รายงานการวิจัย
ประจำปีงบประมาณ 2561

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การผลิตเซลลูโลสิกเอทานอลจากยีสต์ที่คัดแยกได้จากพื้นที่โครงการ อพ.สธ

Cellulosic Ethanol Production Using Isolated Yeast from Plant Genetic Conservation Project under the Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

คณะผู้วิจัย
รศ. ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชมภูนุช กลิ่นวงษ์
ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่แล้วเสร็จ
พุทธศักราช 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ และขอขอบคุณภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่นำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในพื้นที่อนุรักษ์พันธุกรรมพืชวังเขมรมาทำการทดลองผลิตเซลลูโลสิกเอทานอลจากแฝกโดยนำตัวอย่างแฝกมาปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพจนได้เป็นผง จากนั้นทำการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น พบว่า แฝกสายพันธุ์สงขลา 3 มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด คือ 60.86 ± 1.89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาหาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช พบว่า แฝกสายพันธุ์กำแพงเพชร 2 มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสสูงที่สด คือ 39.02 ± 0.89 % แฝกสายพันธุ์ศรีลังกามีปริมาณเซลลูโลส 37.54±0.45 % จากนั้นนำปริมาณของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมาคำนวณหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและไซโลส จากนั้นคำนวณเป็นปริมาณเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี พบว่าแฝกศรีลังกามีค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎีสูงกว่าแฝกกำแพงเพชร 2 จากนั้นนำเชื้อรา *T. reesei* มาผลิตเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งมีแหล่งคาร์บอนเป็นแอลฟาเซลลูโลส และไซแลเนสซึ่งมีแหล่งคาร์บอนเป็น birchwoodxylan แล้ววัดค่าแอกทิวิตี พบว่า เซลลูเลสมีค่าแอกทิวิตีเป็น 1.190 ยูนิต/มิลลิลิตร และมีค่าแอกทิวิตีจำเพาะเป็น 1.071 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ส่วนไซแลเนสมีค่าแอกทิวิตีเป็น 86.961 ยูนิต/มิลลิลิตร และมีค่าแอกทิวิตีจำเพาะเป็น 56.866 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และจะนำเซลลูเลส ไซแลเนสไปย่อยสลายแฝกต่อไป

จากผลการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ แฝกศรีลังกายังมีความสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้เปอร์เซ็นต์สูงกว่าแฝกกำแพงเพชร 2 คือ แฝกศรีลังกา 81.63 เปอร์เซ็นต์ และแฝกกำแพงเพชร 2 78.67 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นแฝกกำแพงเพชร 2 จึงไม่เหมาะสมต่อการขยายเสกลในการศึกษาขั้นตอนของการหมัก ในการทดลองจึงเลือกแฝกศรีลังกาไปทำการศึกษาในขั้นตอนของการหมักต่อไป

คำสำคัญ : จุลินทรีย์เซลลูโลสิก แฝก เอทานอล ยีสต์

สารบัญ

เนื้อหา **หน้า**

กิตติกรรมประกาศ 2

บทคัดย่อ 3

สารบัญ 5

1. บทนำ 8

2. วัตถุประสงค์ 11

3. วิธีดำเนินการวิจัยและแผนปฏิบัติงาน 11

3.1. ตัวอย่างพืชที่ใช้ในงานวิจัย 11

3.2 หาปริมาณความชื้นและองค์ประกอบของชีวมวลพืช 11

3.3 วิเคราะห์ค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี 11

3.4 การผลิตเซลลูเลสและไซแลเนส 12

3.5 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 12

4. ผลการดำเนินงาน 13

4.1 ตัวอย่างแฝกที่ใช้ในงานวิจัย 13

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นและองค์ประกอบของชีวมวลพืช 13

4.3 การวิเคราะห์ค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี 14

4.4 การผลิตเซลลูเลสและไซแลเนส 15

4.5 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 16

5. สรุปและวิจารณ์ผล 18

6. เอกสารอ้างอิง 19

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

ตารางที่ 1 ปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลในแฝกแต่ละชนิด..... 14
ตารางที่ 2 ค่าแอกทิวิตี (ยูนิต/มิลลิลิตร) ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และค่าแอกทิวิตีจำเพาะ (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน) ของเซลลูเลสและไซแลเนสจากเชื้อรา *T. reesei* TISTR 3081 16
ตารางที่ 3 ปริมาณรวมของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสที่มีก่อนการย่อยสลายเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลายในแฝกแต่ละชนิด.....16

สารบัญภาพ

รูปภาพ **หน้า**

ภาพที่ 1 ปริมาณความชื้นของแฝกทั้ง 4 ชนิด 14
ภาพที่ 2 ผลผลิตน้ำหนักแห้งและเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี (กิโลกรัม/ไร่/ปี) ของแฝกชนิดต่าง ๆ..... 15
ภาพที่ 3 เอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี (ลิตร/ไร่/ปี) ของแฝกชนิดต่าง ๆ 15
ภาพที่ 4เปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสเป็นน้ำตาลในแฝก 4 ชนิด.....17
ภาพที่ 5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลายในแฝก 4 ชนิด.....17

บทนำ

ป่าธรรมชาติเป็นแหล่งของความหลากหลายทางพันธุกรรม แต่ในปัจจุบันป่าธรรมชาติได้ถูกทำลายจนเสื่อมโทรม จึงต้องวางแผนจัดการเพื่อปรับปรุงพื้นที่ป่าให้คืนสภาพ ซึ่งการปรับปรุงคุณภาพดินก็มีส่วนสำคัญ การที่ดินจะมีความสมบูรณ์ได้ ต้องอาศัยจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายซากอินทรีย์วัตถุที่ทับถมกันให้เป็นสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการฟื้นฟูสภาพดินให้มีความสมบูรณ์ ดังนั้นการศึกษากลุ่มประชากรของจุลินทรีย์ในดินจึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการจัดการปรับปรุงพื้นที่ป่า เพื่อแก้ไขสภาพป่าเสื่อมโทรมที่เป็นอยู่ให้มีสภาพดังเดิม จุลินทรีย์ต่างๆ ในดินจึงเป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของการฟื้นฟูสภาพดินว่ามีความสมบูรณ์ และคงทนยาวนานเพียงใด นอกจากนี้เชื้อราในดินที่มีความสามารถในการย่อยสลายบางชนิด สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาพันธุศาสตร์และอาจนำมาพัฒนาให้เกิดประโยชน์กับมนุษย์ได้ จุลินทรีย์เป็นทรัพยากรมีค่าชนิดหนึ่งในดินบทบาทของจุลินทรีย์ในธรรมชาติมีความสำคัญและมีความหลากหลายโดยเฉพาะบทบาทการเป็นผู้ย่อยสลายและปรับปรุงดิน ให้มีสารอินทรีย์เหมาะกับการเจริญของพืชและสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆที่อยู่ในดิน การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในพื้นที่อนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันมีความสำคัญเนื่องจากเป็นแหล่งพรรณพืชธรรมชาติและสัตว์ที่หายากต่างๆ จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เมื่อประกอบกันเป็นระบบนิเวศในธรรมชาติและทั้งนี้จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้โดยเฉพาะที่มีความสามารถในการย่อยสลายไซโลสในธรรมชาติมีความสำคัญมาก เนื่องจากวัสดุธรรมชาติที่พบในป่ามักจะประกอบไปด้วยวัสดุจากพืชซึ่งประกอบไปด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสซึ่งสามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางเคมีและชีวภาพเพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น กลูโคส และไซโลสน้ำตาลเหล่านี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการหมักต่อไปได้ การนำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้และศึกษาความหลากหลายนั้นหากต้องผ่านกระบวนการทางเคมีก่อนนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีอันตรายปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมด้วย ดังนั้นกระบวนการทางชีวภาพจึงมีบทบาทสำคัญทางการเกษตรและการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม การใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไซลาเนสเพื่อการประยุกต์ทางการเกษตรและการหมักจะเป็นหนทางหนึ่งในการพัฒนาการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืน เพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้มากขึ้น

ปัจจุบันปัญหาภาวะโลกร้อน (global warming) กำลังกลายเป็นปัญหาที่ทั่วโลกต่างให้ความสนใจ สาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะโลกร้อน คือ การมีปริมาณก๊าซเรือนกระจกในบรรยากาศเพิ่มมากขึ้น ก๊าซที่สำคัญ คือ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิลและการตัดไม้ทำลายป่า แนวทางในการแก้ไขปัญหานี้วิธีหนึ่ง คือ การหันมาใช้พลังงานทดแทนให้มากขึ้น ซึ่งจะช่วยแก้ปัญหาราคาน้ำมันแพงในขณะนี้ได้อีกด้วย ดังนั้นการศึกษาหาแหล่งพลังงานทดแทนที่สามารถหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ได้หรือใช้ได้ไม่มีวันหมด (renewable energy) จึงเป็นสิ่งจำเป็น แหล่งพลังงานทดแทน ได้แก่ พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม และเชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuel) เป็นต้น ไบโอเอทานอลจัดเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพที่กำลังได้รับความสนใจในขณะนี้ เนื่องจากสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงได้โดยตรงเพื่อทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล ใช้ในรูปน้ำมันเชื้อเพลิงผสมโดยนำไปผสมกับน้ำมันเบนซิน เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ หรือผสมกับน้ำมันดีเซล เรียกว่า ดีโซฮอล์

นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารเติมแต่งหรือสารเคมีเพิ่มออกเทนให้แก่เครื่องยนต์ เป็นการทดแทนสาร Methyl Tertiary Butyl Ether (MTBE) หรือ Ethyl Tertiary Butyl Ether (ETBE) ได้ ในเรื่องของการลดมลพิษจากไอเสีย พบว่าการใช้แก๊สโซฮอล์ช่วยให้เกิดการเผาไหม้ที่สมบูรณ์ ทำให้คาร์บอนมอนอกไซด์และไฮโดรคาร์บอนลดลง (คณะกรรมาธิการการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2545) เป็นการช่วยรักษาสภาพแวดล้อมทางอากาศได้อีกด้วย

