีน้ำตาล; *G. striatum* ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* และวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16 วัดค่าร้อยละของเอทานอลได้ 2.46 ± 0.11 , 2.53 ± 0.49 , 2.75 ± 0.32 , 2.83 ± 0.62 , 3.14 ± 0.48 และ 3.88 ± 0.75 ตามลำดับ จากการหมักไม้ปาล์มน้ำมันที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือไม้ปาล์มน้ำมันที่หีบน้ำเลี้ยงออก ไม้ปาล์มน้ำมันที่ไม่หีบน้ำเลี้ยง ไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟูลีขาว *T. versicolor* และไม้ปาล์มน้ำมันที่ปรับสภาพด้วยเชื้อราฟูลีน้ำตาล *G. striatum* แล้วปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก 80% และใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟ 700 วัตต์ เป็นเวลา 20 วินาที แล้วหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* วัดค่าร้อยละของเอทานอลได้ 0.4 ± 0.2 , 0.2 ± 0.03 , 0.17 ± 0.03 และ 0.18 ± 0.01 ตามลำดับ

7. เอกสารอ้างอิง

- รัตนา ชูหว่าง. 2554. แนวทางการใช้ประโยชน์จากลำต้นปาล์มน้ำมัน. J Sci Technol MSU. หน้า 456-462
- เรวัต เลิศฤทัยโยธิน. 2541. ปาล์มน้ำมัน. พจนานุกรมศัพท์พืชเศรษฐกิจ ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 117-122
- ศูนย์ศึกษาการค้าระหว่างประเทศ. 2556. รายงานฉบับสมบูรณ์. มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. หน้า 138-176
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. ปาล์มน้ำมัน (ออนไลน์). สืบค้นจาก:
http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=13577 (29 พฤษภาคม 2558)
- อิสรา โภมลเกียรติ. 2555. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียและการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล จากลำต้นปาล์มน้ำมัน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- Akihiko, K., Ryohei, T., Othman, S., Rokies, H., Zubaidah, A. A. H., Mohd, N.M. Y., Wan, A. I., Takamitsu, Arai1, Yoshinori, M., Satoru, N. and Yutaka M. 2010. Bioethanol and Bioplastic Production Using Sap from Old Oil Palm Trunks: A Promising Source of Sugars for Biomass Refinery. 7th Biomass Asia Workshop, November 29- December 1, 2010, Jakarta, Indonesia

- Che Man, YB., Wan Hussin, WR. 1998. Comparison of the frying performance of refined, bleached and deodorized palm olein and coconut oil. *Journal of Food Lipids* 5: 197–210
- Cherdchim B. 2010. Actions of lignocellulolytic enzymes on *Abies grandis* (grand fir) wood for application use in biofuel production. <http://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl/?webdoc-2673>
- Collins, T., Gerday, C. and Feller, G. 2005. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microlo. Rev.* 29: 3-23
- Durst, PB., Killmann, W., Brown, C. 2004. Asia's new woods. *Journal of Forestry* 102(4): 46-53
- Food Network Solution. 2015. Cellulose (Online). Available <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose> (27 May 2015)
- Hensen, IE., Chang, KC., Siti Nor Aishah, M., Chai, SH., Hasnuddin MDH, Y., and Zaharia, A. 1999. The oil palm trunk as a carbohydrate reserve. *Journal of Oil Palm Research* 11(2): 98-113
- Itoh, H., Wada, M., Honda, Y., Kuwahara M., Watanabe T. 2003. Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi. *Journal of Biotechnology*. 103: 273-280
- Jagtap, S. S., Dhiman, S. S., Kim, T., Li, J., Kang, Y. C. and Lee, J. 2013. Characterization of a β -1,4-glucosidase from a newly isolated strain of *Pholiota adiposa* and its application to the hydrolysis of biomass. *Biomass Bioenerg.* 54: 181-190
- Li, C., Wang, Q., and Zhao, YK. 2008. Acid in ionic liquid: An efficient system for hydrolysis of lignocellulos. *Green Chemistry* 10: 177-182
- Matthäus, B. 2007. Use of palm oil for frying in comparison with other high-stability oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 400-409
- Mood. SH., Golfeshan. AH, Tabatabaei. M., Jouzani. SH., Najafi. GH., Gholami. M., Ardjmand. M. 2013. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27: 77-93

