



การศึกษาศักยภาพของชีวมวลแห่น *Lemna minor* L. ในการผลิตพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพ

ประดิษฐ์ เอี่ยมสะอาด*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา

* ผู้ประสานงานเผยแพร่ (Corresponding Author), E-mail: pradinunt.e@aru.ac.th

วันที่รับบทความ: 4 กรกฎาคม 2563; วันที่ทบทวนบทความ: 24 สิงหาคม 2563; วันที่ตอบรับบทความ: 9 กันยายน 2563

วันที่เผยแพร่ออนไลน์: 9 ธันวาคม 2563

บทคัดย่อ: แห่นสายพันธุ์ *Lemna minor* L. เป็นพืชน้ำที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีการสะสมแป้งปริมาณสูงและมีสัดส่วนของลิกนินเป็นองค์ประกอบต่ำจึงจัดเป็นชีวมวลที่เหมาะสมสำหรับการผลิตพลังงานชีวภาพ ในการวิจัยครั้งนี้ได้มีการศึกษาสัดส่วนองค์ประกอบเคมีกลุ่มลิกโนเซลลูโลสและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างชีวมวลแห่น *Lemna minor* L. โดยศึกษาทั้งในตัวอย่างแห่นสดและแห่นอบแห้ง ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างแห่นอบแห้งมีสัดส่วนของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมากที่สุด ร้อยละ 29.18 และ 64.83 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ตามลำดับ และยังพบว่าแห่นอบแห้งมีปริมาณลิกนินต่ำสุดที่ร้อยละ 5.75 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เมื่อศึกษาประสิทธิภาพในการปรับสภาพชีวมวลแห่นด้วยวิธีการทางเคมีด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่าชีวมวลแห่นอบแห้งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าแห่นสดทั้งในการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและต่างทุกความเข้มข้น โดยเฉพาะการใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.05 นอร์มัล ซึ่งให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ 796.21 ± 0.91 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ต่ำที่สุด 200.04 ± 1.51 มิลลิกรัมต่อลิตร พบได้ในการปรับสภาพแห่นสดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.2 นอร์มัล อย่างไรก็ตามจากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลแห่นพบว่าแห่น *Lemna minor* L. สามารถพัฒนาให้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการผลิตพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพได้โดยอาศัยการพัฒนากระบวนการและเทคโนโลยีที่มีความเหมาะสมต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: แห่น; *Lemna minor* L.; องค์ประกอบลิกโนเซลลูโลส; การปรับสภาพชีวมวล; น้ำตาลรีดิวซ์



A Potentially Study of Duckweed *Lemna minor* L. Biomass in Biofuel Production

Pradinunt Eiamsa-ard*

Department of Environmental Science, Faculty of Science and Technology,
Phranakorn Si Ayutthaya Rajabhat University

* Corresponding author, E-mail: pradinunt.e@aru.ac.th

Received: 4 July 2020; Revised 24 August 2020; Accepted: 9 September 2020

Online Published: 9 December 2020

Abstract: Duckweed, *Lemna minor* L. is categorized as rapid growth aquatic plant with the ability to accumulate high proportion of starch content and significantly low lignin ratio. It could be, therefore, promising as a biomass feedstock for biofuel production. In this research, the lignocellulosic composition coupled with the reducing sugar concentration either in fresh or dried duckweed *Lemna minor* L. biomass was investigated. The results established the highest proportion of cellulose and hemi-cellulose composition was exclusively observed within dried duckweed biomass at 29.18 and 64.83% (w/w), respectively, meanwhile, the lowest level of lignin content at 5.75% (w/w). The chemical pretreatment of duckweed biomass was evaluated through 0.05, 0.1 and 0.2 N of H₂SO₄ and NaOH at 80°C. Within these experiments, the level of sugar concentration derived from dried duckweed biomass was higher compared to the fresh biomass. Especially, the highest reducing sugar at 796.21 ± 0.91 mg/l was released according to the treatment of dried duckweed biomass with 0.05 N H₂SO₄, whereas the lowest reducing sugar content was 200.04 ± 1.51 mg/l has been achieved after the treatment of fresh biomass with 0.2 N NaOH. However, the consecutively chemical composition analysis of duckweed *Lemna minor* L. biomass could be contributed to a substrate for biofuel energy production through the further appropriated variable technologies.