ไบโอเอทานอล คือ เอทานอลที่ผลิตได้จากกระบวนการหมักโดยสิ่งมีชีวิตซึ่งมีวัตถุดิบตั้งต้นเป็นแป้ง น้ำตาล หรือวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส แหล่งที่เหมาะสมซึ่งมีราคาถูกในการนำมาผลิตเอทานอลคือการใช้วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ซังข้าวโพด หญ้า ขี้เลื่อย เศษไม้และชานอ้อย (Sun และ Cheng, 2002) ส่วนการนำแป้งและน้ำตาลที่มาจากพวกมันสำปะหลัง ข้าวโพด หรืออ้อยมาใช้นั้นอาจส่งผลกระทบต่อแหล่งอาหารของมนุษย์ได้ ในบางประเทศการปลูกพืชเพื่อนำมาใช้ในการผลิตเป็นพลังงานนั้นนับว่าเป็นไปได้ยาก ดังนั้นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการนำมาผลิตเป็นเอทานอล (Cardona และ Sánchez, 2007) ลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีปริมาณแตกต่างกันไป โดยทั่วไปเซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสจะมีปริมาณมากที่สุด คือ 35-50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ เฮมิเซลลูโลส มี 20-35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลหลายชนิดโดยไซโลสที่เป็นน้ำตาลคาร์บอนห้าอะตอมจะเป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุด และลิกนินมี 15-25 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถย่อยให้เป็นน้ำตาลได้ (Wyman, 1994) ดังนั้นเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (cellulosic material) จึงสามารถนำไปผลิตเป็นเอทานอลที่เรียกว่าเซลลูโลสิกเอทานอลได้ cellulosic material เช่น พืชอาหารสัตว์และพวกฟางต่าง ๆ ได้นำมาใช้เป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง และเป็นแหล่งวัตถุดิบหมุนเวียนที่สำคัญสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงทางเลือกโดยการเปลี่ยนเป็นเอทานอล การผลิตเอทานอลจะมีประสิทธิภาพในทางเศรษฐศาสตร์มากที่สุดถ้ากากที่เหลือจากการย่อยสลายและได้สกัดน้ำตาลออกไปแล้วสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์หรือวัตถุดิบในโรงงานต่อไปได้ (Sewalt และคณะ, 1997)

การผลิตเซลลูโลสิกเอทานอลประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ คือ การปรับสภาพวัตถุดิบ (pretreatment) เพื่อให้วัตถุดิบมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้นและมีโครงสร้างที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย การย่อยสลาย (hydrolysis) ด้วยกรดหรือเอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาล และการหมัก (fermentation) เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์หรือแบคทีเรีย

การย่อยสลายด้วยกรดสามารถทำได้โดยใช้กรดเข้มข้น เช่น H_2SO_4 และ HCl แม้ว่ากรดจะทำปฏิกิริยาในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี แต่กรดเข้มข้นมีความเป็นพิษ มีฤทธิ์กัดกร่อน และเป็นสารอันตราย จึงต้องการภาชนะที่ทนการกัดกร่อนได้ นอกจากนี้ยังต้องมีการกำจัดกรดออกหลังจากการย่อยสลายด้วย (Sivers และ Zacchi, 1995) ส่วนการใช้กรดเจือจางนั้นจะเป็นการใช้กระบวนการย่อยสลายด้วยกรดแบบ 2 ขั้นตอน (two-step acid hydrolysis) ขั้นแรกจะเป็นการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส และขั้นที่สองจะเป็นการย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งลิกนินจะเป็นของแข็งที่เหลืออยู่ (Olsson และ Hahn-Hägerdal, 1996) ทำให้ได้น้ำตาลไซโลสและกลูโคสออกมาตามลำดับ

การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำได้โดยใช้เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิดมาทำงานร่วมกัน คือ endoglucanase หรือ carboxymethyl cellulase (EC 3.2.1.4), cellobiohydrolase หรือ exoglucanase (EC 3.2.1.91) และ β-glucosidase (EC 3.2.1.21) (Howard, 2003) แม้ว่าจะมีแบคทีเรียและเชื้อรามากมายที่สามารถผลิตเซลลูเลสได้ แต่มักนำเชื้อรา *Trichoderma reesei* และสายพันธุ์ mutant มาใช้ เนื่องจากมีความสามารถในการผลิตเซลลูเลสได้ดีเหมาะสำหรับการย่อยสลาย (Ryu และ Mandels, 1980; Wyman, 1994) ส่วนเฮมิเซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสซึ่งมีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักทำให้ได้เป็นน้ำตาลไซโลสประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด ใหญ่ ๆ คือ endoxylanase (EC 3.2.1.8) และ β-xylosidase (EC 3.2.1.37) (Flores, Pérez และ Huitrón, 1997) ผลิตได้จากเชื้อ เช่น *Streptomyces* spp. (MacKenzie และคณะ, 1987), *Fusarium oxysporum* (Panagiotou และคณะ, 2003) และ *Aspergillus* spp. (Guimarães และคณะ, 2006) เป็นต้น เซลลูเลสและไซแลเนสได้มีการศึกษากันมากที่สุด สามารถผลิตได้จากเชื้อราที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Trichoderma* spp. (MacKenzie และคณะ, 1987) *T. reesei* สามารถผลิตได้ทั้งเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส (Juhász และคณะ, 2005) จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส เพราะทำให้ไม่ต้องใช้เชื้อหลายตัวในการผลิตเอนไซม์ การใช้เอนไซม์มีข้อดีกว่าการใช้กรด เพราะเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงสูง ปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่สภาวะเป็นกลาง ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการเหมือนกับการใช้กรด และทำให้ค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียลดลง (Wyman, 1994)

การหมัก คือ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล จุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นเอทานอล ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluveromyces marxianus*, *Candida brassicae, Zymomonas mobilis* และ *Clostridium thermocellum* เป็นต้น สำหรับ *S. cerevisiae* นั้นเป็นยีสต์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดชนิดหนึ่ง ข้อดี คือ สามารถผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเฮกโซสได้สูง มีความทนต่อเอทานอลและสารประกอบอื่น ๆ ใน acid hydrolysates ของวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (Olsson และ Hahn-Hägerdal, 1993) ส่วนจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็น เอทานอล ได้แก่ *Pichia stipitis*, *Candida shehatae* และ *Pachysolen tannophilus* (Hahn-Hägerdal และคณะ, 1994) เป็นต้น โดย *P. stipitis* ได้มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมมากเพราะสามารถหมักน้ำตาลไซโลสได้อย่างรวดเร็ว มีผลผลิตเอทานอลสูงและไม่เกิดเป็นไซลิทอล (Dominguez, 1993) Laplace และคณะ (1993) ได้ศึกษาการหมักส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคสและไซโลส โดยเลี้ยง respiratory-deficient mutant ของ *S. cerevisiae* ร่วมกับ *P. stipitis* NRRL Yl1545 พบว่าผลิตเอทานอลได้ 0.42 กรัมต่อกรัมของน้ำตาล

ในกระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้เอนไซม์สามารถทำได้โดยใช้กระบวนการย่อยสลายและหมักแบบต่อเนื่อง (simultaneous saccharification and fermentation: SSF) ซึ่งเป็นกระบวนการที่รวมเอาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์กับการหมักน้ำตาลเข้าไว้ด้วยกัน สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอลได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ลดการสะสมของน้ำตาลซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ จึงมีผลผลิตของเอทานอลสูงกว่า

กระบวนการย่อยสลายและหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (separate hydrolysis and fermentation: SHF) (Wyman, Spindler และ Grohmann, 1992) กระบวนการ SSF มักเป็นการหมักน้ำตาลกลูโคสหรือไซโลสอย่างใดอย่างหนึ่ง แต่กระบวนการย่อยสลายและหมักร่วมกันแบบต่อเนื่อง (simultaneous saccharification and co-fermentation: SSCF) จะรวมเอาการหมักน้ำตาลกลูโคสและไซโลสเข้าไว้ด้วยกัน เช่น การใช้ *P. stipitis* ร่วมกับ *Brettanomyces clausennii* ได้ผลผลิตเอทานอล 369 ลิตรต่อตันของ aspen (Parekh และคณะ, 1988 อ้างถึงใน Olsson และ Hahn-Hägerdal, 1996) จากการศึกษาของ Wyman, Spindler และ Grohmann (1992) พบว่าเมื่อนำซังข้าวโพด, ฟางข้าวสาลี, corn stover และ weeping love grass มาปรับสภาพด้วยกรดอ่อนก่อน จะมีอัตราการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อย่างรวดเร็วและให้ผลผลิตเอทานอลสูง ส่วน switchgrass ให้ผลไม่ค่อยดี โดยงานวิจัยนี้ได้ใช้กระบวนการ SSF ที่มีการใช้เซลลูเลสและ β-glucosidase ร่วมกันในการย่อยสลาย และใช้ *S. cerevisiae* ในการหมัก Chang และคณะ (2001) ได้นำ switchgrass, corn stover และ poplar wood ที่ถูกปรับสภาพด้วยปูนขาวมาใช้ในกระบวนการ SSF ที่มีการย่อยสลายด้วยเซลลูเลส (Spezyme-CP) ซึ่งมีแอคติวิตี 59 FPU/ml ร่วมกับการหมักโดยใช้ *S. cerevisiae* พบว่าได้เอทานอลเป็น 72, 62 และ 73 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตที่ได้ตามทฤษฎีตามลำดับ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ซึ่งมีทั้งป่าไม้ พืชผลทางการเกษตร และปศุสัตว์มากมาย นับเป็นประเทศหนึ่งที่มีการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรมากในลำดับต้นๆของโลก ดังนั้นการส่งเสริมให้มีการใช้พลังงานจากมวลชีวภาพถือว่าถูกต้องตามบริบทที่เป็นอยู่ของประเทศ จากการที่ประเทศไทยมีหญ้าชนิดต่าง ๆ มากมายทั้งที่ขึ้นได้เองตามธรรมชาติและมีการปลูกขึ้นมา อีกทั้งยังเจริญเติบโตเร็ว เก็บเกี่ยวผลผลิตได้หลายครั้งต่อปี จึงเหมาะที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตเซลลูโลสิกเอทานอล นอกจากนี้การที่มีผลผลิตทางการเกษตรมากจะทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมากตามไปด้วย โดยในแต่ละปีรวมกันมีปริมาณนับพันล้านตัน วัสดุเหล่านี้ได้แก่ แกลบ ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด กากมะพร้าว กะลามะพร้าว ทะลายปาล์ม วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ถึงแม้ว่าจะมีการนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ เช่น เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ เป็นวัสดุในการเพาะปลูก ทำปุ๋ยหมัก หรือผลิตภัณฑ์เครื่องใช้ต่าง ๆ เป็นต้น แต่ก็ยังมีเหลืออีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่ได้ใช้ประโยชน์ และนอกจากนี้ก็ยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้มากขึ้นเมื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล แม้ว่าเอทานอลจะเป็นพลังงานทดแทน ที่ให้ประโยชน์ต่อเศรษฐกิจของประเทศได้ดีในระดับหนึ่ง ดังนั้นการเลือกใช้วัตถุดิบเพื่อเข้าสู่กระบวนการผลิตยังคงต้องได้รับการวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้พลังงานทดแทนที่มีศักยภาพและให้ความคุ้มค่าหรือผลตอบแทนในเชิงพาณิชย์ที่ยอมรับได้ อันจะนำไปสู่การเป็นทางเลือกในการใช้พลังงานเชื้อเพลิงทดแทน ที่เป็นรูปธรรมชัดเจนที่สุดของประเทศ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการที่จะศึกษาหญ้าแฝกที่มีความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตเซลลูโลสิกเอทานอล โดยนำมาย่อยสลายโดยใช้เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสที่ผลิตได้จาก *T. reesei*

แล้วคัดเลือกหญ้าแฝกที่ให้ปริมาณน้ำตาลสูง โดยใช้เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสที่ผลิตจาก *T. reesei* ในการย่อยสลาย