- Noomtim P, Cheirsilp B. 2011. Production of butanol from palm empty fruit bunches hydrolysate by *Clostridium acetobutylicum*. *Energy Procedia* 9: 140-146
- Ponthein, W., Cheirsilp, B. 2011. Development of Acetone Butanol Ethanol (ABE) Production from Palm Pressed Fiber by Mixed Culture of *Clostridium* sp. and *Bacillus* sp.. *Energy Procedia*. 9: 459-467
- Prawitwong, P., Kosugi, A., Arai, T., Deng, L., Lee, KC., Ibrahim, D., Murata, Y., Sulaiman, O., Hashim, R., Sudesh, K., Ibrahim, WAB., Saito, M., Mori, Y. 2012. Efficient ethanol production from separated parenchyma and vascular bundle of oil palm trunk. *Bioresource Technology* 125: 37-42
- Shinoj, S., Visvanathan, R., Panigrahi, S., Kochubabu, M. 2011. Oil palm fiber (OPF) and its composites: A review. *Industrial Crops and Products* 33(1): 7-22
- Singh, R., Shukla, A., Tiwari, S., and Srivastava, M. 2014. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. *Renew. Suat. Energ. Rev.* 32: 713-728
- Stöcker, M. 2008. Biofuels and Biomass-To-Liquid Fuels in the Biorefinery: Catalytic Conversion of Lignocellulosic Biomass using Porous Materials. *Renewable Resources*. 47: 9200-9211
- Taherzadeh, M. J., and Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International Journal of Molecular Sciences* 9:1621-1651
- TAPPI T 222 om-02. 2002. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, USA: 5 p
- Wang, C. C., Chang, C. S., and Chen, H. B., 2009. Chromatographic determination of polysaccharides in *Lyciumbarbarum Linnaeus*. *Food Chem.* 116: 595-603.
- Yamada, H., Tanaka, R., Sulaiman, O., Hashim, R., Hamid, Z.A.A., Yahya, M.K.A., Kosugi, A., Arai, T., Murata, Y., Nirasawa, S., Yamamoto, K., Ohara, S., Mohd Nor Mohd Yusof, Wan Asma Ibrahim, Mori, Y. 2010. Old oil palm trunk: A promising source of sugars for bioethanol production. *Biomass and Bioenergy*. 34: 1608-1613

- Zhang, Yi-Heng P., Ding, Shi-You., Mielenz, JR., Cui, Jing-Biao., Elander RT., Laser M., Himmel, ME., McMillan, JR., Lynd, LR. 2007. Fractionating Recalcitrant Lignocellulose at Modest Reaction Conditions. *Biotechnology and Bioengineering*. 97(2): 214-223
- Zhu, J. Y., and Pan, XJ. 2010. Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: technology and energy consumption evaluation. *Bioresource Technology* 100(13): 4992-5002
- Zhu, J. Y., and Pan, XJ., and Zalesny, Jr. 2010. Pretreatment of woody biomass for biofuel production: energy efficiency, technology, and recalcitrance. *Applied Microbiology Biotechnology*. Doi: 10.1007/s00253-010-2654-8
- Zhu, J. Y., Zhu, w., OBryan, P., Dien, BS., Tian, S., Gleisner, R., and Pan, XJ. 2010. Ethanol production from SPORL-pretreated lodgepole pine: preliminary evaluation of mass balance and process energy efficiency. *Applied Microbiology*. Doi: 10.1007/s00253-009-2408-7

8. ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป

จากปัญหาและอุปสรรคที่ได้กล่าวไว้ในกระบวนการปรับสภาพไม้ปาล์มน้ำมันด้วยกรดฟอสฟอริก ร่วมกับไมโครเวฟ มีผลต่อปริมาณน้ำตาลอิสระและอนุพันธ์ของเซลลูโลสบางส่วนสูญเสียไปในกระบวนการล้าง ตั้งอย่างด้วยอะซิโตนและน้ำ นอกจากนั้นน้ำตาลอิสระยังสูญเสียไปในกระบวนการสกัดสารแทรกเพื่อให้ไม่ปราศจากสารแทรกได้ด้วย ในเชิงพาณิชย์จึงควรลดขั้นตอนบางส่วนเพื่อลดต้นทุนและความยุ่งยากของกระบวนการ เช่น ลดขั้นตอนการสกัดสารแทรก แต่ควรเพิ่มขั้นตอนการหีบน้ำเลี้ยงจากต้นปาล์มน้ำมันร่วมด้วย เพื่อใช้น้ำตาลอิสระเป็นผลผลิตเริ่มต้นในการหมักให้ได้เอทานอล ส่วนน้ำตาลในเซลลูโลสอาจใช้การปรับสภาพด้วยวิธีธรรมชาติ เช่น เชื้อรา ร่วมกับการปรับสภาพด้วยเคมี-ฟิสิกส์ แต่ควรหาวิธีในการลดการสูญเสียน้ำตาลในกระบวนการดังกล่าวด้วย เพื่อให้ได้น้ำตาลตั้งต้นที่ใช้ในการหมักในปริมาณมากเพื่อผลิตเอทานอลจากการหมักที่มากตามมาด้วย