Keywords: Duckweed; *Lemna minor* L.; Lignocellulosic Composition; Biomass Pretreatment; Reducing Sugar



1. บทนำ

ปัจจุบันความต้องการใช้พลังงานทั่วโลกมีความต้องการสูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของประชากร การขยายเขตเมืองและอุตสาหกรรม โดยมีพื้นฐานการผลิตพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิลเป็นหลักและมีแนวโน้มที่จะหมดไปในอนาคตอันใกล้ [1] จึงนำไปสู่ความต้องการใช้พลังงานทางเลือกที่มีแนวโน้มสูงขึ้นทั่วโลก เพื่อลดการใช้พลังงานฟอสซิล และยังเป็นวิธีการสำคัญในการลดผลกระทบที่มีต่อสิ่งแวดล้อม ดังเช่น การลดการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการใช้น้ำมันและถ่านหิน [2] หนึ่งในกลุ่มพลังงานทดแทนที่มีบทบาทสำคัญในปัจจุบัน ได้แก่ กลุ่มพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพ (Biofuel Energy) ที่มีการผลิตจากชีวมวลซึ่งเป็นวัตถุดิบที่พบมากในธรรมชาติ เช่น ไบโอเอทานอล (Bioethanol) ที่มีการผลิตจากผลิตผลทางการเกษตร เช่น อ้อย ข้าวโพดและมันสำปะหลัง เป็นต้น ซึ่งการนำพืชอาหารมาใช้ในการผลิตเอทานอลอาจส่งผลให้ราคาสินค้าปรับตัวสูงขึ้น และเกิดผลกระทบต่อผู้บริโภค [3, 4] ดังนั้นการพิจารณาเลือกวัตถุดิบในการผลิตพลังงานชีวภาพจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic Biomass) ชนิดอื่น ๆ จึงเป็นสิ่งที่จะต้องให้ความสนใจ ได้แก่ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร หรือวัชพืช ซึ่งนอกจากจะเป็นการผลิตพลังงานทางเลือกจากวัสดุเศษเหลือแล้วยังเป็นวิธีการช่วยกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังพบว่าการผลิตพลังงานจากชีวมวลช่วยลดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse Gas, GHG) นับได้ว่าเป็นแนวทางการผลิตพลังงานที่ยั่งยืน [5, 6] แต่อย่างไรก็ตามการพิจารณาเลือกชีวมวลที่จะนำมาใช้ในการผลิต

พลังงานชีวภาพยังคงมีความจำเป็นต้องวิเคราะห์องค์ประกอบที่สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

แหวน *Lemna minor* L. เป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มพืชดอกชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว ในวงศ์ Lemnaceae สามารถลอยน้ำได้จัดเป็นกลุ่มของวัชพืชน้ำ มักพบในแหล่งน้ำทั่วไปในประเทศเขตอบอุ่นและในเขตร้อน [7, 8] ลักษณะทั่วไปของแหวนที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นพืชน้ำที่เจริญได้รวดเร็วและสามารถพบได้ทั้งในแหล่งน้ำผิวดินทั่วไปและน้ำเสีย [9] และจากรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลแหวน พบว่าเป็นพืชที่มีการสะสมสารอินทรีย์ภายในเซลล์ทั้งกลุ่มไนโตรเจนและคาร์บอน อีกทั้งยังเป็นพืชที่มีการสะสมแป้งในปริมาณสูงอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าแหวนเป็นชีวมวลที่มีการสะสมลิกนินในปริมาณต่ำ ซึ่งสัดส่วนของเซลลูโลสต่อลิกนินมีความสำคัญ เนื่องจากการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าลิกนิน ดังนั้นปริมาณเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการพิจารณาเลือกชีวมวล และยังคงพบว่ามีสัดส่วนลิกนินในเซลลูโลสมีผลต่อกระบวนการปรับสภาพชีวมวล (Pretreatment) เพื่อย่อยองค์ประกอบชนิดเซลลูโลสและลิกนินเซลลูโลส (Hydrolysis) ให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์น้ำตาลรีดิวซ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตพลังงานชีวภาพซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงต่อไปในอนาคต [10-12]

