



# การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสสำหรับผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอต

## The utilization of lignocellulosic biomass waste for production of polyhydroxyalkanoates

จิตพร โพธิ์ปัญญาศักดิ์<sup>1\*</sup> ธวัชชัย ศุภดิษฐ์<sup>1</sup> และ สาวิตรี วัทัญญไพศาล<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะบริหารการพัฒนาสิ่งแวดล้อม สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์  
กรุงเทพมหานคร 10240

<sup>2</sup>ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหารและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร 10800

<sup>3</sup>ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีสารสนเทศทางจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมจากจุลินทรีย์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร 10800

Jittaporn Popanyasak<sup>1\*</sup>, Tawadchai Suppadit<sup>1</sup> and Savitri Vatanyoopaisarn<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Division of Environmental Management, Graduate School of Environmental Development  
Administration, National Institute of Development Administration, Bangkok 10240

<sup>2</sup>Department of Agro-Industrial Technology, Food and Environmental Technology,  
Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800

<sup>3</sup>Microbial Informatics and Industrial Product of Microbe Research Center,  
King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800

Received: 23 September 2022/ Revised: 17 November 2022/ Accepted: 20 November 2022

### บทคัดย่อ

ด้วยคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่โดดเด่นของพลาสติกชีวภาพชนิดพอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอตทำให้ได้รับความสนใจในการนำไปใช้เป็นวัสดุทางเลือกเพื่อทดแทนพลาสติกสังเคราะห์ในหลากหลายด้าน อย่างไรก็ตาม พอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอตยังไม่สามารถทดแทนพลาสติกสังเคราะห์ได้มากนัก เนื่องจากมีอัตราการผลิตต่ำและต้นทุนการผลิตสูงทำให้พอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอตมีราคาสูงตามไปด้วย ซึ่งต้นทุนการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอตส่วนใหญ่มาจากแหล่งคาร์บอนที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตและเป็นการจัดการขยะ ได้มีการนำของเสียหรือผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมต่างๆ มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจเนื่องจากมีปริมาณมาก ราคาถูก และเป็นวัสดุที่สามารถทดแทนใหม่ได้ ทั้งนี้การนำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมาใช้นั้นต้องมีการบูรณาการในการเปลี่ยนวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสให้เป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งประกอบด้วย การปรับปรุงสภาพ การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส และการกำจัดสารยับยั้ง บทความนี้จะกล่าวถึงวิธีการปรับปรุงสภาพ การย่อยสลาย การกำจัดสารยับยั้ง หลักการเบื้องต้นของกระบวนการผลิตไฮดรอกซีอัลคานอเอตโดยวิธีหมักแบบเปิดที่เรียบง่าย และการใช้วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส



ในการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากวัสดุเหลือทิ้ง  
ลิกโนเซลลูโลสและนำไปสู่การผลิตพลาสติกชีวภาพที่มีคุณภาพและยั่งยืนในอนาคตต่อไป

**คำสำคัญ:** พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส วิธีเมแทบอลิซึม แหล่งคาร์บอน

## Abstract

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) have received special attention as a substitute material for the synthetic polymer in various applications due to their distinctive chemical and physical properties. However, PHAs are still unable to replace the synthetic polymer because of high cost and low production capacity which in turn make the product become high price. The main cost of production is carbon source used as a substrate for PHAs production. In order to reduce the production cost and eliminate waste, waste or by-products from a variety of industries were used as a source of carbon. Lignocellulosic biomass waste is an interesting raw material due to numerous quantities, inexpensive and renewable resources. Nevertheless, the use of lignocellulosic biomass waste requires the process of converting lignocellulosic waste into a carbon source that consist of the pretreatment, hydrolysis and detoxification methods. In addition, the basic principle of metabolic pathway for PHAs biosynthesis and the use of lignocellulosic biomass waste for PHAs production were described. This review can assist in the further development of PHAs production from lignocellulosic biomass waste and lead to the production of quality and sustainable bioplastics in the future.

**Keywords:** Polyhydroxyalkanoates, Lignocellulosic biomass waste, Metabolic pathway, Carbon source

## บทนำ

พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates; PHAs) เป็นพลาสติกชีวภาพประเภทพอลิเอสเทอร์ที่สังเคราะห์โดยแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบหลากหลายสายพันธุ์ เช่น *Bacillus megaterium*, *Cupriavidus necator*, *Pseudomonas oleovorans* เป็นต้น และอาร์เคียในวงศ์ *Halobacteriaceae* เช่น *Haloferax* และ *Haloarcula* [1] โดย PHAs จะถูกผลิตและสะสมอยู่ภายในไซโตพลาสซึมของแบคทีเรียเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำรองเมื่ออยู่ในสภาวะที่สารอาหารถูกจำกัด เช่น มีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟต หรือออกซิเจนในปริมาณน้อยในขณะที่มีแหล่งคาร์บอนในปริมาณที่มากเกินไป [2, 3] PHAs แบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามจำนวน

คาร์บอนในหน่วยย่อย (monomer) ได้แก่ (1) short-chain length (scl-PHAs) ประกอบด้วยคาร์บอน 3-5 อะตอม เช่น พอลิไฮดรอกซีบิวทีเรต (polyhydroxybutyrate; PHB) พอลิไฮดรอกซีวาเลอเรต (polyhydroxyvalerate; PHV) และ พอลิ (3-ไฮดรอกซีบิวทีเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) (poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate; PHBV)) และ (2) medium-chain length PHAs (mcl-PHAs) ประกอบด้วยคาร์บอนตั้งแต่ 6 อะตอมขึ้นไปในแต่ละหน่วยย่อย เช่น พอลิไฮดรอกซีเฮกซาโนเอต (polyhydroxyhexanoate; PHH) พอลิไฮดรอกซีออกตาโนเอต (polyhydroxyoctanoate; PHO) และ พอลิ (3-ไฮดรอกซีเฮกซาโนเอต-โค-3-ไฮดรอกซีออกตาโนเอต) (poly(3-hydroxyhexanoate-co-3-



hydroxyoctanoate; PHHO) [4] PHAs สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไร้ออกซิเจน โดยจุลินทรีย์ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ และ/หรือมีเทน [5] ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย PHAs ยังสามารถคืนกลับสู่สิ่งแวดล้อมและเป็นแหล่งวัตถุดิบในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชต่อไป นอกจากนี้ PHAs ยังทนต่อความชื้นและแสงอัลตราไวโอเล็ตได้ดี ไม่ละลายน้ำ เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต เป็นวัสดุเพียงโซอีเล็กทริก และมีสมบัติคล้ายกับพอลิโพรพิลีน (polypropylene; PP) จากสมบัติดังกล่าว ทำให้ PHAs ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในหลากหลายด้านโดยเฉพาะด้านการแพทย์ เช่น เนื้อเยื่อกระดูกและหัวใจเทียม ตัวนำส่งยา อุปกรณ์ทำแผลต่างๆ เป็นต้น [6] ปัจจุบันได้มีการนำ PHAs มาผลิตใหม่เย็บแผลชนิดโมโนฟิลิเมนต์ แผ่นฟิล์มและผ้าก๊อตปิดแผล โครนัลเย็บเซลล์ และอื่นๆ ซึ่งพาณิชย์โดยบริษัท Tephra และได้รับการรับรองมาตรฐานจากองค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน (International Organization for standardization, ISO) และจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration, FDA) ซึ่งอุปกรณ์ทางการแพทย์เหล่านี้จะช่วยให้การรักษารวดเร็วและดียิ่งขึ้น เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความยืดหยุ่น เข้ากันได้ทางชีวภาพ มีความทนต่อแรงดึง และการกักเก็บแรงดึงได้ดีเยี่ยม [7] นอกจากนี้ PHAs ยังถูกนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์ต่างๆ เช่น บรรจุภัณฑ์สำหรับใส่เครื่องสำอาง แชมพู อาหาร และเครื่องดื่ม [8] อีกทั้งสามารถนำไปใช้ในด้านเกษตรได้อีกด้วย โดยบริษัท Danimer Scientific, Tianjin GreenBio Materials และ Greenpoly ได้ผลิตถุงปลูกต้นไม้จาก PHAs-DDGS ซึ่งถุงปลูกนี้มีอายุการใช้งานประมาณ 4 เดือน และสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่ายในดิน หรือจะนำไปผลิตเป็นฟิล์มคลุมดิน โดยบริษัท Danimer Scientific ได้ผลิตฟิล์มคลุมดินจาก P3HB-co-3HHx ซึ่งไม่ย่อยสลายได้ด้วยแสงและได้รับการรับรองว่าย่อยสลายได้ตามมาตรฐาน ASTM D6400-99 หรือ ASTM D6868-03 [9]

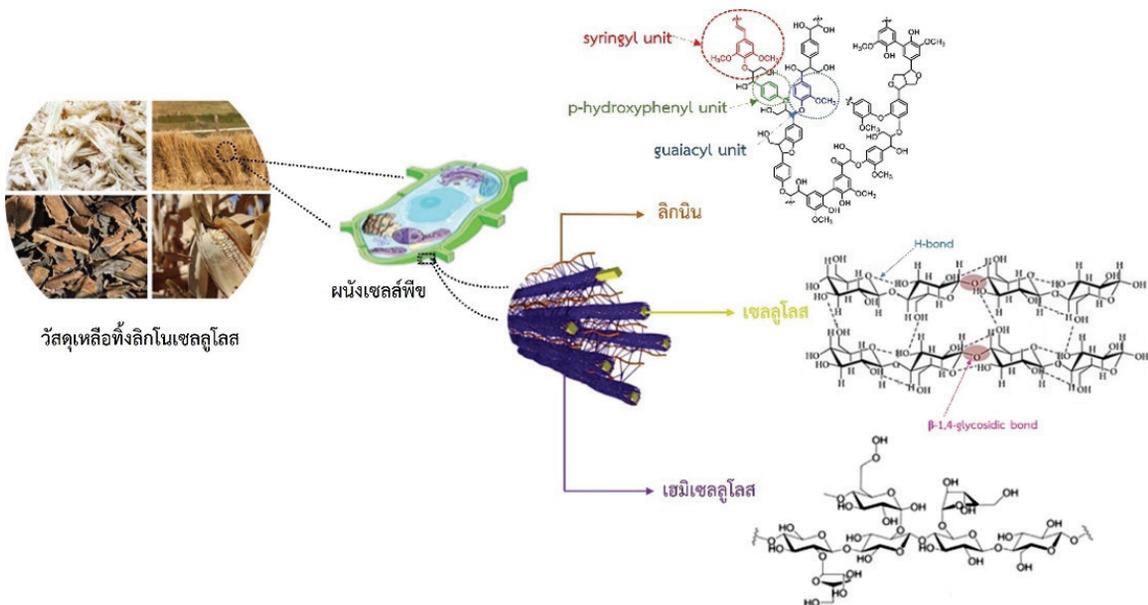
ด้วยกระบวนการสังเคราะห์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย และสมบัติทางเคมีและกายภาพที่โดดเด่นจึงทำให้ PHAs เป็นวัสดุทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ทดแทนพลาสติกสังเคราะห์