วัตถุประสงค์

เพื่อผลิตเซลลูโลสิกเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลสโดยใช้เซลลูโลสิกยีสต์

ขอบเขตการวิจัย

ผลิตเซลลูโลสิกเอทานอลจากพืชที่ในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีเซลลูโลสิกยีสต์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างพืชที่ใช้ในงานวิจัย

เก็บตัวอย่างหญ้าสดจำนวน 4 ชนิด นำไปปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ โดยนำตัวอย่างไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปตัดให้มีขนาดเล็กลงและบดด้วยเครื่องบดละเอียด แล้วนำไปร่อนผ่านตะแกรงที่มีรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร จนได้เป็นผงออกมา

2. หาปริมาณความชื้นและองค์ประกอบของชีวมวลพืช

นำพืชที่บดเป็นผงแล้วมาหาปริมาณความชื้นตามวิธี TAPPI T 210 cm-86 (TAPPI, 1986) และหาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืชตามวิธีของ Goering และ Van Soest (1970) เพื่อหาปริมาณเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า โดยวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ

3. วิเคราะห์ค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี

นำปริมาณเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสของพืชแต่ละชนิดที่หาได้จากข้อ 2. มาคำนวณหาค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี ดังนี้

- ปริมาณน้ำตาลกลูโคส = ปริมาณเซลลูโลส x 1.111
  (เซลลูโลส 1 กรัม เปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ 1.111 กรัม)
- ปริมาณน้ำตาลไซโลส = ปริมาณเฮมิเซลลูโลส x 1.136
  (เฮมิเซลลูโลส 1 กรัม เปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซโลสได้ 1.136 กรัม โดยประมาณ)
- ปริมาณเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี = ปริมาณน้ำตาลกลูโคสหรือไซโลส x 0.51
  (น้ำตาลกลูโคสหรือไซโลส 1 กรัม เปลี่ยนเป็นเอทานอลได้ 0.51 กรัม)

4. การผลิตเซลลูเลสและไซแลเนส

เชื้อที่ใช้ในงานวิจัย คือ เชื้อรา *T. reesei* เลี้ยงเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน ถ่ายเชื้อโดยใช้ cork borer เจาะปลายเส้นใยจำนวน 5 ชิ้น ใส่ลงไปในฟลาสก์ที่บรรจุอาหารเหลวสำหรับผลิตเซลลูเลสหรือไซแลเนส ดังนี้

4.1 ผลิตเซลลูเลสใช้อาหารเหลวสูตร Mandels medium (Mandels & Weber, 1969) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยมีแหล่งคาร์บอนเป็นแอลฟาเซลลูโลส บ่มเชื้อในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แยกเส้นใยออก นำส่วนใสที่เป็น crude enzyme มาวิเคราะห์การทำงานของเซลลูเลสโดยวัดแอกทิวิตีด้วยวิธี FPU assay (Ghose, 1987) ที่มีสารตั้งต้นเป็นกระดาษกรอง Whatmanเบอร์ 1 (กำหนดให้ 1 หน่วยเอนไซม์หรือยูนิต คือ ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารตั้งต้นให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน)

4.2 ผลิตไซแลเนสโดยใช้อาหารเหลวสูตร xylan medium (สุมาลี, 2539) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มเชื้อในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แยกเส้นใยออก นำส่วนใสที่เป็น crude enzyme มาวิเคราะห์การทำงานของไซแลเนสโดยวัดแอกทิวิตีด้วยวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Ghose (1987) ให้มีสารตั้งต้นเป็น birchwood xylan 1 เปอร์เซ็นต์ (กำหนดให้ 1 หน่วยเอนไซม์หรือยูนิต คือ ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารตั้งต้นให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที โดยใช้น้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน)

4.3 วัดปริมาณโปรตีนใช้วิธี micro Lowry's assay (Held & Hurley, 2001) แล้วคำนวณหาค่าแอกทิวิตีจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)

5. การย่อยสลายด้วยเอนไซม์

5.1 นำพืชที่เป็นผงแล้วมา 0.6กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 200 มิลลิลิตร โดยทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ปรับสภาพพืชด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้ alkaline peroxide ซึ่งแต่ละฟลาสก์จะใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรปริมาณ 4 มิลลิลิตรที่มีการปรับ pH เป็น 11.5 ด้วย 0.5 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อน แล้วค่อยเติม alkaline peroxide pH 11.5 ลงไปในฟลาสก์นำไปเขย่าที่ความเร็ว 250รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นปรับ pH เป็น 4.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Saha & Cotta, 2007)

5.2 เติม 0.05โมลาร์ ซิเตรตบัฟเฟอร์ (pH 4.8) 5มิลลิ ลิตร เติมเซลลูเลสจำนวน 30 ยูนิต/มิลลิลิตร และไซแลเนสจำนวน 600 ยูนิต/มิลลิลิตรบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

5.3 เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยปั่นเหวี่ยงแยกกากที่เหลือออกนำส่วนใสมาวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดโดยใช้วิธี DNS method (ดัดแปลงมาจาก Miller, 1959)

5.4 คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสเป็นน้ำตาล (percent conversion) ดังนี้

$$\%\text{conversion} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลาย (มิลลิกรัม/กรัมของหญ้าแห้ง)} \times 100}{\text{ปริมาณรวมของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสที่มีก่อนการย่อยสลาย (มิลลิกรัม/กรัมของหญ้าแห้ง)}}$$

ผลและอภิปรายผลการศึกษา

1. ตัวอย่างหญ้าที่ใช้ในงานวิจัย

หญ้าแฝก 4 ชนิด เก็บมาจากสถานีพัฒนาที่ดินราชบุรี

1. แฝกลุ่ม, แฝกหอม (Vetiveria Zizanioides Nash)

1.1 แฝกสายพันธุ์กำแพงเพชร 2

1.2 แฝกสายพันธุ์สงขลา 3

1.3 แฝกสายพันธุ์สุราษฎร์ธานี

1.4 แฝกสายพันธุ์ศรีลังกา

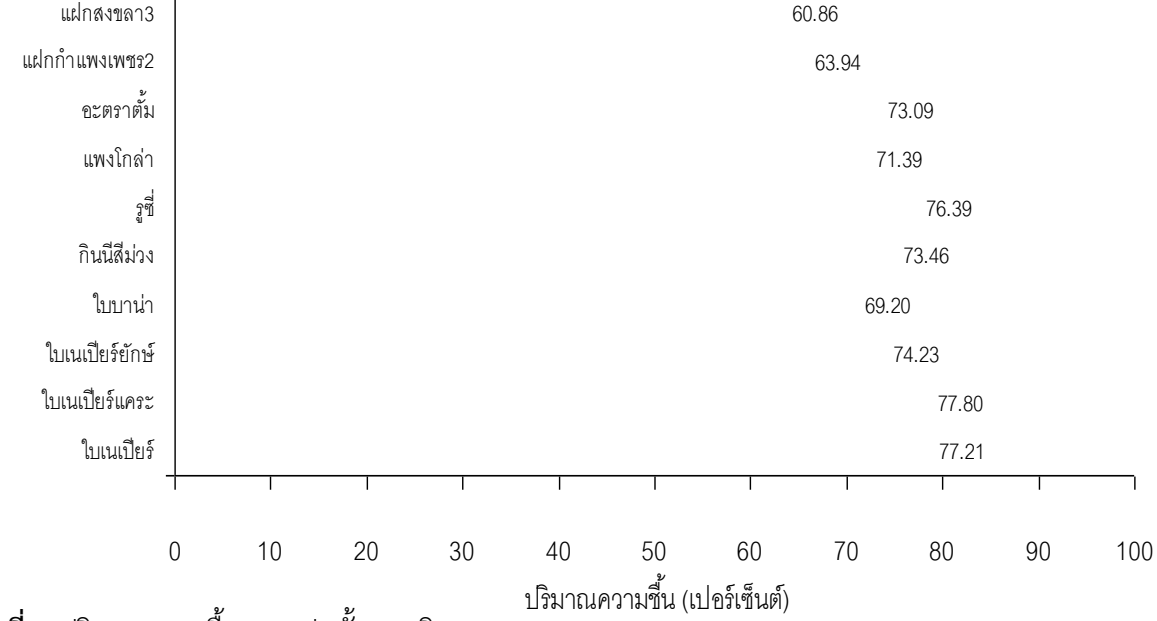
2. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นและองค์ประกอบของชีวมวลพืช

หญ้าแฝกทั้งหมด 4 ชนิด ได้ใช้ทั้งใบและลำต้นรวมกัน เนื่องจากมีปริมาณของใบมากกว่าลำต้น และลำต้นมีขนาดเล็กมาก ผลการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณความชื้นของหญ้าแฝกศรีลังกามีค่าสูงที่สุด คือ 66.45 ± 1.65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแฝกสายพันธุ์สงขลา 3 มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด คือ 60.86 ± 1.89 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 1

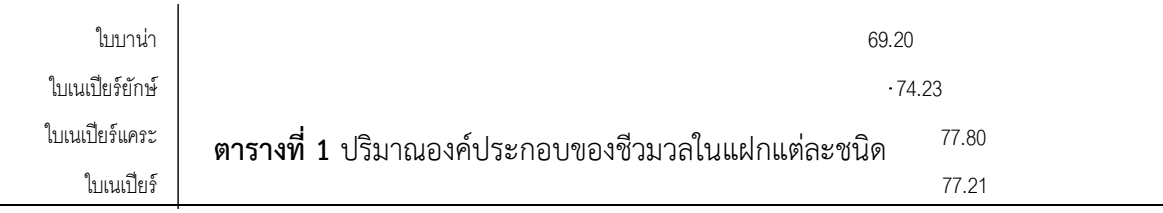
ปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืชประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก ๆ คือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าแฝกสายพันธุ์กำแพงเพชร2 มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสสูงที่สุดเป็น 39.02 ± 0.89 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแฝกสงขลา 3 มีปริมาณของเฮมิเซลลูโลสต่ำที่สุดเป็น 37.87 ± 1.59 เปอร์เซ็นต์

สำหรับปริมาณเซลลูโลสในหญ้าทั้ง 4 ชนิด พบว่า แฝกสายพันธุ์ศรีลังกามีปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุดเป็น 37.54 ± 0.45 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสรวมกันสูงที่สุดเป็น 75.87 เปอร์เซ็นต์

ส่วนปริมาณลิกนินในหญ้าทั้ง 4 ชนิด พบว่า แฝกสงขลา 3 มีปริมาณสูงที่สุดเป็น 4.67 ± 0.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แฝกสายพันธุ์สุราษฎร์ธานีมีปริมาณต่ำที่สุดเป็น 3.67 ± 0.7 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 1 ปริมาณความชื้นของแฝกทั้ง 4 ชนิด



ตารางที่ 1 ปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลในแฝกแต่ละชนิด

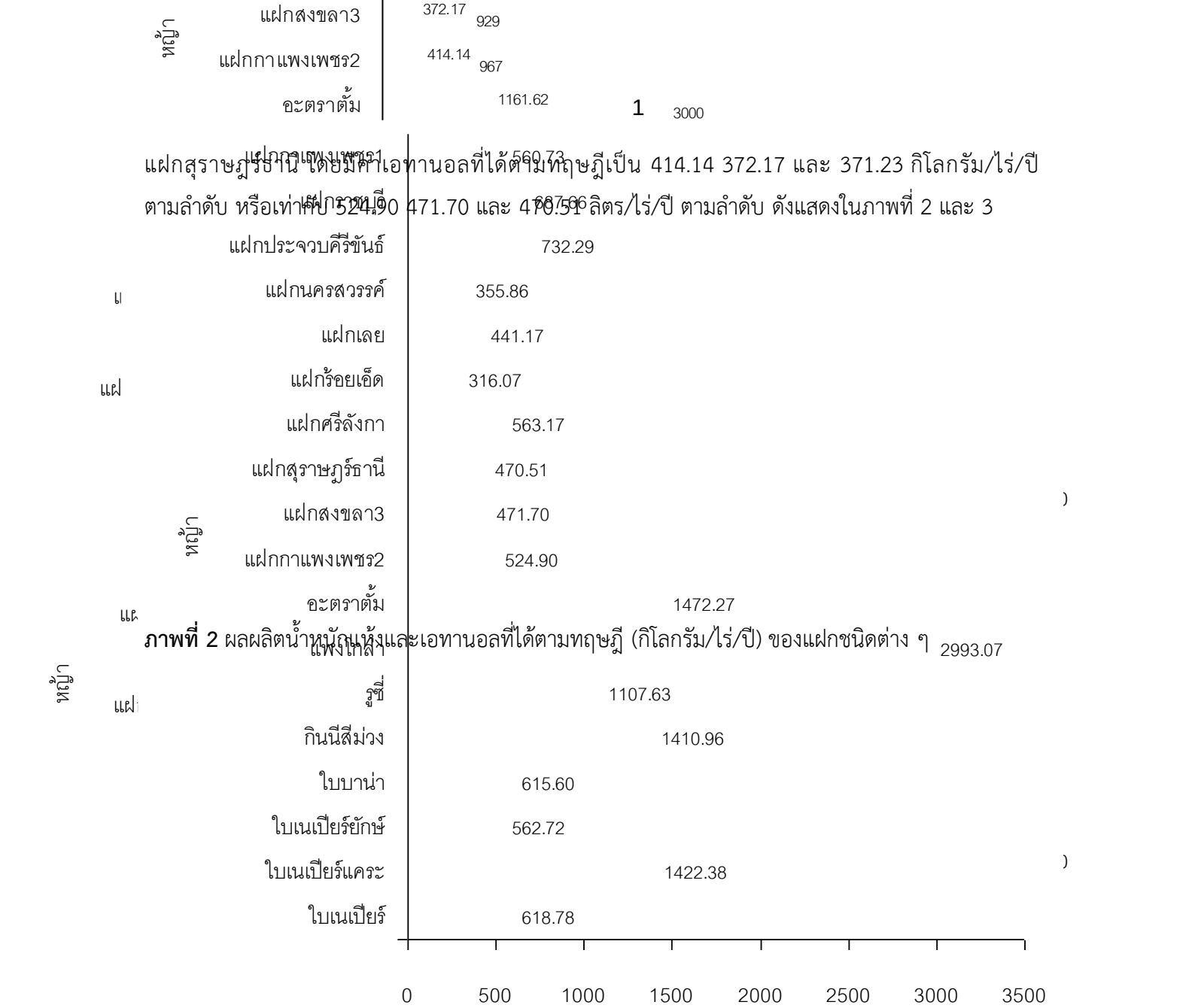
หญ้า	ปริมาณองค์ประกอบของชีวมวล (เปอร์เซ็นต์)														
	เฮมิเซลลูโลส			เซลลูโลส			ลิกนิน			เถ้า			อื่นๆ		
แฝกกำแพงเพชร2	39.02	±	0.89	35.54	±	0.38	4.36	±	0.78	0.07	±	0.04	19.72	±	0.61
แฝกสงขลา3	37.87	±	1.59	31.85	±	1.73	4.67	±	0.49	0.26	±	0.16	25.67	±	2.69
แฝกสุราษฎร์ธานี	39.12	±	1.57	33.97	±	1.16	3.67	±	0.70	0.09	±	0.03	22.16	±	0.74
แฝกศรีลังกา	38.33	±	2.07	37.54	±	0.45	3.99	±	0.31	0.08	±	0.01	20.38	±	2.81

3. การวิเคราะห์ค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี

ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่/ปี) ของหญ้าแฝกสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้ข้อมูลมาจากกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2549) และ วารุณี พานิชผล และคณะ (2537) ตามลำดับ โดยแสดงดังรูปที่ 2 พบว่า หญ้าในกลุ่มแฝกจะมีผลผลิตน้อยกว่าหญ้าอาหารสัตว์มาก โดยแฝกสายพันธุ์ศรีลังกามีผลผลิตสูงที่สุด คือ 1020 กิโลกรัม/ไร่/ปี ส่วนแฝกสายพันธุ์สุราษฎร์ธานีมีผลผลิตต่ำที่สุด คือ 884 กิโลกรัม/ไร่/ปี

จากการศึกษาองค์ประกอบทางชีวมวลของหญ้าชนิดต่าง ๆ สามารถนำปริมาณของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในหญ้าแต่ละชนิดมาคำนวณหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและไซโลสได้ตามลำดับ (เซลลูโลส 1 กรัม เปลี่ยนเป็นกลูโคสได้ 1.111 กรัม และเฮมิเซลลูโลส 1 กรัม เปลี่ยนเป็นไซโลสได้ 1.136 กรัม) จากนั้นคำนวณเป็นปริมาณเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี (น้ำตาล 1 กรัม เปลี่ยนเป็นเอทานอลได้ 0.51 กรัม) แล้วคูณด้วยผลผลิตของหญ้า (กิโลกรัม/ไร่/ปี) พบว่า แฝกสายพันธุ์ศรีลังกามีค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎีสูงที่สุด คือ 444.34 กิโลกรัม/ไร่/ปี หรือเท่ากับ 563.17 ลิตร/ไร่/ปี รองลงมา คือ แฝกกำแพงเพชร 2 แฝกสงขลา 3 และ

แฝกสุราษฎร์ธานี โดยมีค่าเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎีเป็น 414.14 372.17 และ 371.23 กิโลกรัม/ไร่/ปี ตามลำดับ หรือเท่ากับ 524.90 471.70 และ 470.51 ลิตร/ไร่/ปี ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2 และ 3



ภาพที่ 2 ผลผลิตน้ำหนักแห้งและเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี (กิโลกรัม/ไร่/ปี) ของแฝกชนิดต่าง ๆ

ภาพที่ 3 เอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี (ลิตร/ไร่/ปี) ของแฝกชนิดต่าง ๆ

4. การผลิตเซลลูเลสและไซแลเนส

เมื่อนำเชื้อรา *T. reesei* TISTR 3081 มาผลิตเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เซลลูเลสซึ่งมีแหล่งคาร์บอนเป็นแอลฟาเซลลูโลส และไซแลเนสซึ่งมีแหล่งคาร์บอนเป็น birchwood xylan แล้ววัดค่าแอกทิวิตี พบว่า เซลลูเลสมีค่าแอกทิวิตีเป็น 1.190 ยูนิต/มิลลิลิตร และมีค่าแอกทิวิตีจำเพาะเป็น 1.071 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ส่วนไซแลเนสมีค่าแอกทิวิตีเป็น 86.961 ยูนิต/มิลลิลิตร และมีค่าแอกทิวิตีจำเพาะเป็น 56.866 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าแอกทิวิตี (ยูนิต/มิลลิลิตร) ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และค่าแอกทิวิตีจำเพาะ (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน) ของเซลลูเลสและไซแลเนสจากเชื้อรา *T. reesei* TISTR 3081

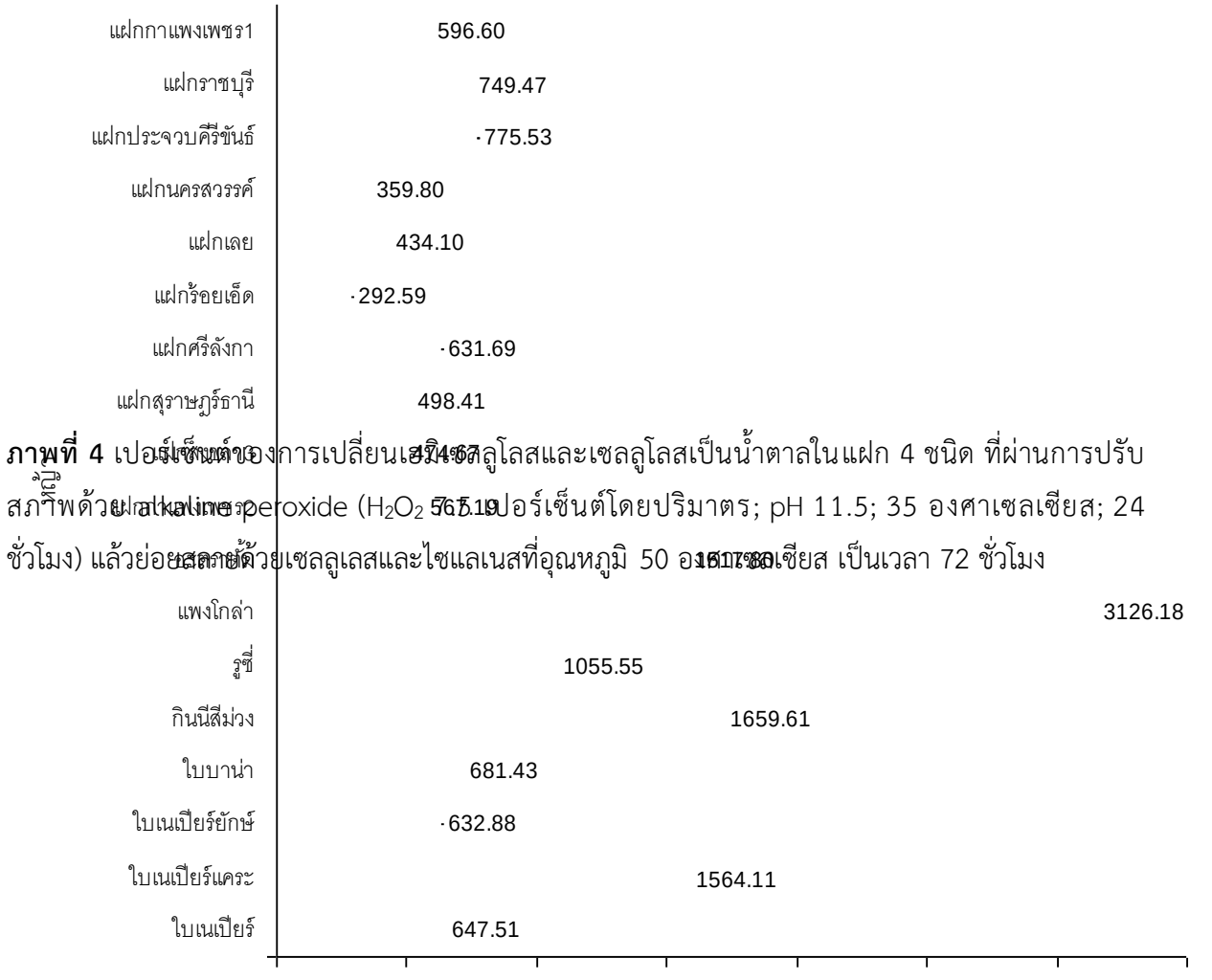
เอนไซม์	ค่าแอกทิวิตี (ยูนิต/มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าแอกทิวิตีจำเพาะ (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)
เซลลูเลส	1.190	1.111	1.071
ไซแลเนส	86.961	1.529	56.866