ที่ผลิตจากก๊าซธรรมชาติและน้ำมันดิบซึ่งย่อยสลายได้ยากดี เป็นอย่างดี และนำไปสู่การบรรลุเป้าหมายของการพัฒนาอย่างยั่งยืน (sustainable development goal, SDG) ที่ 6 (จัดการน้ำอย่างยั่งยืนและพร้อมใช้สำหรับทุกคน) เป้าหมายที่ 9 (ส่งเสริมอุตสาหกรรมที่ยั่งยืนและนวัตกรรม) และเป้าหมายที่ 12 (สร้างรูปแบบการผลิตและการบริโภคที่ยั่งยืน) [10] อย่างไรก็ตาม PHAs ยังไม่สามารถใช้งานได้แพร่หลายมากนักเนื่องจากมีราคาสูงกว่าพลาสติกสังเคราะห์ประมาณ 2-5 เท่า โดย PHAs มีราคา 2.4-5.5 ดอลลาร์สหรัฐต่อกิโลกรัม ส่วนพลาสติกสังเคราะห์มีราคาเพียง 1.2 ดอลลาร์สหรัฐต่อกิโลกรัม ซึ่งต้นทุนการผลิตทั้งหมดมาจากแหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 30-50 เพราะบริษัทผู้ผลิตส่วนใหญ่ใช้เชื้อปรีสุทธ์และแหล่งคาร์บอนที่มีราคาแพง เช่น น้ำตาล น้ำมัน ลิพิด โปรตีนจากพืชผักและสัตว์ เป็นต้น [11] ซึ่งแหล่งคาร์บอนเหล่านี้ยังเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์อีกด้วย เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตและหลีกเลี่ยงการใช้แหล่งอาหารของมนุษย์ ปัจจุบันได้มีการนำของเสียหรือผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร เครื่องดื่ม หรืออื่นๆ มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิต PHAs เช่น เวย์ น้ำมันที่ใช้แล้ว วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส และกลีเซอรอล เป็นต้น [1] วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด ชานอ้อย กากมันสำปะหลัง และเศษไม้ เป็นต้น เป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากเกษตร การทำเฟอร์นิเจอร์ไม้ และอุตสาหกรรมอาหารจัดว่าเป็นแหล่งวัตถุดิบที่น่าสนใจในการนำมาใช้สำหรับผลิต PHAs เนื่องจากมีปริมาณมาก ราคาถูก หาได้ง่าย และเป็นวัสดุที่สามารถเกิดและทดแทนใหม่ได้

วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเป็นวัสดุธรรมชาติที่มีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ในปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทและสายพันธุ์ของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส อากาศ และความสมบูรณ์ของดิน โดยทั่วไป วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 30-50 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 15-35 และลิกนินร้อยละ 10-20 [12, 13] โครงสร้างของแต่ละองค์ประกอบในวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสแสดงดังภาพที่ 1 เซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์

ที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 500-15,000 โมเลกุล มาเชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะ  $\beta$ -1,4-glycosidic ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของกลูโคส โดยแต่ละโมเลกุลสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ ทำให้เซลลูโลสมีความแข็งแรงและมีความเป็นผลึกสูง ส่วนเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดทั้งน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ได้แก่ ไซโลส และอะราบิโนสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -1,4-glycosidic เป็นโครงสร้างหลักและมีน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ได้แก่ กลูโคส กาแลคโตส และแมนโนส หรือกรดน้ำตาล ได้แก่ กรดกลูควโรนิก กาแลคทูโรนิก และเมทิลกาแลคทูโรนิกมาเชื่อมต่อกับโครงสร้างหลักเกิดเป็นโครงสร้างแบบกิ่งได้ซึ่งขึ้นอยู่กับธรรมชาติของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส [14] ซึ่งทำให้เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลายได้มากกว่าเนื่องจากมีความเป็นผลึกน้อยกว่าเซลลูโลส สำหรับลิกนินมีโครงสร้างแบบสามมิติซึ่งประกอบด้วยฟีนิลโพรพานอยด์ที่แตกต่างกัน 3 หน่วยย่อย คือ พาราไฮดรอกซีฟีนิล (p-hydroxyphenyl: H) กัวไอเอซิล (guaiacyl: G) และไซริงกิล (syringyl: S) มาเชื่อมต่อกันโดย aryl ether linkage ทำให้ลิกนินไม่ละลายน้ำและย่อยสลายยาก [12]

จากโครงสร้างที่ซับซ้อนและแข็งแรงของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสทำให้การนำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์สำหรับผลิต PHAs นั้นยังมีข้อจำกัดอยู่ เนื่องจากจำเป็นต้องมีการปรับสภาพเพื่อให้วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสให้มีโครงสร้างที่สามารถย่อยสลายได้ง่าย ขั้นตอนการปรับสภาพนี้ถือเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะส่งผลต่อทั้งประสิทธิภาพการย่อยสลายซึ่งเป็นขั้นตอนในการเปลี่ยนเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และต้นทุนในการผลิต PHAs ได้ นอกจากนี้อาจต้องมีการกำจัดสารยับยั้งที่เกิดขึ้นจากกระบวนการปรับสภาพด้วย ซึ่งในแต่ละขั้นตอนมีกระบวนการหลายวิธีที่แตกต่างกัน ดังนั้นบทความนี้จึงได้รวบรวมการปรับสภาพ การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส การกำจัดสารยับยั้ง รวมกระบวนการสังเคราะห์ PHAs โดยวิถีเมีแทบอลิซึมของแบคทีเรีย การผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส รวมถึงข้อดี ข้อเสีย ค่าใช้จ่าย ตลอดจนผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสด้วยวิธีต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิต PHAs จากวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสในอนาคต



ภาพที่ 1 โครงสร้างและองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส



## การปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส (Pretreatment of lignocellulosic biomass waste)

วัตถุประสงค์ของการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส คือ เพื่อกำจัดลิกนิน เพิ่มพื้นที่ผิวของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกและระดับความเป็นพอลิเมอร์ของเซลลูโลส [15] การปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสแบ่งออกเป็น 4 วิธี ได้แก่ การปรับสภาพทางกายภาพ ทางเคมี ทางกายภาพร่วมกับเคมี และทางชีวภาพ ซึ่งการเลือกใช้วิธีใดในการปรับสภาพนั้นควรพิจารณาถึงประเภทและองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสที่นำมาใช้ นอกจากนี้ต้องคำนึงถึงค่าใช้จ่ายและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นด้วย [16]

### 1. การปรับสภาพทางกายภาพ (Physical pretreatment)

การปรับสภาพทางกายภาพเป็นการลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส ลดขนาดและเพิ่มพื้นที่ผิวของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสโดยการบด สับ และโม หรือเป็นการทำลายโครงสร้างของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสโดยใช้รังสี เช่น รังสีแกมมา ลำโวลีตรอน และคลื่นไมโครเวฟ เป็นต้น [17] รวมถึงการแยกสลายโดยใช้ความร้อน (pyrolysis) ซึ่งอบด้วยความร้อนที่สูงกว่า 300 องศาเซลเซียส แต่ส่วนใหญ่จะนิยมใช้การบด สับ และไม่มากกว่าการใช้รังสีเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาและพลังงานน้อยกว่า

โดยทั่วไป การลดขนาดโดยการสับทำให้วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมีขนาดประมาณ 10-30 มิลลิเมตร สำหรับการม่และการบดจะมีขนาด 0.2 มิลลิเมตร [18] อย่างไรก็ตามการใช้วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสขนาดเล็กหรือใหญ่เกินไปนั้นทำให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายลดลงได้ เนื่องจากวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสที่มีขนาดเล็กจะลอยอยู่บนผิวของสารละลายกรดหรือเอนไซม์ในขณะที่การย่อยสลายทำให้กระบวนการย่อยสลายมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อย [19] นอกจากนี้การลดขนาดจนเล็กเกินไปจะต้องใช้พลังงานในการลดขนาดเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายในการผลิต PHAs ด้วย ในทางตรงกันข้ามหากใช้ขนาดที่ใหญ่เกินไป กรดหรือเอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับวัสดุได้ทั้งหมด เนื่องจากมีพื้นที่ผิวของวัสดุ

ที่จะสัมผัสกับกรดหรือเอนไซม์น้อยส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อย [20] ซึ่งจะเห็นว่าขนาดของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่สามารถส่งผลต่อกระบวนการและประสิทธิภาพการย่อยสลายได้ ดังนั้นควรพิจารณาและศึกษาขนาดของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสด้วย