5. การย่อยสลายด้วยเอนไซม์

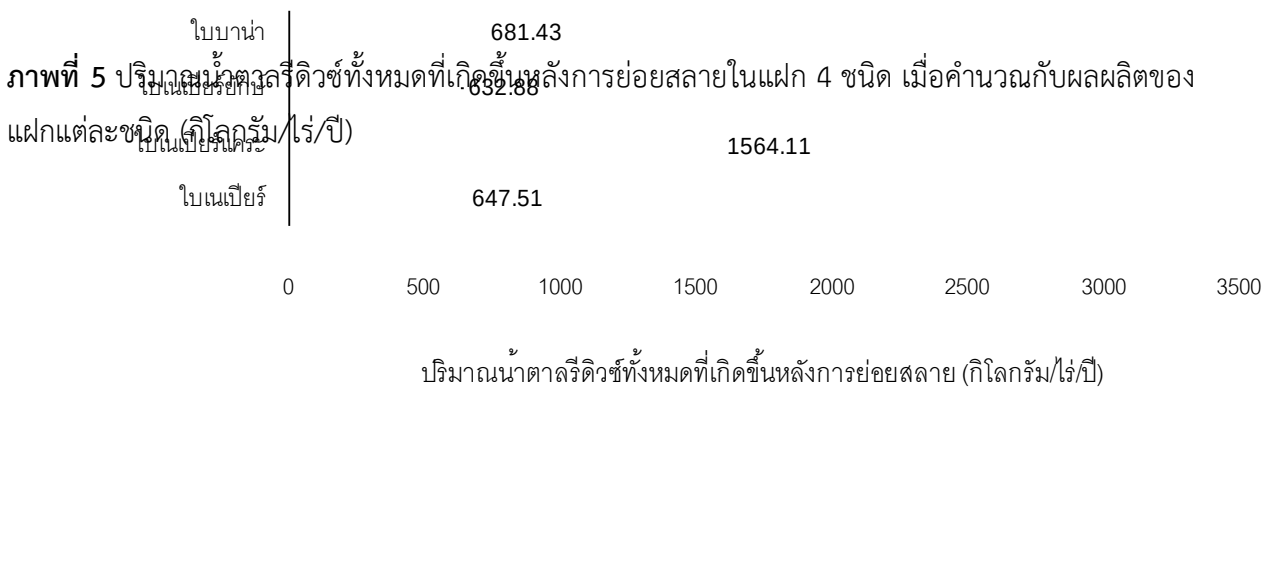
จากการย่อยสลายหญ้าจำนวน 4 ชนิด โดยใช้วิธีการปรับสภาพพืชด้วยวิธีทางเคมีแล้วย่อยสลายด้วยเซลลูเลสและไซแลเนส พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลายของหญ้าแต่ละชนิดมีค่าดังแสดงในตารางที่ 3 โดยหญ้าส่วนใหญ่จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วงระหว่าง 500 ถึง 600 มิลลิกรัม/กรัมของหญ้าแห้ง ซึ่งเป็นความเข้มข้นในช่วง 4-5 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับปริมาณรวมของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสที่มีก่อนการย่อยสลายแล้วคำนวณออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (ภาพที่ 4) พบว่า ส่วนใหญ่จะสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้ 70-80 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าค่าที่ได้ค่อนข้างใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นในการพิจารณาเพื่อเลือกชนิดของหญ้าเพื่อนำไปหมักต่อไปจะนำผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่/ปี) ของหญ้าทั้ง 4 ชนิดมาคำนวณด้วย (ภาพที่ 2) ผลการคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลายแสดงในภาพที่ 5 ดังนั้นจึงได้เลือกหญ้าที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดเกิน 630 กิโลกรัม/ไร่/ปี คือ แฝกสายพันธุ์ศรีลังกา มาทำการศึกษาในขั้นตอนการหมักต่อไป

ตารางที่ 3 ปริมาณรวมของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสที่มีก่อนการย่อยสลายเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลายในแฝกแต่ละชนิด

หญ้า	ปริมาณรวมของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสที่มีก่อนการย่อยสลาย (มิลลิกรัม/กรัมของหญ้าแห้ง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลาย	
		มิลลิกรัม/กรัมของหญ้าแห้ง	กรัม/ลิตร
แฝกกำแพงเพชร2	745.60 ± 12.70	586.55 ± 22.59	4.60 ± 0.56
แฝกสงขลา3	697.13 ± 33.17	510.94 ± 37.41	3.98 ± 0.20
แฝกสุราษฎร์ธานี	730.90 ± 27.30	563.81 ± 18.02	4.42 ± 0.50
แฝกศรีลังกา	758.70 ± 27.09	619.31 ± 6.38	4.85 ± 0.42



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสเป็นน้ำตาลในแฝก 4 ชนิด ที่ผ่านการปรับสภาพด้วย alkaline peroxide (H_2O_2 5% เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร; pH 11.5; 35 องศาเซลเซียส; 24 ชั่วโมง) แล้วย่อยสลายด้วยเซลลูเลสและไซแลเนสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นหลังการย่อยสลายในแฝก 4 ชนิด เมื่อคำนวณกับผลผลิตของแฝกแต่ละชนิด (กิโลกรัม/ไร่/ปี)

สรุปผลการศึกษา

หญ้าที่นำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ส่วนใหญ่เป็นหญ้าที่มีความสูงตั้งแต่ 1 เมตรขึ้นไป ข้อดี คือ เมื่อนำมาทำเป็นหญ้าแห้งจะได้ปริมาณของมวลที่มากซึ่งเหมาะในการนำมาใช้ประโยชน์ หญ้าจัดเป็นพืชพลังงานที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้หลายครั้งใน 1 ปี จึงไม่จำเป็นต้องปลูกทดแทนใหม่บ่อย ๆ และใน 1 พื้นที่จะมีปริมาณหญ้าขึ้นอยู่เยอะเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นจึงทำให้ได้ผลผลิตมาก

ปริมาณองค์ประกอบชีวมวลของพืชในหญ้าแต่ละชนิดค่อนข้างมีปริมาณของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสรวมกันสูงกว่าพืชชนิดอื่น ยกตัวอย่าง เช่น แกลบมีปริมาณรวมเป็น 47.58 ± 0.85 เปอร์เซ็นต์ (Saha และคณะ, 2005) แต่หญ้าที่ทำการศึกษาพบว่ามีปริมาณรวมของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสอยู่ในช่วง 60-80 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้ย่อยสลายให้กลายเป็นน้ำตาลสำหรับหมักเป็นไบโอเอทานอล การนำวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสมาใช้ในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะต้องมีการปรับสภาพวัตถุดิบก่อน (Cara และคณะ, 2006) งานวิจัยนี้ได้ใช้วิธีการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับวิธีทางเคมี คือ บดให้หญ้ากลายเป็นผงก่อนแล้วตามด้วย alkaline peroxide pretreatment วิธีนี้ไม่ทำให้เกิด furfural และ hydroxymethyl furfural ขึ้นในระหว่างการปรับสภาพ (Saha และ Cotta, 2007) ซึ่งสารทั้ง 2 ตัวนี้มักเกิดขึ้นในกระบวนการที่มีการใช้กรดปรับสภาพหรือใช้กรดในการย่อยสลาย จัดเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ที่ใช้ในการหมักเอทานอล (Purwadi, 2006) ผลการย่อยสลายหญ้า พบว่าหญ้าส่วนใหญ่จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วงระหว่าง 500 ถึง 600 มิลลิกรัม/กรัมของหญ้าแห้ง แต่เนื่องจากหญ้าแฝกมีปริมาณรวมของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสมากกว่าหญ้าอาหารสัตว์ จึงส่งผลให้หญ้าแฝกมีเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลต่ำกว่า หญ้าส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลอยู่ในช่วง 70-80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ Saha และ Cotta (2007) ที่สามารถเปลี่ยนแกลบไปเป็นน้ำตาลได้ 96 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ alkaline peroxide ที่มีสภาวะในการปรับสภาพเช่นเดียวกัน แต่ได้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลสูงกว่า เนื่องจากใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยสลายซึ่งมีแอกทิวิตีสูงกว่าเอนไซม์ที่ผลิตจาก *T. reesei* มาก

ข้อเสนอแนะ

การหมักเอทานอลต่อไปในอนาคต ควรที่จะมีการวิจัยโดยนำหญ้าทั้งต้นมาใช้ในการหมักเพื่อดูผลผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้น และปรับปรุงกระบวนการหมักเพื่อให้มีความเหมาะสมต่อไปโดยอาจศึกษาวิธีการปรับสภาพพืชเพื่อให้เอนไซม์ย่อยได้ดียิ่งขึ้น เกิดสารยับยั้งน้อยหรือไม่เกิดเลย ปริมาณเอนไซม์และปริมาณบัฟเฟอร์ที่ใช้ เป็นต้น ในงานทดลองขั้นต่อไปจะทำการเก็บตัวอย่างแฝกเพิ่ม เพื่อหาแฝกสายพันธุ์ที่ย่อยสลายให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด และใช้หมักเพื่อให้ได้เอทานอลต่อไป งานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

สุมาลี อึ้งใจธรรม. 2539. ไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสจาก*Streptomyces* spp. ที่ชอบร้อนและชอบด่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Cara, C., Ruiz, E., Ballesteros, I., Negro, M., and Castro, E. 2006. Enhanced enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification. Process Biochemistry 41: 423-429.

Ghose, T. K. 1987. Measurement of cellulose activities. International Union of Pure and Applied Chemistry 59: 257-268.

Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. The United States Department of Agriculture (USDA). Handbook 379.

Held, P., and Hurley, J. 2001. Determination of total protein by the Lowry method using the BioTek instruments' ELx808 microplatereader[Online]. Available from: http://www.biotek.com /resources/docs/ELx808_Determining_Total_Protein_Lowry_Method.pdf [2007, June 4]

Mandels, M., and Weber, J. 1969. Production of cellulases. Advances in Chemistry Series 95: 391-414.

Miller, G. L. 1959.Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry.31: 426-428.

Purwadi, R. 2006. Continuous Ethanol Production from Dilute-acid Hydrolyzates: Detoxification and Fermentation Strategy. Doctoral dissertation, Ph.D., Chalmers University of technology, Göteborg.