### 2. การปรับสภาพทางเคมี (Chemical pretreatment)

#### 2.1 การปรับสภาพด้วยด่าง (Alkaline pretreatment)

เป็นการใช้ด่าง ได้แก่ โซเดียม แคลเซียม โพแทสเซียม และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ แต่ส่วนใหญ่จะนิยมใช้โซเดียมและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพ ซึ่งสารเคมีเหล่านี้ไม่มีความเป็นพิษหรือมีความเป็นพิษน้อยต่อทั้งมนุษย์และสิ่งแวดล้อม สำหรับกลไกของกระบวนการนี้จะอาศัยหลักการเดียวกันกับปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (saponification) คือ ต่างจะไปสลายพันธะเอสเทอร์ที่เชื่อมระหว่างเฮมิเซลลูโลสกับลิกนินทำให้แยกองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสออกจากกันและยังเป็นการทำลายโครงสร้างของลิกนิน นอกจากนี้การปรับสภาพด้วยด่างยังทำให้วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเกิดการขยายตัวส่งผลให้มีพื้นที่ผิวภายในโครงสร้างเพิ่มขึ้น ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส ลดระดับความเป็นพอลิเมอร์ และยังสามารถกำจัดหมู่อะซิติลและกรดยูโรนิกที่มีอยู่ในเฮมิเซลลูโลสได้อีกด้วย [15] วิธีนี้จะมีประสิทธิภาพสูงเมื่อใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประเภทไม้เนื้อแข็งที่มีปริมาณลิกนินต่ำ ซึ่งหากใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประเภทไม้เนื้ออ่อนที่มีปริมาณลิกนินน้อย เช่น เปลือกและแกนสับปรด อาจทำให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเกิดการสลายตัวได้ [19]

วิธีนี้มีข้อดี คือ สามารถทำในสภาวะที่ไม่รุนแรงเมื่อเทียบกับการปรับสภาพด้วยกรด กล่าวคือ สามารถทำได้ อุณหภูมิห้องได้ แต่ต้องใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานหลายชั่วโมงหรือเป็นวัน [21]

#### 2.2 การปรับสภาพด้วยกรด (Acid pretreatment)

กรดที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดซัลฟิวริกและไฮโดรคลอริก เนื่องจากมีราคาถูก นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดฟอสฟอริกในตรีก

และออกซาลิกในการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส อีกด้วย [22] การปรับสภาพด้วยกรดนั้นสามารถทำได้โดยใช้ กรดเข้มข้นหรือเจือจาง การใช้กรดเข้มข้นมีข้อดีคือ สามารถ ทำที่อุณหภูมิไม่สูงมากนัก (ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส) ให้ ปริมาณน้ำตาลสูง และไม่จำเป็นต้องมีการย่อยสลายด้วยกรด เอนไซม์อีก แต่มีข้อเสีย คือ มีความเป็นพิษและฤทธิ์ในการ กัดกร่อนสูงจึงต้องใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีความทนทาน ต่อกรดซึ่งทำให้มีค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นจึงทำให้การใช้กรด เจือจางเป็นที่นิยมในการใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้ง ลิกโนเซลลูโลส การใช้กรดเจือจางแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ ทำที่สภาวะอุณหภูมิสูง (มากกว่า 160 องศาเซลเซียส) และ ทำที่สภาวะอุณหภูมิต่ำ (ต่ำกว่า 160 องศาเซลเซียส) [23] อย่างไรก็ตามการปรับสภาพด้วยกรดนี้จะมีสารประกอบ เฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลเกิดขึ้นด้วย และ จำเป็นต้องมีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ก่อนนำไปใช้

### 3. การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี (Physico-chemical pretreatment)

#### 3.1 การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion, AFEX)

สามารถทำได้โดยให้วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียเหลวภายใต้ความดันและอุณหภูมิ สูงในช่วงเวลาหนึ่ง จากนั้นทำการลดความดันอย่างรวดเร็ว ในการปรับสภาพโดยทั่วไปจะใช้แอมโมเนียเหลวประมาณ 1-2 กิโลกรัมต่อน้ำหนักแห้งหรือชีวมวลของวัสดุเหลือทิ้ง ลิกโนเซลลูโลส 1 กิโลกรัม และใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ที่ 90 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 30 นาที โดยใน กระบวนการนี้เฮมิเซลลูโลสจะถูกย่อยสลายเป็นน้ำตาล โอลิโกเมอร์โดยกระบวนการกำจัดหมู่อะซีติลและทำให้ โครงสร้างของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเปลี่ยนไปส่งผลให้ วัสดุมีความสามารถในการกักเก็บน้ำและการย่อยสลายด้วย เอนไซม์เพิ่มขึ้น [24] นอกจากนี้ แอมโมเนียที่ใช้ในการ ปรับสภาพแล้วสามารถนำกลับไปใช้ได้อีกทำให้ลดค่าใช้จ่าย ได้ [25] และไม่ก่อให้เกิดของเสียอันเป็นปัญหาด้าน สิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามวิธีนี้เหมาะสำหรับการปรับสภาพ พวกไม้ล้มลุกและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมากกว่าการใช้

ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสพวกไม้เนื้ออ่อนและ วัสดุที่มีปริมาณลิกนินสูง [22]

#### 3.2 การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)

วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสที่ผ่านการลดขนาด แล้วจะถูกปรับสภาพด้วยไอน้ำอัดตัวเป็นเวลา 30 วินาทีถึง 20 นาที หลังจากนั้นลดความดันลงอย่างรวดเร็วจนถึง ความดันบรรยากาศ [22] โดยปกติจะควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 160-260 องศาเซลเซียส และความดัน 0.69-4.83 เมกะ ปาสคาล [24] กระบวนการนี้จะทำให้หมู่อะซีติลที่มีอยู่ใน เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสซึ่งมีน้ำเป็น ตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็นกรดอะซีติกและทำให้โครงสร้างของ ลิกนินเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจึงเป็นการเพิ่มศักยภาพให้กับ กระบวนการย่อยสลายเซลลูโลส ทั้งนี้ประสิทธิภาพของการ ปรับสภาพด้วยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ขนาดของ วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส ระยะเวลา อุณหภูมิ และปริมาณ ความชื้น นอกจากนี้วิธีนี้ยังมีประสิทธิภาพในการใช้ปรับสภาพ วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากการเกษตรและประเภทไม้ เนื้อแข็งมากกว่าประเภทไม้เนื้ออ่อน เนื่องจากไม้เนื้ออ่อนมี ปริมาณหมู่อะซีติลในเฮมิเซลลูโลสน้อยกว่า [22]

การระเบิดด้วยไอน้ำนี้มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม น้อยเนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมีในกระบวนการปรับสภาพ แต่ยังคงมีการใช้น้ำและพลังงานปริมาณมาก และมีสารยับยั้ง เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของเฮมิเซลลูโลสบางส่วนด้วย

#### 3.3 การใช้น้ำร้อน (Liquid hot water)

วิธีนี้คล้ายกับวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ แต่วิธีการใช้ น้ำร้อนในการปรับสภาพนี้จะควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 170-230 องศาเซลเซียสและใช้ความดันมากกว่า 5 เมกะปาสคาล เพื่อควบคุมให้น้ำอยู่ในสถานะของเหลวซึ่งจะส่งผลให้ เฮมิเซลลูโลสเกิดการย่อย วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสที่ผ่าน การปรับสภาพแล้วจะอยู่ในลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว (slurry) โดยส่วนที่เป็นของแข็งจะเป็นเซลลูโลส และส่วนที่เป็น ของเหลวจะมีน้ำตาลโอลิโกเมอร์ที่เกิดจากการย่อยสลาย ของเฮมิเซลลูโลสละลายอยู่ เพื่อลดการสลายตัวของ พอลิแซคคาไรด์และลดการเกิดสารยับยั้งควรควบคุมความ เป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 4-7 [22]



การปรับสภาพด้วยน้ำร้อนมีข้อดี คือ ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อย ไม่มีการใช้สารเคมีในกระบวนการปรับสภาพ และเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการเปิดด้วยไอน้ำ พบว่าการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนจะให้ปริมาณน้ำตาลสูงและสารยับยั้งน้อยกว่า

#### 4. การปรับสภาพทางชีววิทยา (Biological pretreatment)

วิธีการปรับสภาพทางชีววิทยานี้จะเป็นการย่อยสลายลิกนินโดยการใช้อจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ ได้แก่ ราฟุสสีขาว ราฟุสน้ำตาล และราฟุอ่อน โดยเชื้อราเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์แลคเคส ลิกนินเปอร์ออกซิเดส และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ที่สามารถย่อยสลายลิกนินได้ โดยเฉพาะราในกลุ่มราฟุสีขาวจะมีความสามารถในการย่อยสลายลิกนินได้อย่างรวดเร็วและทำให้การย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีประสิทธิภาพ กล่าวคือได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง [15] ตัวอย่างเชื้อราในกลุ่มนี้ เช่น *Ceriporiopsis subvermispora*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporia lacerata*, *Trametes versicolor* และ *Tyromyces chioneus* เป็นต้น [22] แม้ว่าวิธีนี้จะเป็นมิตต่อสิ่งแวดล้อมและไม่มีสารยับยั้งเกิดขึ้นแต่ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากมีอัตราการย่อยสลายต่ำทำให้ต้องใช้เวลานานในการปรับสภาพนาน

อย่างไรก็ตามการปรับสภาพแต่ละวิธีนั้นมีทั้งข้อดีข้อจำกัด การเกิดสารยับยั้ง ค่าใช้จ่าย [22, 26] และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากน้อยแตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 1

จากตารางที่ 1 หากพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม พบว่าการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำร้อนและทางชีวภาพมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากที่สุดและมีค่าใช้จ่ายน้อย เนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมีที่เป็นพิษและใช้พลังงานในการปรับสภาพน้อยแต่การปรับสภาพทางชีวภาพนั้นต้องใช้เวลานาน นอกจากนี้การปรับสภาพด้วยแอมโมเนียเป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีค่าใช้จ่ายน้อย เนื่องจากสามารถนำแอมโมเนียกลับมาใช้ใหม่ได้ อย่างไรก็ตามแอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อทั้งมนุษย์และสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะทางน้ำ

หากมีการรั่วไหลเกิดขึ้น ดังนั้น การใช้น้ำร้อนจึงเป็นวิธีที่น่าสนใจในการนำไปใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส

#### การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส (Hydrolysis of lignocellulosic biomass waste)

การย่อยสลายเป็นกระบวนการในการเปลี่ยนเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคส กาแลคโตส แมนโนส อะราบินอส และไซโลส โดยใช้กรดหรือเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst)

##### 1. การย่อยสลายด้วยกรด (Acid hydrolysis)

กรดที่นิยมใช้ในการย่อยสลาย คือ กรดซัลฟิวริก และไฮโดรคลอริก โดยทั่วไปแล้ววิธีนี้สามารถแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการตามความเข้มข้นของกรดที่ใช้ คือ การย่อยสลายด้วยกรดเจือจาง (dilute acid hydrolysis) ซึ่งในกระบวนการนี้จะใช้กรดที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 2-5 โดยปริมาตร และต้องใช้อุณหภูมิสูงในการย่อยสลายซึ่งแตกต่างจากการย่อยสลายด้วยกรดเข้มข้น (concentrated acid hydrolysis) ที่ใช้กรดที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 10-30 โดยปริมาตร แต่สามารถทำที่อุณหภูมิต่ำได้ [27]

สำหรับกลไกการย่อยสลายด้วยกรดแสดงดังภาพที่ 2 ในขั้นแรก กรดจะถ่ายโอนโปรตอน ( $H^+$ ) ให้กับโมเลกุลของน้ำเกิดเป็นไฮโดรเนียมไอออน ( $H_3O^+$ ) จากนั้น  $H_3O^+$  จะถ่ายโอน  $H^+$  ให้กับเซลลูโลสและใช้อิเล็กตรอนร่วมกับออกซิเจนที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของกลูโคสเกิดเป็นกรดคอนจูเกต และทำให้พันธะระหว่าง C-O แตกออกได้เป็นไฮคลิคาร์โบเนียมไอออน จนกระทั่งมีโมเลกุลของน้ำเข้ามาทำปฏิกิริยากับไฮคลิคาร์โบเนียมไอออนได้เป็นกลูโคสและ  $H^+$  [28, 29] ในทำนองเดียวกัน เฮมิเซลลูโลสจะถูกย่อยได้เป็นกลูโคส กาแลคโตส แมนโนส ไซโลส และ อะราบินอส ซึ่งกระบวนการย่อยสลายด้วยกรดนี้จะมีผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น สารประกอบเฟอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล และกรดต่างๆ เกิดขึ้นด้วยและมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย



**ตารางที่ 1** ข้อดี ข้อจำกัด การเกิดสารยับยั้ง ค่าใช้จ่าย และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้ง ลิกโนเซลลูโลสจำแนกตามวิธีการ

วิธีการปรับสภาพ	ข้อดี	ข้อเสีย	การเกิดสารยับยั้ง	ค่าใช้จ่าย	ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
ทางกายภาพ	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ลดขนาดของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส</li> <li>- ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส</li> <li>- เพิ่มพื้นที่ผิวให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร</li> <li>- สามารถใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสได้ทุกประเภท</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ใช้พลังงานสูง</li> <li>- ต้องใช้ร่วมกับวิธีการปรับสภาพวิธีอื่น</li> </ul>	ต่ำ	ต่ำ	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ผลกระทบจากการใช้พลังงานซึ่งส่งผลกระทบต่อโดยอ้อมต่อสิ่งแวดล้อม</li> <li>- ผลกระทบต่ออากาศ: เนื่องจากการลดขนาดวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส จะมีฝุ่นละอองเกิดขึ้น ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพอากาศได้</li> <li>- ผลกระทบทางเสียง: เนื่องจากการอุปกรณ์และเครื่องมือมีเสียงดังขณะทำการลดขนาดวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส</li> </ul>
ทางเคมี					
การใช้กรด	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ทำลายโครงสร้างของลิกนิน</li> <li>- ลดความเป็นผลึกและระดับความเป็นพอลิเมอร์ของเซลลูโลส</li> <li>- สามารถทำที่อุณหภูมิห้องและความดันปกติได้</li> <li>- เหมาะกับการใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสไม้เนื้อแข็งที่มีปริมาณลิกนินต่ำ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ใช้เวลาในการปรับสภาพนาน</li> <li>- ไม่เหมาะกับการใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประเภทไม้เนื้ออ่อนที่มีปริมาณลิกนินน้อย</li> </ul>	ต่ำ	สูง	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ผลกระทบต่อน้ำ: โพลีเอทิลีนไฮดรอกไซด์ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำ และมีพิษปานกลางต่อสัตว์น้ำแอมโมเนียไฮดรอกไซด์เป็นอันตรายอย่างมากต่อสัตว์น้ำและส่งผลกระทบต่อค่าบีโอดีหรือปริมาณความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) เพิ่มสูงขึ้น</li> </ul>
การใช้กรด	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ให้ปริมาณน้ำตาลสูง</li> <li>- ไม่ต้องมีการย่อยสลายต่อ</li> <li>- เหมาะกับการใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและพวกไม้เนื้ออ่อน</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- มีความเป็นพิษอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม</li> <li>- กัดกร่อนอุปกรณ์และเครื่องมือจึงจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่สามารถทนต่อการกัดกร่อนได้</li> </ul>	สูง	สูง	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ผลกระทบต่อน้ำ: การใช้กรดเข้มข้นจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและสัตว์น้ำเนื่องจากกรดจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเปลี่ยนแปลงไป</li> <li>- ผลกระทบต่ออากาศ: กรดซัลฟิวริกจะมีลักษณะ</li> </ul>



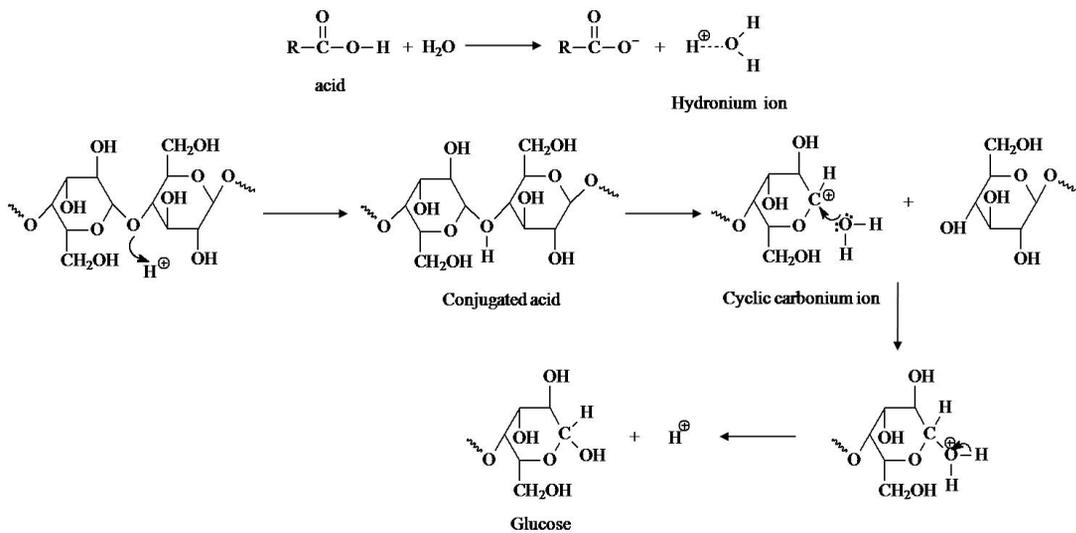
ตารางที่ 1 (ต่อ)

วิธีการปรับสภาพ	ข้อดี	ข้อเสีย	การเกิดสารยับยั้ง	ค่าใช้จ่าย	ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
		- ต้องมีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างก่อนนำไปใช้			เป็นอนุภาคหรือละอองฝอยเมื่อปนเปื้อนในอากาศ ซึ่งอาจรวมตัวกับเมฆและเกิดการสะสมแบบเปียกจนเกิดเป็นฝนกรดได้
<b>ทางกายภาพร่วมกับเคมี</b>					
การระเบิดด้วยแอมโมเนีย	- เพิ่มพื้นที่ผิวให้กับวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส - สามารถนำแอมโมเนียกลับมาใช้ใหม่ได้ - เหมาะกับการใช้ปรับสภาพพวกไม้ล้มลุกและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	- ไม่เหมาะกับการใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสพวกไม้เนื้ออ่อนและวัสดุที่มีปริมาณลิกนินสูง	ต่ำ	ต่ำ	- ผลกระทบต่อน้ำ: ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำสูงขึ้นและค่าดีไอหรือปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) ลดลง ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ (หมายรวมถึงทั้งสัตว์น้ำและพืชน้ำ)
การระเบิดด้วยไอน้ำ	- ไม่มีการใช้สารเคมี - เหมาะกับการใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประเภทไม้เนื้อแข็ง	- ใช้พลังงานสูง - ใช้น้ำปริมาณมาก - ไม่เหมาะกับการใช้ปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประเภทไม้เนื้ออ่อน	สูง	สูง	- ผลกระทบจากการใช้พลังงานปริมาณมากซึ่งเป็นผลกระทบทางอ้อมต่อสิ่งแวดล้อม - ผลกระทบต่อทรัพยากรน้ำ: เนื่องจากมีการใช้น้ำในปริมาณมาก
การใช้น้ำร้อน	- ไม่มีการใช้สารเคมี - กำจัดลิกนินและแอมมิเซลลูโลส		ต่ำ	ต่ำ	ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยเนื่องจากมีการใช้พลังงานและน้ำปริมาณน้อย
<b>ทางชีวภาพ</b>	- มีความจำเพาะต่อลิกนิน - ใช้พลังงานต่ำ - ไม่มีการใช้สารเคมี - สามารถใช้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ไม้เนื้ออ่อน	- อัตราการย่อยสลายต่ำ - ใช้เวลาในการปรับสภาพนาน	ต่ำ	ต่ำ	ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยเนื่องจากมีการใช้พลังงานต่ำ

2. การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Enzyme hydrolysis)

โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยทั่วไปเอนไซม์เซลลูเลสประกอบด้วยเอนไซม์ 3 กลุ่ม ได้แก่ (1) เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลลูโลสตรงส่วนที่ไม่เป็นระเบียบ

(amorphous) หรือย่อยหน่วยย่อยของเซลลูโลสตรงตำแหน่งพันธะ  $\beta$ -1,4-glycosidic (2) เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) จะทำหน้าที่ร่วมกับเอนโดกลูคาเนส โดยย่อยสลายเซลลูโลสจากปลายด้านที่เป็นน้ำตาลอนรีดิวซ์ได้



ภาพที่ 2 กลไกในการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรด [28]

ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลเซลโลไบโอส และ (3) บีต้า-กลูโคไซด์ (β-glucosidase) ทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลเซลโลไบโอสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส [30] ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสสามารถผลิตได้จากแบคทีเรีย เช่น *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Streptomyces*, *Thermomonospora* เป็นต้น และราบางชนิด เช่น *Aspergillus*, *Schizophyllum* และ *Penicillium* เป็นต้น [31]

นอกจากนี้ มีการใช้เอนไซม์อื่นๆ ร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส เช่น เอนไซม์ไซลาลเนส อะราบิเนส และแลคเคส และมีการเติมสารลดแรงตึงผิว และสารตัวกลาง (mediator) เช่น ไฮดรอกซีเบนโซไตรอะโซล (HOBT) และ 2,2'-อะซิโนบิส (3-เอทิลเบนโซโทอะโซลิน-6-ซัลโฟนิค แอซิด) (ABTS) เพื่อให้เอนไซม์มีศักยภาพในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น [32]

แม้ว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายเซลลูโลสและมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าการย่อยสลายด้วยกรด แต่การย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นมีความค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากเอนไซม์มีราคาสูง นอกจากนี้ต้องใช้เวลาในการย่อยสลายนาน ส่วนการย่อยสลายด้วยกรดมีความค่าใช้จ่ายและเวลาในการย่อยสลายน้อยกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ แต่มีข้อเสีย คือ มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและต้องใช้อุปกรณ์ที่ต้องทนต่อการกัดกร่อนสูง

### สารยับยั้งและการกำจัดสารยับยั้งในไฮโดรไลเซต สารยับยั้ง (Inhibitor)

ในกระบวนการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสต่างๆ และการย่อยสลายนั้นนอกจากจะได้น้ำตาลแล้วยังมีสารยับยั้งเกิดขึ้นด้วยเสมอ โดยทั่วไปสารยับยั้งประกอบด้วย 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ กรดอ่อน (weak acid) เช่น กรดแอซิติค กรดฟอร์มิก และกรดเลวูลินิก โดยกรดแอซิติคเกิดจากการแตกตัวของหมู่อะซิติกในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส ขณะที่กรดฟอร์มิกและกรดเลวูลินิกเกิดจากการสลายตัวของสารประกอบเพอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล ตามลำดับ เมื่อกรดเหล่านี้ผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย กรดจะเกิดการแตกตัวและทำให้ค่าความเป็นกรดต่างภายในเซลล์ของแบคทีเรียลดลงและตายในที่สุด [33] กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เกิดจากการแตกตัวของโครงสร้างลิกนิน โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเกิดความเสียหาย [17] กลุ่มที่ 3 ได้แก่ อนุพันธ์ฟูแรน (furan derivatives) เช่น เพอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล เกิดจากปฏิกิริยาดีไฮเดรชันของน้ำตาล โดยสารประกอบทั้งสองจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย [34] ซึ่งจะส่งผลให้ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการลดลงได้



## การกำจัดสารยับยั้ง (Detoxification)

### 1. การกำจัดสารยับยั้งด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical method)

การระเหย (evaporation) และการกรองผ่านเมมเบรน (membrane filtration) เป็นวิธีทางกายภาพที่นิยมใช้กำจัดสารยับยั้งที่ระเหยได้ เช่น กรดแอสติค สารประกอบเพอร์ฟูรล และอื่นๆ โดยการระเหยด้วยสุญญากาศหรือใช้เมมเบรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลตัดการกรอง (molecular weight cut off) ตั้งแต่ 100-1000 กรัมต่อโมล [34] ในการแยกสารยับยั้งออกจากไฮโดรไลเซท

### 2. การกำจัดสารยับยั้งด้วยวิธีทางเคมี (Chemical method)

#### 2.1) การทำให้เป็นกลาง (Neutralization)

เป็นกระบวนการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายไฮโดรไลเซทด้วยสารละลายต่าง ได้แก่ สารละลายแคลเซียม โซเดียม และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งในกระบวนการนี้สารประกอบเพอร์ฟูรลและไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรลจะตกตะกอนและถูกกำจัดออกโดยการกรอง [34]

#### 2.2) การปรับต่างเกิน (Overliming)

ทำได้โดยเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ลงในไฮโดรไลเซทเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยในกระบวนการนี้กรดซัลฟิวริกที่มีอยู่ในไฮโดรไลเซทจะทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไฮดรอกไซด์เกิดเป็นสารประกอบแคลเซียมซัลเฟตหรือยิปซัมซึ่งไม่ละลายน้ำและแยกออกโดยการกรอง นอกจากนี้วิธีนี้ยังสามารถกำจัดสารประกอบเพอร์ฟูรลและไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรลได้บางส่วนด้วย อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อเสีย คือ ปริมาณน้ำตาลลดลงเนื่องจากน้ำตาลจะถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่ไม่สามารถนำไปใช้หมักได้ (unfermentable compound) ในขณะที่เกิดปฏิกิริยา [35]

#### 2.3) การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ (Activated charcoal adsorption)

การกำจัดสารยับยั้งโดยการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์เป็นวิธีที่นิยมใช้เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายน้อย มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารยับยั้งพวกสารประกอบที่ไม่ชอบน้ำ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก และเพอร์ฟูรล และไม่ส่งผลกระทบต่อ

ปริมาณน้ำตาลในไฮโดรไลเซทอีกด้วย [34] โดยประสิทธิภาพของการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความเป็นกรด-ด่าง เวลาในการดูดซับ อุณหภูมิ และอัตราส่วนระหว่างปริมาณถ่านกัมมันต์กับปริมาตรไฮโดรไลเซท เป็นต้น [36]

### 3. การกำจัดสารยับยั้งด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological method)

วิธีนี้มีข้อดี คือ ทำในสถานะที่ไม่รุนแรง ใช้พลังงานน้อย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม [37] เนื่องจากใช้จุลินทรีย์ เช่น *Coniochaeta ligniaria*, *Trichoderma reesei*, *Ureibacillus thermosphaerius* และ *Issatchenkia occidentalis* เป็นต้น ในการกำจัดสารยับยั้งพวกสารประกอบเพอร์ฟูรล ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรล และฟีนอลิก [38] ทั้งนี้ประสิทธิภาพของการกำจัดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ เวลาในการบ่ม ขนาดหัวเชื้อ และเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ [17] อย่างไรก็ตามการกำจัดสารยับยั้งด้วยจุลินทรีย์ใช้เวลานานและมีการสูญเสียน้ำตาลจึงไม่ค่อยนิยมนำมาใช้ในการกำจัดสารยับยั้งในไฮโดรไลเซท [39] นอกจากนี้ยังมีการใช้เอนไซม์ในการกำจัดสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเอนไซม์ที่นิยมใช้ คือ แลคเคสและเปอร์ออกไซด์จากราฟูลีสขาว ตัวอย่างราในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Cyathus bulleri*, *Cyathus stercoreus* และ *Pycnoporous cinnabarinus* [39] โดยกระบวนการกำจัดสารยับยั้งด้วยเอนไซม์นี้จะเกี่ยวข้องกับหลายกลไก เช่น การเปิดวงของสารประกอบอะโรมาติกโดยการเติมออกซิเจน (oxidative fission) หรือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่หมู่อัลฟาไฮดรอกซิล การเติมน้ำที่อัลฟาคาร์บอนิล และการสลายพันธะแอริลอีเธอร์ เป็นต้น [40]

อย่างไรก็ตามการเลือกใช้วิธีใดในการกำจัดสารยับยั้งควรคำนึงถึงองค์ประกอบของสารยับยั้งที่มีอยู่ในไฮโดรไลเซทดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อนำวิธีดังกล่าวไปใช้กำจัดสารยับยั้งในไฮโดรไลเซทของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสต่างๆ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมจะสามารถกำจัดสารยับยั้งได้ดังแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 2** สารยับยั้งที่กำจัดในแต่ละวิธี

วิธีการกำจัดสารยับยั้ง	สารยับยั้ง
การระเหยและการกรองผ่านเมมเบรน	สารที่ระเหยได้ เช่น กรดแอสिटิก สารประกอบเฟอร์ฟูรัล วานิลลิน เป็นต้น
การทำให้เป็นกลาง	สารประกอบเฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล
การปรับค่า pH	กรดซัลฟูริก สารประกอบเฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล สารประกอบฟีนอลิก
การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์	สารประกอบที่ไม่ชอบน้ำ ได้แก่ สารประกอบเฟอร์ฟูรัล และสารประกอบฟีนอลิก
การใช้เอนไซม์	สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบเฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