Saha, B. C., Iten, L. B., Cotta, M. A., and Wu, Y. V. 2005. Dilute Acid Pretreatment, Enzymatic Saccharification, and Fermentation of Rice Hulls to Ethanol. Biotechnology Progress 21: 816-822.

Saha, B. C., and Cotta, M. A. 2007. Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol. Enzyme and Microbial Technology. 41: 528-532.

Technical Association of Pulp and Paper Industry. 1986. Test method for determination of moisture in pulp, TAPPI T 210 cm-86. Atlanta, GA: TAPPI Press.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ข้อมูลทั่วไป

ภาษาไทย : นาย วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล

ภาษาอังกฤษ : Mr. Warawut Chulalaksananukul

ตำแหน่งทางวิชาการ : รองศาสตราจารย์ ดร.

บัตรประชาชนเลขที่ : 3-1015-02232-07-7

วัน เดิน ปี เกิด : 5 มิถุนายน พ.ศ. 2501

สังกัดคณะ/สถาบันวิจัย : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ติดต่อ : โทรศัพท์ 022185482 โทรศัพท์ (มือถือ) : 086-0000365

โทรสาร 025182482 E-mail: Warawut.c@chula.ac.th

ที่อยู่ : 248/10 ซอยกาญจนาภิเษก แขวง ศาลาธรรมสพน์ เขตทวีวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10170

2. ประวัติการศึกษา (ตรี-โท-เอก)

ชื่อสถานศึกษา	ชื่อปริญญา	สาขาวิชา	วัน/เดือน/ปี ที่จบ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ปริญญาตรี	พันธุศาสตร์	พ.ศ. 2523
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ปริญญาโท	พฤกษศาสตร์	พ.ศ. 2527
INSA TOULOUSE FRANCE	ปริญญาโท	Microbiology	พ.ศ. 2532
INSA TOULOUSE FRANCE	ปริญญาเอก	Microbiology – Biotechnology	พ.ศ. 2536

3. ประวัติการทำงาน

ตำแหน่งบริหาร

1. 2544-2546	ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายวิจัย คณะวิทยาศาสตร์
2. 2548- 2549	รองประธานเครือข่าย Genetics, Bioinformatics, Bioactive Compound สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาแห่งชาติ (สกอ.)
3. 2551- 2556	รองผู้อำนวยการฝ่ายบริหารสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. 2556-2560	ผู้อำนวยการสถาบันทรัพยากรทางน้ำ
5. 2551-ปัจจุบัน	หัวหน้าหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ปรึกษา-กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ

1. 2552-2554	กรรมการสมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย
2. 2550-2552	กรรมการประจำคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. 2536- 2554	กรรมการสมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย

4. ประวัติการทำวิจัย

4.1 ความเชี่ยวชาญ

การผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

4.2 ผลงานวิจัย โดยสรุป (ที่แสดงถึงความคิดริเริ่ม และการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง)

ผลงานวิจัยเน้นการวิจัยด้านตัวเรงปฏิกิริยาชีวภาพ (Biocatalyst) ซึ่งรวมถึงเอนไซมและเซลล ในการเรงปฏิกิริยาในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ เชน ไบโอดีเซล และไบโอเอทานอล และแปรรูปผลิตภัณฑขางเคียงใหมีประโยชนและเพิ่มมูลคาสูงขึ้น โดยลักษณะงานที่ดำเนินการวิจัย ไดแก คัดแยกเชื้อจุลินทรียในประเทศไทยและพัฒนาสายพันธุดวยเทคโนโลยีพันธุศาสตรระดับโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิต ตัวเรงปฏิกิริยาชีวภาพ ศึกษาคนควาวิจัยเกี่ยวกับเอนไซมลิเพสและเซลลูเลสจากจุลินทรียชนิดตางๆ โดยเนนการศึกษาสมบัติกลไกการทำงานและการควบคุม

การทำงานของตัวเรงปฏิกิริยาชีวภาพ ซึ่งสามารถทนทานและเรงปฏิกิริยาทางชีวภาพไดอยางมีประสิทธิภาพ รวมทั้งสรางและพัฒนาระบบเรงปฏิกิริยาที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล และไบโอเอทานอล โดยการพัฒนาตัวเรงปฏิกิริยาชีวภาพตรึงรูปที่สามารถ นำกลับมาใชประโยชนไดหลายๆ ครั้งอยางมีความเสถียรในสภาพแวดลอมตางๆของปฏิกิริยา เพื่อเปนตนแบบของกระบวนการผลิตสารที่ตองการจากตัวเรงปฏิกิริยาชีวภาพในระดับอุตสาหกรรม

เพื่อพัฒนากลุ่มวิจัยสู่ความเป็นเลิศในเรื่องการผลิตไบโอดีเซลด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ โดยมีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. สร้างองค์ความรู้ การวิจัยพัฒนาทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อความเป็นเลิศทางด้านการผลิตไบโอดีเซลและการใช้ประโยชน์จากผลผลิตอื่นๆที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ (Biocatalyst)

2. คัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ในประเทศไทยและพัฒนาสายพันธ์ด้วยเทคโนโลยีพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

3. ศึกษาค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับเอนไซม์ไลเพสจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยเน้นการศึกษาสมบัติ กลไกการทำงานและกลไกการควบคุมการทำงานของตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพซึ่งสามารถทนทานและเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

4. ศึกษาค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับเซลล์จุลินทรีย์ (Whole cell biocatalyst) ที่มีความทนทานและสามารถเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ (Bioconversion or Biotransformation) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5. สร้างและพัฒนาระบบเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล การพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพโดยการตรึงรูปที่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้หลายๆครั้งอย่างมีความเสถียรในสภาพแวดล้อมต่างๆของปฏิกิริยาเพื่อเป็นต้นแบบของกระบวนการผลิตสารที่ต้องการจากตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพในระดับอุตสาหกรรม

6. วิจัย คิดค้นการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์ร่วม คือกลีเซอรีน ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

7. ผลิตผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติที่มี impact factor

8. พัฒนาและผลิตบุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญระดับสูงในศาสตร์ด้านนี้ และการสร้างบัณฑิตระดับดุษฎีบัณฑิต เพื่อให้มีการสร้างองค์ความรู้และพัฒนาเทคโนโลยีอย่างต่อเนื่อง

9. สร้างเครือข่ายความร่วมมือระหว่างผู้วิจัยและกลุ่มวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศ

5. ผลงานทางวิชาการ

5.1 ผลงานวิจัยที่ได้รับการอ้างอิง (Citation) ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ไม่นับรวมการอ้างอิงผลงานของตนเองและวิทยานิพนธ์ที่อยู่ในความดูแล ในระยะเวลา 5 ปี (พ.ศ. 2556 ถึง พ.ศ. 2560)

ระดับชาติ

1. วรรณพร วัฒน์สุนธร วิษณุ สีโหน เฉลิมชัย เรืองชัยนิคม ปัญญมี สัจจกมล อรทัย ชวาลภาฤทธิ์ สุภางค์ จุฬาลักษณานุกูล และ **วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล.** 2557. การลดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในระบบผลิตก๊าซด้วยกระบวนการทางชีวภาพ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว*. 30, 2(2557): 187-202.
2. สุภา แก้วสุริวงษ์ จันทรัสม์ โคมเวียน สิทธิรักษ์ รอยตระกูล และ **วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล.** 2556. เทคนิคโปรตีโอมิกสำหรับการวิเคราะห์วิถีชีวสังเคราะห์สารพิษในสบู่ดำ. *Genomics and Genetics.* 6, 2(2557): 115-127.

ระดับนานาชาติ

• อ้างอิงจากฐานข้อมูล Scopus

1. Buathong, P., Boonvitthya, N., Truan, G., and **Chulalaksananukul, W.** "Biotransformation of lauric acid into 1, 12-dodecanedioic acid using CYP52A17 expressed in Saccharomyces cerevisiae and its application in refining coconut factory wastewater". *International biodeterioration and biodegradation*. 139(2019) : 70-77. **IF 3.562**
2. Ouephanit, C., Boonvitthya, N., Theerachat, M., Bozonnet, S., and **Chulalaksananukul, W.** "Efficient expression and secretion of endo-1,4-β-xylanase from *Penicillium citrinum* in non-conventional yeast *Yarrowia lipolytica* directed by the native and the preproLIP2 signal peptides". *Protein expression and purification*. 106(2019) : 1-6. **IF 2.962**
3. Watsuntorn, W., Ruangchainikom, C., Rene, ER., Lens, PNL., and **Chulalaksananukul, W.** "Comparison of sulphide and nitrate removal from synthetic wastewater by pure and mixed cultures of nitrate-reducing, sulphide-oxidizing bacteria". *Bioresource technology*. 272(2019) : 40-47. **IF 5.807**

4. Theerachat, M., Guieysse, D., Morel, S., Remaud-Siméon, M., and **Chulalaksananukul, W**. "Laccases from marine organisms and their applications in the biodegradation of toxic and environmental pollutants: a review". Applied Biochemistry and Biotechnology. 187(2019) : 583-611. **IF 1.797**
5. Theerachat, M., Tanapong, P. and **Chulalaksananukul, W.** "The culture or co-culture of *Candida rugosa* and *Yarrowia lipolytica* strain rM-4A, or incubation with their crude extracellular lipase and laccase preparations, for the biodegradation of palm oil mill wastewater." *International Biodeterioration and Biodegradation*. 121(2017) : 11-18. **IF 2.962**
6. Lertsriwong, S., Comwien, J., **Chulalaksananukul, W**. and Glinwong, C. "Isolation and identification of anaerobic bacteria from coconut wastewater factory for ethanol, butanol and 2, 3 butanediol production." *International Biodeterioration and Biodegradation.* 119(2017) : 461-466. **IF 2.962**
7. Watsuntorn, W., Ruangchainikom, C., Rene, ER., Lens, PNL., **Chulalaksananukul, W.** " Hydrogen sulfide oxidation under anoxic conditions by a nitrate-reducing, sulfide-oxidizing bacterium isolated from the Mae Urn Long Luang hot spring, Thailand." *International biodeterioration & biodegradation*. 124(2017) : 196-205. **IF 2.962**
8. Wongwatanapaiboon, J., Klinbunga, S., Ruangchainikom, C., Thummadetsak, G., Chulalaksananukul, S., Marty, A. and **Chulalaksananukul, W**. "Cloning, expression, and characterization of *Aureobasidium melanogenum* lipase in *Pichia pastoris". Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 80(2016) : 2231-2240. **IF 1.295**
9. Wongwatanapaiboon, J., Malilas, W., Ruangchainikom, C., Thummadetsak, G., Chulalaksananukul, S., Marty, A. and **Chulalaksananukul, W.** "Overexpression of *Fusarium solani* lipase in *Pichia pastoris* and its application in lipid degradation". *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 30(2016) : 885-893. **IF 1.059**
10. Malilas, W., Kang, S.W., Kim, S.B., Yoo, H.Y., **Chulalaksananukul, W.** and Kim, S.W. "Lipase from *Penicillium camembertii* KCCM 11268: Optimization of solid state fermentation and application to biodiesel production". *Korean Journal of Chemical Engineering*. 30(2013) : 405-412. **IF 2.007**