**ตารางที่ 3** สภาวะที่ใช้และปริมาณสารยับยั้งที่กำจัดได้ในแต่ละวิธี

วิธีการกำจัดสารยับยั้ง	วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	สภาวะการกำจัดสารยับยั้ง	สารยับยั้งและปริมาณที่กำจัด	เอกสารอ้างอิง
<b>ทางกายภาพ</b>				
การกรองผ่านเมมเบรน	ต้นซูการ์เมเปิ้ล	เมมเบรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลตัดการกรอง 130 และ 200 ดาลตัน	สารประกอบเฟอร์ฟูรัลได้เกือบทั้งหมด สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลและกรดแอสिटิกได้มากกว่าร้อยละ 90.0	[41]
การระเหยด้วยสูญญากาศ	ต้นสปรูซ	ระเหยไฮโดรไลเซทให้มีปริมาตรเหลือร้อยละ 10 ของปริมาตรเริ่มต้น	กรดแอสिटิกร้อยละ 65 กรดฟอร์มิกร้อยละ 74 สารประกอบเฟอร์ฟูรัลได้ทั้งหมดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลร้อยละ 4	[42]
<b>ทางเคมี</b>				
การทำให้เป็นกลาง	กากใบของต้นเลา	สารเคมี: สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มอล	สารประกอบเฟอร์ฟูรัลร้อยละ 40.0 สารประกอบฟีนอลิกร้อยละ 30.0	[43]
การปรับค่า pH	ต้นพอลาร์เกิน	สารเคมี: แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเป็นกรด-ด่าง: 10 อุณหภูมิ: 60 องศาเซลเซียส เวลาในการทำปฏิกิริยา: 2 ชั่วโมง	กรดฟอร์มิกร้อยละ 8.0 กรดเลวูลินิกร้อยละ 5.0 สารประกอบเฟอร์ฟูรัลร้อยละ 75.6 สารประกอบฟีนอลิก เช่น วานิลลินและไซริงกัลดีไฮด์ประมาณร้อยละ 30-40 กรดเพอรูลิกร้อยละ 60.0	[44]
การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์	กากกาแฟ	อัตราส่วนระหว่างถ่านกัมมันต์กับปริมาตรไฮโดรไลเซท: 1 กรัมต่อ 20 มิลลิลิตร อุณหภูมิในการดูดซับ: 60 องศาเซลเซียสเวลาในการดูดซับ: 1 ชั่วโมง	สารประกอบฟีนอลิกได้ร้อยละ 55.0 กรดเลวูลินิกได้ร้อยละ 60.3 สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลได้ร้อยละ 52.6	[45]
	ต้นสปรูซ	ปริมาณถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อไฮโดรไลเซท 100 มิลลิลิตร อุณหภูมิในการดูดซับ: อุณหภูมิห้อง เวลาในการดูดซับ: 5 นาที	สารประกอบเฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลร้อยละ 94.0 กรดแอสिटิกร้อยละ 28.0 กรดฟอร์มิกร้อยละ 39.0 สารประกอบฟีนอลิกร้อยละ 88.8	[46]



ตารางที่ 3 (ต่อ)

วิธีการกำจัดสารยับยั้ง	วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	สภาวะการกำจัดสารยับยั้ง	สารยับยั้งและปริมาณที่กำจัด	เอกสารอ้างอิง
ทางชีวภาพ	เอนไซม์ ฟางข้าวสาลี	เอนไซม์แลคเคส 2 ชนิดจาก <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> และ <i>Trametes villosa</i> บัพเฟอร์: สารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์ เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง: 5 ปริมาณเอนไซม์: 10 ไอ.ยู. ต่อกรัม อุณหภูมิ: 30 องศาเซลเซียส ( <i>T. villosa</i> laccasse) และ 50 องศาเซลเซียส ( <i>P. cinnabarinus</i> laccasse) ความเร็วในการเขย่า: 150 รอบต่อนาที เวลาในการทำปฏิกิริยา: 3 ชั่วโมง	เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดสามารถกำจัดสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ไซริงกัลดีไฮด์ กรดพาราความาริก และกรดเพอรูริก ได้ทั้งหมด นอกจากนี้ <i>P. cinnabarinus</i> lacasse สามารถกำจัดกรดฟอร์มิคได้อีกด้วย	[47]

จากตารางที่ 3 พบว่า สารยับยั้งแต่ละชนิดสามารถใช้วิธีการกำจัดได้หลายวิธี และบางวิธีให้ประสิทธิภาพการกำจัดสูง เช่น การกำจัดสารประกอบเพอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล และกรดอะซิติกในไฮโดรไลเซชันด้วยเอนไซม์ หรือการกำจัดสารประกอบเพอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล และฟีนอลิกในไฮโดรไลเซชันสปรูซด้วยการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ เป็นต้น

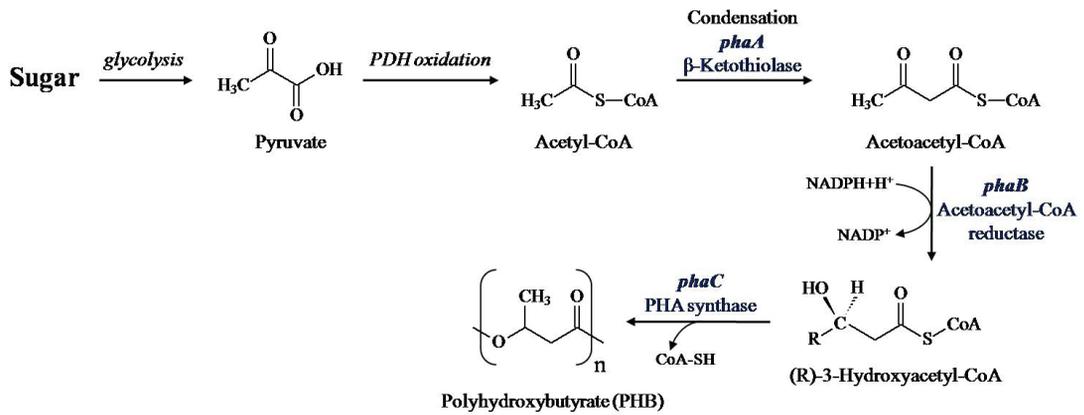
รหัสโดยยีน *phaA* จากนั้น acetoacetyl-CoA ถูกรีดิวซ์โดยเอนไซม์ acetoacetyl-CoA (*phaB*) เกิดเป็น (R)-3-hydroxyacyl-CoA มอนอเมอร์ และสุดท้าย (R)-3-hydroxyacyl-CoA มอนอเมอร์ทำปฏิกิริยากันผ่านปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) โดยมีเอนไซม์ PHA synthase (*phaC*) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็น PHAs [48] ดังภาพที่ 3

วิถีเมแทบอลิซึมในการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตโดยแบคทีเรีย (Metabolic pathway for PHAs synthesis by bacteria)

PHAs จะถูกผลิตและสะสมอยู่ในเซลล์ของแบคทีเรียโดยมีเอนไซม์และยีนที่เกี่ยวข้อง 3 ชนิด คือ เอนไซม์  $\beta$ -ketothiolase เอนไซม์ acetoacetyl-CoA เอนไซม์ PHA synthase และยีนสำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ *phaA*, *phaB* และ *phaC* เมื่อใช้น้ำตาลที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ในขั้นตอนแรกน้ำตาลจะถูกเปลี่ยนเป็นไพรูเวตโดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส จากนั้น ไพรูเวตจะทำปฏิกิริยากับ coenzyme A เกิดเป็น acetyl-Co A จำนวน 2 โมเลกุลโดยมีเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase (PDH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่ง acetyl-Co A จำนวน 2 โมเลกุลนี้จะรวมตัวกันเกิดเป็น acetoacetyl-CoA โดยเอนไซม์  $\beta$ -ketothiolase ซึ่งถูกแปล

การใช้วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต

มีวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประเภทต่างๆ ได้นำมาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์ PHAs โดยแบคทีเรียดังแสดงในตารางที่ 4 จากตาราง พบว่าไฮโดรไลเซชันที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยสลายด้วยวิธีต่างๆ โดยไม่ผ่านการกำจัดสารยับยั้งสามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต PHAs ได้ โดย PHAs ที่ผลิตได้จะเป็นชนิด scl-PHAs ทั้งไฮโม (PHB) และโคพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (PHBV) แต่ปริมาณ PHAs ที่ผลิตได้ค่อนข้างน้อย ทั้งนี้หากใช้แบคทีเรียมากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ เช่น การใช้ co-culture หรือ activated sludge จะทำให้ปริมาณ PHAs เพิ่มขึ้นได้ เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์สามารถนำน้ำตาลไปใช้และผลิต PHAs ได้แตกต่างกัน



ภาพที่ 3 วิถีเมแทบอลิซึมในการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (ดัดแปลงจาก [48])

ตารางที่ 4 การใช้วัสดุเหลือทิ้งจากโนเชลลูโลสประเภทต่างๆ สำหรับผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต ประเภทและปริมาณพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตที่ผลิตได้

วัสดุเหลือทิ้งจาก โนเชลลูโลส	การปรับสภาพ	การย่อย สลาย	การกำจัด สารยับยั้ง	ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เชื้อแบคทีเรีย	ประเภท ของ PHAs	ปริมาณ PHAs (กรัมต่อ ลิตร)	ร้อยละการ สะสมของ PHAs (ร้อยละ โดยน้ำหนัก เซลล์แห้ง)
ชานอ้อย [49]	กรด ซัลฟิวริก	-	-	-	<i>Ralstonia eutropha</i> ATCC 17699 ร่วมกับ <i>Lysinibacillus</i> sp. RGS	PHA	6.38	70.00
ฟางข้าว [50]	แอมโมเนีย	เอนไซม์	-	-	<i>Bacillus cereus</i> VK 92 <i>Bacillus cereus</i> VK 98	PHA	2.96 2.51	59.30 46.40
ซังข้าวโพด [32]	โซเดียมไฮดร ออกไซด์	เอนไซม์	-	-	<i>Cupriavidus necator</i> DSM 545	PHB	2.10	-
ทะลามาปาล์ม เปล่า [51]	กรด ซัลฟิวริก	-	-	35.20	<i>Bacillus cereus suaeda</i> B-001	PHB	3.29	55.44
ซังข้าวโพด [52]	กรด ซัลฟิวริก	-	-	35.84	<i>Bacillus megatherium</i> BM 37	PHB	0.96	36.16



## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	การปรับสภาพ	การย่อยสลาย	การกำจัดสารยับยั้ง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เชื้อแบคทีเรีย	ประเภทของ PHAs	ปริมาณ PHAs (กรัมต่อลิตร)	ร้อยละการสะสมของ PHAs (ร้อยละโดยน้ำหนักเซลล์แห้ง)
หญ้าสัตว์ชักราส [53]	โซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลีนวิทย์	เอนไซม์	-	21.30	recombinant <i>Escherichia coli</i>	PHB	4.50	50.10
เส้นใยอะกาเว [54]	กรดซัลฟิวริก	-	ถ่านกัมมันต์	20.60	<i>Burkholderia sacchari</i>	PHB	2.67	24.20
ใบอะกาเว [55]	คลื่นเสียงความถี่สูง	เอนไซม์	-	-	<i>Bacillus cereus</i> 4N	PHB	0.32	16.79
ลำต้นต้นปอแก้ว [56]	โซเดียมคาร์โบเนตและโซเดียมซัลไฟต์	เอนไซม์	-	-	<i>Ralstonia eutropha</i>	PHB	10.10	70.00
ฟางข้าวฟ่างสามง่าม [57]	คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์	เอนไซม์	-	-	<i>Bacillus megaterium</i> strain CAM12	PHB	8.31	51.20
ฟางข้าวสาลี [58]	กรดแอสซิดิกและระเบิดด้วยไอน้ำ	เอนไซม์	-	28.58	<i>Ralstonia eutropha</i> DSM 545	PHB	4.72	61.80
ต้นพอลาร์ [59]	น้ำร้อน	เอนไซม์	-	-	Activated sludge	PHBV	6.37	-
ชานอ้อย [60]	กรดซัลฟิวริก	-	-	12.64	<i>Halogeometricum borinquense</i> strain E3	PHBV	1.60	50.40
ข้าวบาร์เลย์หมักมีสแคนทัสต้นโพ [61]	กรดซัลฟิวริก	-	-	148.96	<i>Ralstonia eutropha</i> 5119	PHBV	1.80	54.00
				122.35			2.00	44.00
				138.64			1.70	63.00

## บทสรุป

แหล่งคาร์บอนนับได้ว่าเป็นปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิต PHAs การมองหาแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูก มีปริมาณมาก และสามารถทดแทนใหม่ได้จึงเป็นทางหนึ่งที่สามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตได้ ดังนั้นวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจึงเป็นแหล่งคาร์บอนที่น่าสนใจในการนำมาใช้ผลิต PHAs เนื่องจากเป็นวัสดุธรรมชาติที่มีปริมาณมาก และราคาถูก อย่างไรก็ตามการนำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์ PHAs นั้นยังมีข้อจำกัดอยู่ คือ จำเป็นต้องมีกระบวนการในการเปลี่ยนเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบในวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยทั่วไปจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ การปรับสภาพ การย่อยสลาย วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส และการกำจัดสารยับยั้ง ซึ่งในแต่ละขั้นตอนของการนำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนนั้นจะมีประสิทธิภาพ ค่าใช้จ่าย และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากน้อยแตกต่างกันอยู่กับวิธีที่ใช้ ทั้งนี้หากพิจารณาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการนำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิต PHAs นั้นนับว่าน้อยกว่ามากเมื่อเปรียบเทียบกับผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการผลิตพลาสติกสังเคราะห์และปัญหาสิ่งแวดล้อมจากขยะพลาสติกสังเคราะห์ เพราะนอกจากจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสแล้วยังเป็นการลดของเสียหรือผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมต่างๆ และได้ผลผลิตพลาสติกชีวภาพซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม อีกทั้ง PHAs ที่ผลิตได้สามารถนำไปใช้ทั้งในด้านการแพทย์ อุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์ต่างๆ และด้านการเกษตรอีกด้วย

ดังนั้นเพื่อให้การผลิต PHAs จากวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมีศักยภาพสูง สามารถแข่งขันกับพลาสติกสังเคราะห์ได้และเป็นการผลิตที่ยั่งยืนในอนาคต จึงควรใช้วิธีการในกระบวนการปรับสภาพ การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส และการกำจัดสารยับยั้งที่ให้ประสิทธิภาพสูง มีค่าใช้จ่าย และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

เท่าที่จะเป็นไปได้ ทั้งนี้การผลิต PHAs จากวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจะสามารถพัฒนาและนำไปสู่การผลิตอย่างยั่งยืนในอนาคตได้นั้น จะต้องได้รับการสนับสนุนและส่งเสริมจากภาครัฐ เอกชน และสถาบันการศึกษาในองค์ความรู้และเทคโนโลยีเรื่องของการจัดการของเสียหรือผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมต่างๆ โดยการนำกลับมาใช้ประโยชน์และก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้นตลอดจนการมีส่วนร่วมของประชาชนในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

## เอกสารอ้างอิง

1. Khatami K, Perez-Zabaleta M, Owusu-Agyeman I, Cetecioglu Z. Waste to bioplastics: How close are we to sustainable polyhydroxyalkanoates production?. *Waste Manage* 2021;119:374-88.
2. Reddy CSK, Ghai R, Rashmi, Kalia VC. Polyhydroxyalkanoates: An overview. *Bioresour Technol* 2003;87(2):137-46.
3. Sangkharak K. The production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from renewable feedstock derived from various wastes. *tsuj* 2011;14(1):97-110.
4. Mozejko-Ciesielska J, Marciniak P, Szacherska K. Polyhydroxyalkanoates synthesized by *Aeromonas* species: Trends and challenges. *Polymers (Basel)* 2019;11(8):1328.
5. Vu DH, Akesson D, Taherzadeh MJ, Ferreira JA. Recycling strategies for polyhydroxyalkanoate-based waste materials: An overview. *Bioresour Technol* 2020;298:122393.
6. Raza ZA, Abid S, Banat IM. Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications. *Int Biodeterior Biodegradation* 2018;126:45-56.



7. Tepha.com Lexington: Tepha Inc. [อินเทอร์เน็ต]. 2018 [เข้าถึงเมื่อ 27 ม.ค. 2564]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.tepha.com/>
8. Adeleye AT, Odoh CK, Enudi OC, Banjoko OO, Osiboye OO, Odediran ET, et al. Sustainable synthesis and applications of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from biomass. *Process Biochem* 2020;96:174-93.
9. Amelia, T. S. M., Govindasamy, S., Muthaliar, A., Sevakumaran, V., & Bhubalan, K. Applications of PHA in Agriculture. *Biotechnological applications of polyhydroxyalkanoates* [อินเทอร์เน็ต]. 2019 [เข้าถึงเมื่อ 27 ม.ค. 2564]. เข้าถึงได้จาก: [https://www.academia.edu/41948172/Applications\\_of\\_Polyhydroxyalkanoate\\_in\\_Agriculture](https://www.academia.edu/41948172/Applications_of_Polyhydroxyalkanoate_in_Agriculture)
10. Novelli LDD, Sayavedra SM, Rene ER. Polyhydroxyalkanoate (PHA) production via resource recovery from industrial waste streams: a review of techniques and perspectives. *Bioresour Technol* 2021;331:124985.
11. Crutchik D, Franchi O, Canminos L, Jeison D, Belmonte M, Pedrouso A, et al. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production: A feasible economic option for the treatment of sewage sludge in municipal wastewater treatment plants?. *Water* 2020;12:2-12.
12. Isikgor FH, Becer CR. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers. *Polym Chem* 2015;6:4497-559.
13. Liu WJ, Yu HQ. Thermochemical conversion of lignocellulosic biomass into mass-producible fuels: emerging technology progress and environmental sustainability evaluation. *ACS Environ Au* 2022;2:98-114.
14. Fatma S, Hameed A, Noman M, Ahmed T, Shahid M, Tariq M, et al. Lignocellulosis biomass: a sustainable bioenergy source for the future. *Protein Pept Lett* 2018;25(2):148-63.
15. Baruah J, Nath BK, Sharma R, Kumar S, Deka RC, Baruah DC, et al. Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products. *Front Energy Res* 2018;6(8):1-19.
16. Prasad A, Sotenko M, Blenkinsopp T, Coles SR. Life cycle assessment of lignocellulosic biomass pretreatment methods in biofuel production. *Int J Life Cycle Assess* 2016;21:44-50.
17. Rao LV, Goli JK, Gentela J, Koti S. Bioconversion of lignocellulose biomass to xylitol: an overview. *Bioresour Technol* 2016;213:299-310.
18. Kumar A, Anushree, Kumar J, Bhaskar T. Utilization of lignin: A sustainable and eco-friendly approach. *J Energy Inst* 2020;93(1):235-71.
19. Sukruansuwan V, Napathorn SC. Use of agro-industrial residue from the canned pineapple industry for polyhydroxybutyrate production by *Cupriavidus necator* strain A-04. *Biotechnol Biofuels* 2018;11(202):1-15.
20. Khattab MM, Dahman Y. Production and recovery of poly-3-hydroxybutyrate bioplastics using agro-industrial residues of hemp hurd biomass. *Bioprocess Biosyst Eng* 2019;42:1115-27.
21. Meneses DB, Montes de Oca-Vasquez G, Vega-Baudrit J, Rojas-Alvarez M, Corrales-Castillo J, Murillo-Araya LC. Pretreatment methods of lignocellulosic wastes into value-added