11. Virunanon, C., Ouephanit, C., Burapatana, V. and **Chulalaksananukul, W.** "Cassava pulp enzymatic hydrolysis process as a preliminary step in bio-alcohols production from waste starchy resources". *Journal of Cleaner Production* 39(2013) : 273-279. **IF 5.715**

• อ้างอิงจากฐานข้อมูล ISI web of science

1. Watsuntorn, W., Ruangchainikom, C., Rene, ER., Lens, PNL., and **Chulalaksananukul, W.** "Comparison of sulphide and nitrate removal from synthetic wastewater by pure and mixed cultures of nitrate-reducing, sulphide-oxidizing bacteria". *Bioresource technology*. 272(2019) : 40-47. **IF 5.807**
2. Theerachat, M., Tanapong, P. and **Chulalaksananukul, W.** "The culture or co-culture of *Candida rugosa* and *Yarrowia lipolytica* strain rM-4A, or incubation with their crude extracellular lipase and laccase preparations, for the biodegradation of palm oil mill wastewater." *International Biodeterioration and Biodegradation*. 121(2017) : 11-18. **IF 2.962**
3. Lertsriwong, S., Comwien, J., **Chulalaksananukul, W**. and Glinwong, C. "Isolation and identification of anaerobic bacteria from coconut wastewater factory for ethanol, butanol and 2, 3 butanediol production." *International Biodeterioration and Biodegradation.* 119(2017) : 461-466. **IF 2.962**
4. Watsuntorn, W., Ruangchainikom, C., Rene, ER., Lens, PNL., **Chulalaksananukul, W.** " Hydrogen sulfide oxidation under anoxic conditions by a nitrate-reducing, sulfide-oxidizing bacterium isolated from the Mae Urn Long Luang hot spring, Thailand." *International biodeterioration & biodegradation*. 124(2017) : 196-205. **IF 2.962**
5. Wongwatanapaiboon, J., Klinbunga, S., Ruangchainikom, C., Thummadetsak, G., Chulalaksananukul, S., Marty, A. and **Chulalaksananukul, W**. Cloning, expression, and characterization of *Aureobasidium melanogenum* lipase in *Pichia pastoris. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 80(2016) : 2231-2240. **IF 1.295**
6. Wongwatanapaiboon, J., Malilas, W., Ruangchainikom, C., Thummadetsak, G., Chulalaksananukul, S., Marty, A. and **Chulalaksananukul, W.** Overexpression of *Fusarium solani* lipase in *Pichia pastoris* and its application in lipid degradation. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 30(2016) : 885-893. **IF 1.059**

7. Laungsuwon, R. and **Chulalaksananukul, W**. "Antioxidant and anticancer activities of freshwater green algae, *Cladophora glomerata* and *Microsporafloccosa*, from Nan River in northern Thailand." *Maejo International Journal of Science and Technology.* 7(2013) : 181-188. **IF 0.312**
8. Malilas, W., Kang, S.W., Kim, S.B., Yoo, H.Y., **Chulalaksananukul, W.** and Kim, S.W. "Lipase from *Penicillium camembertii* KCCM 11268: Optimization of solid state fermentation and application to biodiesel production". **Korean Journal of Chemical Engineering**. 30(2013): 405-412. **IF 2.007**
9. Vitisant, T., Leelaruji, W., Chulalaksananukul, S., Wattayakorn, G. and **Chulalaksananukul, W**. "A high-activity lipolytic yeast isolated from Sichang Island, Thailand." *Maejo International Journal of Science and Technology.* 7 (2013) : 96-105. **IF 0.312**
10. Virunanon, C., Ouephanit, C., Burapatana, V. and **Chulalaksananukul, W.** "Cassava pulp enzymatic hydrolysis process as a preliminary step in bio-alcohols production from waste starchy resources". *Journal of cleaner production.* 39(2013): 273-279. **IF 5.715**

5.2 ตำราหนังสือ บทความทางวิชาการ และสิทธิบัตร

ตำรา-หนังสือ

1. **วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล.** พันธุศาสตร์และการประยุกต์ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1.
   กรุงเทพมหานคร : : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2561. 318 หน้า
2. **วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล.** พันธุศาสตร์สมัยใหม่เพื่ออุตสาหกรรมการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่
   1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2559. 238 หน้า
3. **วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล.** เชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2558. 124 หน้า
4. **วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล.** พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2551. 217 หน้า

บทความทางวิชาการ

วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. Beta-Glucosidase from Trichoderma to Improve the Activity of Cellulase Cocktail in Biotechnology and Biology of Trichoderma. In V.K. Gupta (ed), pp 281-290. United State : Great Britain. 2014

สิทธิบัตร

1. Method for producing biochemicals from CO_2 fermentation ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 2559
2. สารสูตรผสมสารละลายโซเดียมโมลิบเดทและไฮโดรไลเสทของมวลชีวภาพสำหรับยับยั้งการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในระบบไร้ออกซิเจน และกรรมวิธีการยับยั้งการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในระบบด้วยสารสูตรผสมดังกล่าว ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 2559
3. กระบวนการผลิตบิวทานอลและเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคส ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 13 พฤศจิกายน 2558 เลขที่คำขอ 1501006841
4. สูตรผสมของโปรติโอไลติกแบคทีเรียสกุลแบซิลลัสสำหรับใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนโปรตีน ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 25 กันยายน 2558 เลขที่คำขอ 1501005928
5. กระบวนการสร้างยีสต์ยาโรเวีย ลิโปไลติกา สายพันธุ์ใหม่ด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนไซแลเนส ยื่นต่อ
   กรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 28 กันยายน 2558 เลขที่คำขอ 1501005925
6. กระบวนการสร้างยีสต์พีเชียพาสทอริสสายพันธุ์ใหม่ด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนไซแลเนส ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 9 เมษายน 2558 เลขที่คำขอ 1501001990
7. กระบวนการผลิต 2,3- บิวเทนไดออลจากจุลินทรีย์คลอสทริเดียม ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ
   9 เมษายน 2558 เลขที่คำขอ 1501001989
8. กระบวนการสร้างยีสต์ พีเชีย พาสทอริส สายพันธุ์ใหม่ด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนเบต้ากลูโคซิเดส ยื่นต่อ
   กรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 4 กันยายน 2557 เลขที่คำขอ 1401005134
9. กระบวนการย่อยสลายไขมันโดยสมบูรณ์ด้วยกระบวนการไฮโดรลิซิสที่เร่งด้วยไลเพสจาก ออริโอเบซิเดียม พูลลูแลน (*Aureobasidium pullulans*) ร่วมกับ แคนดิดา รูโกซ่า (*Candida rugosa*) และร่วมด้วยกระบวนการเบต้าออกซิเดชันที่เร่งด้วยยีสต์ทั้งเซลล์แซคคาโรมัยซีส ซีรีวิซีเออิ (*Saccharomyces cerevisiae*) ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 20 มีนาคม 2557 เลขที่คำขอ 1401001489

10. กระบวนการสร้างยีสต์พีเชียพาสทอริสสายพันธุ์ใหม่ด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนไลเพสจากออริโอเบสิเดียมพูลลูแลน ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 20 มีนาคม 2557 เลขที่คำขอ 1401001488
11. กระบวนการสร้างยีสต์ไฮเปอร์เซลลูเลสพีเชียพาสทอริสซียู-พีทีทีบีจีแอลที่มีความสามารถทนกลูโคสด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนเบต้ากลูโคซิเดส ยื่นเพื่อพิจารณาดำเนินการขอสิทธิบัตรไปยังสถาบันทรัพย์สินทางปัญญาแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 16 มกราคม 2555
12. กระบวนการสร้างยีตส์ไฮเปอร์เซลลูเลสพีเชียพาสทอริสสายพันธุ์ใหม่ด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนเอนโดกลูคาเนส 2 ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 19 กันยายน 2554 เลขที่คำขอ 1101002112
13. กระบวนการสร้างยีตส์ไฮเปอร์เซลลูเลสพีเชียพาสทอริสสายพันธุ์ใหม่ด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนเซลโลไบโอไฮโดรเลส 2 ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 19 กันยายน 2554 เลขที่คำขอ 1101002113
14. กระบวนการสร้างยีสต์พีเชียพาสทอริสสายพันธุ์ใหม่ด้วยการตัดต่อพันธุกรรมยีนเซลโลไบโอไฮโดรเลส1 ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญาเมื่อ 17 กันยายน 2553 เลขที่คำขอ 1001001437
15. กระบวนการเหนี่ยวนำด้วยสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนตและรังสีอัตราไวโอเลตให้เกิดเชื้อราไตรคอร์เดอร์มาเรซีไอพันธุ์กลาย ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 5 มีนาคม 2552 เลขที่คำขอ 0901000962
16. การผลิตบิวทานอลและเอทานอลด้วยเชื้อคลอสทริเดียมโดยใช้ของเสียจากโรงงานมันสำปะหลัง ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 19 พฤศจิกายน 2551 เลขที่คำขอ 0801005960
17. การผลิตกรดไขมันอิสระจากน้ำมันปาล์มด้วยเอ็นไซม์ไลเพสจากเชื้อ *Canadida rugosa* และสายพันธุ์กลาย CU22 ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 6 มีนาคม 2551 เลขที่คำขอ 0801001111
18. การผลิตไบโอดีเซลด้วยเอนไซม์ไลเพส ยื่นต่อกรมทรัพย์สินทางปัญญา เมื่อ 3 กันยายน 2552 เลขที่คำขอ 0901003955

5.3 ผลงานที่มีการเผยแพร่และถูกนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อสังคมและประเทศ ที่เป็นรูปธรรม

เป็นที่ยอมรับหรือได้รับการอ้างอิง

1. การผลิตอาหารสูตรผสมโปรไบโอติกแบคทีเรียและโปรตีนจากเมล็ดพืชเพื่อสุขภาพและการเจริญเติบโตของปลาเก๋า ระยะที่ 2 ภายใต้ความร่วมมือกับคณะกรรมการอำนวยการชุดโครงการสร้างเสริมสุขภาพชุมชนโดยรอบจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (OFOC) ระยะเวลา 1 ปี (31 มกราคม 2559 ถึง 31 มกราคม 2560)
2. การผลิตไบโอดีเซลชุมชนเกาะสีชังจากน้ำมันที่ใช้แล้วระยะที่ 2 ภายใต้ความร่วมมือกับคณะกรรมการอำนวยการชุดโครงการสร้างเสริมสุขภาพชุมชนโดยรอบจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (OFOC) ระยะเวลา 1 ปี (31 มกราคม 2559 ถึง 31 มกราคม 2560)
3. จิตอาสาทำความดีตามรอยพ่อ : ต้นแบบคุ้มครองผู้บริโภคด้านอาหารสุขภาพ ภายใต้ความ

ร่วมมือกับแผนงานพัฒนาวิชาการและกลไกคุ้มครองผู้บริโภคด้านสุขภาพ (คคส.) ระยะเวลา 3 เดือน (1 ธันวาคม 2559 ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2560)

4. การสนับสนุนทางวิชาการเพื่อความปลอดภัยชีวภาพในกระบวนการพัฒนาผลิตภัณฑ์และเทคโนโลยีชีวภาพของบริษัท พีทีที โกลบอล เคมิคอล จำกัด (มหาชน) ภายใต้ความร่วมมือกับบริษัท พีทีที โกลบอล เคมิคอล จำกัด (มหาชน) ระยะเวลา 6 เดือน (31 ธันวาคม 2559 ถึง 30 มิถุนายน 2560)
5. กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาวิเคราะห์และประเมินผลงานทางวิชาการเพื่อขอตำแหน่งทางวิชาการ 1 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ (พ.ศ. 2557)
6. ที่ปรึกษาคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบัน (Institutional Biosafety Committee, IBC) บริษัท พีทีที โกลบอลเคมิคอล จำกัด (มหาชน) 3 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ (พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2559)
7. คณะทำงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีสนองพระราชดำริโดย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 1 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ (พ.ศ. 2551 ถึง พ.ศ. 2559)
8. กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิโครงการ IPRUS ภายใต้การสนับสนุนโดยกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

   1 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ (พ.ศ. 2548 ถึง พ.ศ. 2557)

ผู้ร่วมงานวิจัย

ประวัตินักวิจัย

(ภาษาไทย) นาง ชมภูนุช กลิ่นวงษ์ ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.
(ภาษาอังกฤษ) MRs. CHOMPUNUCH GLINWONG (VIRUNANON)

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 02-2185479 โทรสาร 022185482

e-mail address: chompunuch.v@chula.ac.th

ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ พ.ศ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.ด. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)	วิทยาศาสตร์ชีวภาพ	2551
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.บ. เกียรตินิยมอันดับ 2 (พันธุศาสตร์)	พันธุศาสตร์	2545

ผลงานวิจัย หนังสือ และบทความวิชาการที่พิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง 5 ปี

1. Supattra Lertsriwong and **Chompunuch Glinwong**. 2018. Hydrogenase gene and Biohydrogen production by newly isolated *Bacillus* and *Clostridium* spp. from alternative carbon sources**.** Hydrogen Energy. (submitted)
2. Monnat Theerachat, **Chompunuch Glinwong**, Sompop Rungsupa, Warawut Chulalaksananukul. 2018. Metagenomic analysis of blood cockle (Anadara granosa) microbiota from coast areas and earthen ponds around the inner gulf of Thailand. Food Control. (submitted)
3. Supapattra Lertsriwong, Jantarush Comwien, Warawut Chulalaksananukul, **Chompunuch Glinwong.** 2017. Isolation and identification of ananerobic bacteria from coconut wastewater factory for ethanol, butanol and 2, 3 butanediol production. International Biodeterioration and Biodegradation. International biodeterioration and biodegradation. (2017). 119: 461-466. (IF 2.593)

4. **Chompunuch Glinwong**, Supattra Lertsriwong, and Warawut Chulalaksananukul. “Hydrogen producer isolated from agricultural wastewater and molasses” Energy Procedia. (2017). 138: 140-144.
5. Jantarush Comwien , Nassapat Boonvithaya , Warawut Chulaluksananukul, **Chompunuch Glinwong**. 2015. Direct production of butanol and ethanol from cane sugar factory wastewater and cellulosic ethanol pilot plant by *Clostridium beijerinckii* CG1. Energy Procedia. 79: 556-561.
6. **Virunanon, C.,** Ouephanit, C., Burapatana, V. and **Chulalaksananukul, W.** 2013. Cassava pulp enzymatic hydrolysis process as a preliminary step in bio-alcohols production from waste starchy resources. J. Clean. Prod. 39: 273-279. Impact factor **(**2015**)** 4**.**959
7. Booranasrisak , T., Phaonakrop , N., Jaresitthikunchai, J., Roytrakul, S., **Virunanon**, C., and Chulalaksananukul, W. 2013. PROTEOMIC EVALUATION OF FREE FATTY ACID BIOSYNTHESIS IN PHYSIC NUT *Jatropha curcas* L. KERNEL DEVELOPMENT. African Journal of Biotechnology (2013). Vol 12 (21). pp. 3132-3142. Impact factor 0**.**57
8. Nassapat Boonvitthaya, Jittra Piapukiew, Chompunuch Glinwong and Warawut Chulalaksananukul. 2013. Genetic analysis of physic nut Jatropha curcas L. Populations in Thaialnd using ISSR markers. ICRERA-IEEE 2013. http://dx.doi.org/10.1109/ICRERA.2013.6749836.
9. Chanika Ouephanit, **Chompunuch Virunanon**, Vorakan Burapatana, and Warawut Chulalaksananukul. Butanol and ethanol production from tapioca starch wastewater by *Clostridium* sp. *Water Science and Technology*. 2012. 64(9):1774-1180. impact factor (2015) 1.064
10. จันทรัศม์ โคมเวียน และ **ชมภูนุช กลิ่นวงษ์**. 2559. แหล่งคาร์บอนจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อผลิตเอทานอลและบิวทานอลด้วยแบคทีเรียคลอสทริเดียม. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. ปีที่ 21. ฉบับที่ 1. มกราคม – เมษายน 2559. 64-77.

สิทธิบัตรที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ

2016 Method for producing biochemical from CO2 fermentation

เลขที่คำขอ PCT/TH2016/000021

2015 กระบวนการผลิต 2, 3 บิวเทนไดออลจากจุลินทรีย์คลอสทริเดียม

เลขที่คำขอ1501001989

2011 การผลิตเอทานอลและบิวทานอลด้วยเชื้อคลอสทริเดียมโดยใช้ของเสียโรงงานมันสำปะหลัง เลขที่คำขอ 0801005960

บทความที่เผยแพร่ในวารสารการประชุมวิชาการย้อนหลัง 5 ปี

1. **Chompunuch Glinwong** and Supattra Lertsriwong. 2017. Probiotic bacteria analysis of a bioethanol wastewater treatment pond. The 5th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry (ISEAC 5-Asia). 55.
2. **ชมภูนุช กลิ่นวงษ์** สุพัตรา เลิศศรีวงษ์ จันทรัศม์ โคมเวียน และวรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2016. คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมทางการเกษตรเพื่อผลิตสารเคมีตั้งต้นในอุตสาหกรรม. การประชุมวิชาการเครือข่ายพลังงานแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 12 อุตสาหกรรม-พลังงาน เพื่ออนาคตประเทศไทย. Conference Proceeding. 761-764.
3. **Chompunuch Glinwong**, Jantarush Comewien, Angwara Vudthi, Warawyt Chulalaksananukul. 2014. Comparative study of 2, 3-butanediol production in C5 and C6 sugar by solventogenic *Clostridium* spp. International Bioscience Conference and the 5th International PSU-UNS Bioscience Conference (IBSC2014) Proceeding. 119-122.
4. Supattra Lertsriwong, Nassapat Boonvitthaya, Warawut Chulalksananukul, **Chompunuch Glinwong**. 2014. Conversion of pentoses, hexoses,and disccarride to be acetone-butanol-ethanol (ABE) by *Clostridium* sp. HDi. International Bioscience Conference and the 5th International PSU-UNS Bioscience Conference (IBSC2014) Proceeding. 188-192.
5. **Chompunuch Virunanon**, Jantarus Comwein, Vorakan Burapatana, and **Warawut Chulalaksananukul.** 2013. Detection of partial *acsA* gene, encoding carbonmonoxide dehydrogenase for CO_2 consumption of *Clostridium beijerinckii* sp. CG1 นำเสนอในรูปแบบ poster presentation ในการประชุม 4th Regional AFOB Symposium 2013 “bioenergy, biorefinery and beyond” January 17-19, 2013 Chiangmai Grandview Hotel and Convention Center. Thailand.
6. Jiraporn Puangkeaw, Suphang Chulalaksananukul, Gullaya Wattayakorn, and **Chompunuch Virunanon.** 2012. Screening of Anaerobic Bacteria for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Degradation from Marine Sediment. International Proceeding of the 24th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology “Renewable Energy and Global Care”, November 2012. Number P-II-04 234.
7. Jiraporn Puangkeaw, Gullaya Wattayakorn, **Chompunuch Virunanon,** and Suphang Chulalaksananukul, 2012. The screening of denitrification bacteria from marine sediment for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation นำเสนองานรูปแบบ poster ในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ The First Asian Marine Biology Symposium in Phuket, Thailand, December 13 -17, 2012.

8. Jiraporn Puangkeaw, Gullaya Wattayakorn, **Chompunuch Virunanon,** and Suphang Chulalaksananukul, 2012. Biodegradation of Benzo(a)pyrene by Marine Denitrifying

Bacteria นำเสนอในรูปแบบ oral presentation ในการประชุม International Conference on Environmental Science and Technology, ICOEST'2013 – CAPPADOCIA Urgup, Turkey, June 18-21, 2013

ทุนวิจัยที่ได้รับ

1. หัวหน้าโครงการ การพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์ ที่มีความสามารถในการผลิต 3-hydroxypropanoic acid เพื่อใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรม. โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (2561-2563)
2. หัวหน้าโครงการ กระบวนการผลิตไบโอไฮโดรเจนด้วยแบคทีเรียสกุลคลอสทริเดียมจากแหล่งคาร์บอนทางเลือก (2559-2560)
3. หัวหน้าโครงการ การสำรวจจุลินทรีย์ที่เป็นตัวชี้วัดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อม โครงการพัฒนาการมีส่วนร่วมของชุมชนเทพาเพื่อพัฒนาศักยภาพในการตรวจติดตามสถานภาพสิ่งแวดล้อม แหล่งทุนสนับสนุน การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค (2559-2562)
4. ผู้ร่วมโครงการ การศึกษาความหลากหลายและการปรากฏของยีนก่อโรคของเชื้อวิบริโอจากหอยแครงบริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนใน แหล่งทุนสนับสนุน กองทุนรัชฎาภิเษกสมโภชน์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2559-2560)
5. หัวหน้าโครงการ ผลของการจัดการเรียนรู้โดยใช้ปัญหาเป็นฐานสำหรับนิสิตเรียนพันธุศาสตร์ชีวเคมีและชีวสารสนเทศน์เพื่อการประยุกต์ใช้ทางพันธุศาสตร์ (2557)
6. หัวหน้าโครงการ การใช้ชีวสารสนเทศกับการออกแบบเอนไซม์เซลลูเลสในเซลลูโลโซม ทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่ กองทุนรัชฎาภิเษกสมโภชน์ ปี 2551-2552
7. ผู้ร่วมโครงการ การผลิตเอทานอลและบิวทานอลจากคลอสทริเดียมจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างจากทั่วไป เฟสที่ 2" แหล่งทุนสนับสนุน บริษัท ปตท. จำกัดมหาชน ระยะเวลา 2 ปี (2557-2559)
8. ผู้ร่วมโครงการ การผลิตเอทานอลและบิวทานอลจากคลอสทริเดียมจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างจากทั่วไป" แหล่งทุนสนับสนุน บริษัท ปตท. จำกัดมหาชน ระยะเวลา 2 ปี (2555-2557)