- products: Recent advances and possibilities. *Biomass Convers Biorefin* 2020;2:547-64.
22. Maurya DP, Singla A, Negi S. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech* 2015;(5):597-609.
23. Norrrahim MNF, Ilyas RA, Nurazzi NM, Rani MSA, Atikah MSN, Shazleen SS. Chemical pretreatment of lignocellulosic biomass for the production of bioproducts: An overview. *Appl Sci Eng Prog* 2021;14(4):588-605.
24. Kumar P, Barrett DM, Delwiche MJ, Stroeve P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Ind Eng Chem Res* 2009;48:3713-29.
25. Abdul PM, Jahim JM, Harun S, Markom M, Lutpi NA, Hassan O, et al. Effects of changes in chemical and structural characteristic of ammonia fibre expansion (AFEX) pretreated oil palm empty fruit bunch fibre on enzymatic saccharification and fermentability for biohydrogen. *Bioresour Technol* 2016;211:200-8.
26. Ul Haq I, Qaisar K, Nawaz A, Akram F, Mukhtar H, Zohu X, et al. Advances in valorization of lignocellulosic biomass towards energy generation. *Catalysts* 2021;11(3):309.
27. Verardi A, de Bari I, Ricca E, Calabro V. Hydrolysis of lignocellulosic biomass: Current status of processes and technologies and future perspectives. *Bioethanol* [อินเทอร์เน็ต]. 2012 [เข้าถึงเมื่อ 13 พ.ค. 2563]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.intechopen.com/chapters/27352>
28. Lelekakis N, Wijaya J, Martin D, Susa D. The effect of acid accumulation in power-transformer oil on the aging rate of paper insulation. *IEEE Electr Insul Mag* 2014;30(3):19-26.
29. Sasml S, Mohanty K. Pretreatment of lignocellulosic biomass toward biofuel production. In: Kumar S, Sani RK, editors. *Biorefining of biomass to biofuels* [อินเทอร์เน็ต]. 2018 [เข้าถึงเมื่อ 13 พ.ค. 2563]. เข้าถึงได้จาก: [https://www.researchgate.net/publication/320910499\\_Pretreatment\\_of\\_Lignocellulosic\\_Biomass\\_Toward\\_Biofuel\\_Production](https://www.researchgate.net/publication/320910499_Pretreatment_of_Lignocellulosic_Biomass_Toward_Biofuel_Production)
30. วัฒนา อัจฉริยะโพธา, ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์, พิมนารา นิลฤทธิ์. การศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากเห็ดราทำลายไม้ในการผลิตแอลกอฮอล์จากผักตบชวา ด้วยวิธีการย่อยสลายให้เกิดเป็นน้ำตาลแบบต่อเนื่องกับการหมัก. *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์* 2561;13(3):23-32.
31. Sun Y, Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresour Technol* 2002;83(1):1-11.
32. Li M, Eskridge K, Liu E, Wilkins M. Enhancement of polyhydroxyalkanoate (PHB) production by 10-fold from alkaline pretreatment liquor with an oxidative enzyme-mediator-surfactant system under Plackett-Burman and central composite designs. *Bioresour Technol* 2019;281:99-106.
33. Obruca S, Benesova P, Marsalek L, Marova I. Use of lignocellulosic materials for PHA production. *Chem Biochem Eng Q* 2015;29(2):133-44.
34. Bhatia SK, Jagtap SS, Bedekar AA, Bhatia RK, Patel AK, Pant D, et al. Recent developments in pretreatment technologies on lignocellulosic biomass: effect of key parameters, technological improvements, and challenges. *Bioresour Technol* 2020;300:1-13.



35. Cardona CA, Quintero JA, Paz IC. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. *Bioresour Technol* 2010;101:4754-66.
36. Chandel AK, da Silva SS, Singh OV. Detoxification of lignocellulosic hydrolysates for improved bioethanol production. *Biofuel production-recent developments and prospects* [อินเทอร์เน็ต]. 2011 [เข้าถึงเมื่อ 17 พ.ค. 2563]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.intechopen.com/chapters/20063>
37. Kim D. Physico-chemical conversion of lignocellulose: Inhibitor effects and detoxification strategies: A mini review. *Molecules* 2018;23(2):309.
38. Tatyana M, Sergey S. Biological detoxification of lignocellulosic hydrolysates for improved biobutanol production. *Key Eng Mater* 2016;683:525-30.
39. Chandel AK, da Silva SS, Singh OV. Detoxification of lignocellulose hydrolysates: Biochemical and metabolic engineering toward white biotechnology. *Bioenergy Res* 2013;6(1):388-401.
40. อนุกุล เกียรติขวัญบุตร. การกำจัดสีและการย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอลิกในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยราไวท์รอกที่ตรึงบนวัสดุเศษเหลือน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา; 2556.
41. Pan W, Perrotta JA, Stipanovic AJ, Nomura CT, Nakas JP. Production of polyhydroxyalkanoates by *Burkholderia cepacia* ATCC 17759 using a detoxified sugar maple hemicellulosic hydrolysate. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2012;39:459-69.
42. Larsson S, Reimann A, Nilvebrant NO, Jonsson LJ. Comparison of different methods for the detoxification of lignocellulose hydrolysates of spruce. *Appl Biochem Biotechnol* 1999;77:91-103.
43. Lanka S, Adivikatla VR, Shaik N, Kothagauni SY, Panda SH, Yenumula GP, et al. Studies on different detoxification method for the acid hydrolysate of lignocellulosic substrate *Saccharum spontaneum*. *Dyn Biochem Process Biotechnol Mol Biol* 2011;5(2):53-7.
44. Zhang Y, Xia C, Lu M, Tu M. Effect of overliming and activated carbon detoxification on inhibitors removal and butanol fermentation of poplar prehydrolysates. *Biotechnol Biofuels* 2018;11:178.
45. Obruca S, Benesova P, Petrik S, Oborna J, Prikryl R, Marva I. Production of polyhydroxyalkanoates using hydrolysate of spent coffee grounds. *Process Biochem* 2014;49(9):1409-14.
46. Guo X, Cavka A, Jonsson L, Hong F. Comparison of method for detoxification of spruce hydrolysate for bacterial cellulose production. *Microb Cell Fact* 2013;12(93):1-14.
47. Moreno AD, Ibarra D, Fernandez JL, Ballesteros M. Different laccase detoxification strategies for ethanol production from lignocellulosic biomass by the thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. *Bioresour Technol* 2012;106:101-9.
48. Gumel AM, Annuar MSM, Chisti Y. Recent advances in the production, recovery and applications of polyhydroxyalkanoates. *J Polym Environ* 2013;21(2):580-605.
49. Saratale RG, Cho SK, Kadam AA, Ghodake GS, Kumar M, Bharagava RN, et al. Developing



- microbial co-culture system for enhanced polyhydroxyalkanoates (PHA) production using acid pretreated lignocellulosic biomass. *Polymers (Basel)* 2022;14(4):726.
50. Thuoc DV, Chung NT, Hatti-Kaul R. Polyhydroxyalkanoate production from rice straw hydrolysate obtained by alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis using *Bacillus* strains isolated from decomposing straw. *Bioresour Bioprocess* 2021;8(98):1-11.
51. Yustinah, Hidayat N, Alamsyah R, Roslan AM, Hermansyah H, Gozan M. Production of polyhydroxybutyrate from oil palm fruit bunch (OPEFB) hydrolysates by *Bacillus cereus* *suaeda* B-001. *Biocatal Agric Biotechnol* 2019;18(2):101019.
52. Stoica I, Petrovici AR, Silion M, Varganici CD, Dinica R, Bahrim G. Corn cob hydrolyzates used for microbial biosynthesis of polyhydroxybutyrate. *Cellulose Chem Technol* 2018;52(1-2):65-74.
53. Wang X, Zhang ZT, Wang Y, Wang Y. Production of polyhydroxybutyrate (PHB) from switchgrass pretreated with a radio frequency-assisted heating process. *Biomass Bioenergy* 2016;94:220-7.
54. Gonzalez-Garcia Y, Grieve J, Meza-Contreras JC, Clifton-Garcia B, Silva-Guzman JA. Tequila agave bagasse hydrolysate for the production of polyhydroxybutyrate by *Burkholderia sacchari*. *Bioengineering (Basel)* 2019;6(4):115.
55. Martinez-Herrera RE, Aleman-Huerta ME, Flores-Rodriguez P, Almaguer-Cantu V, Valencia-Vazquez R, Rosas-Flores W, et al. Utilization of *Agava durangensis* leaves by *Bacillus cereus* 4N for polyhydroxybutyrate (PHB) biosynthesis. *Int J Biol Macromol* 2021;175:199-208.
56. Saratale RG, Saratale GD, Cho SK, Kim DS, Ghodake GS, Kadam A, et al. Pretreatment of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) biomass feedstock for polyhydroxybutyrate (PHB) production and characterization. *Bioresour Technol* 2019;282:75-80.
57. Silambarasan S, Logeswari P, Sivaramakrishnan R, Pugazhendhi A, Kamaraj B, Ruiz A, et al. Polyhydroxybutyrate production from ultrasound-aided alkaline pretreated finger millet straw using *Bacillus megaterium* strain CAM12. *Bioresour Technol* 2021;325:124632.
58. Soto LR, Byrne E, van Niel EWJ, Sayed M, Villanue CC, Hatti-Kaul R. Hydrogen and polyhydroxybutyrate production from wheat straw hydrolysate using *Caldicellulosiruptor* species and *Ralstonia eutropha* in a coupled process. *Bioresour Technol* 2019;272:259-66.
59. Yin F, Li D, Ma X, Zhang C. Pretreatment of lignocellulosic feedstock to produce fermentable sugars for poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) production using activated sludge. *Bioresour Technol* 2019;290:121773.
60. Salgaonkar BB, Braganca JM. Utilization of sugarcane bagasse by *Halogeometricum borinquense* strain E3 for biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Bioengineering (Basel)* 2017;4(2):50.
61. Bhatia SK, Gurav R, Choi TR, Jung HR, Yang SY, Moon YM, et al. Bioconversion of plant hydrolysate into bioplastic (polyhydroxyalkanoates) using *Ralstonia eutropha* 5119. *Bioresour Technol* 2019;271:306-15.