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้สนใจศึกษาซึ่งประสิทธิภาพของแหวน (*Lemna minor* L.) ที่เก็บตัวอย่างในมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบกลุ่มลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เพื่อประเมิน

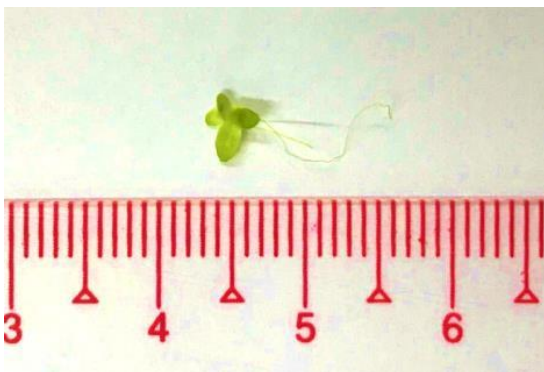


ศักยภาพในการเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตพลังงานชีวภาพ โดยเฉพาะเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่เป็นสารในกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ซึ่งเมื่อถูกย่อยจนได้โมเลกุลขนาดเล็กจะสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ [13, 14] โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ประเภทไบโอเอทานอลซึ่งจัดเป็นพลังงานเชื้อเพลิงที่มีความต้องการสูงขึ้นเป็นอย่างมากในปัจจุบัน

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

ตัวอย่างแห่น (*Lemna minor* L.) เก็บจากแหล่งน้ำในมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา (รูปที่ 1) นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด พักให้สะเด็ดน้ำแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นบดตัวอย่างชีวมวลแห่นที่ผ่านการอบแห้งให้มีขนาดประมาณ 0.1 – 0.2 มิลลิเมตร



รูปที่ 1 ลักษณะทั่วไปของแห่น *Lemna minor* L. ที่เก็บในมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา

2.2 การศึกษาองค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสของชีวมวลแห่น

เตรียมตัวอย่างชีวมวลแห่น ทั้งชนิดแห่นสดและแห่นอบแห้ง เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemi-cellulose) และลิกนิน (Lignin) (ปรับปรุงจาก [15]) โดยการชั่งน้ำหนักตัวอย่างชีวมวล 0.50 กรัม (A) แล้วนำไปย่อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 24 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปกรองและล้างด้วย น้ำกลั่น 3 ครั้ง ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงชั่งน้ำหนัก (B) จากนั้นจึงนำตัวอย่างดังกล่าวไปย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 72 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วนำไปกรองและล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก (C) ในขั้นตอนสุดท้าย นำตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พักให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและชั่งน้ำหนัก (D) จากนั้นจึงคำนวณปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณเซลลูโลส} = B - C \quad (1)$$

$$\text{ปริมาณเฮมิเซลลูโลส} = A - B \quad (2)$$

$$\text{ปริมาณลิกนิน} = C - D \quad (3)$$

เมื่อ A = น้ำหนักตัวอย่างแห่นเริ่มต้น (A)

B = น้ำหนักตัวอย่างหลังการย่อยด้วยด่าง (B)

C = น้ำหนักตัวอย่างหลังการย่อยด้วยกรด (C)

D = น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา (D) (กรัม)



2.3 การปรับสภาพชีวมวลแห้งด้วยวิธีการทางเคมี

การปรับสภาพตัวอย่างชีวมวลแห้งในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้วิธีการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีร่วมกับการใช้ความร้อน โดยการใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2 นอร์มัล ในอัตราส่วน 1 : 8 จากนั้นนำส่วนผสมระหว่างชีวมวลแห้งสดแห้งอบแห้งที่มีสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Julabo, Germany) เป็นเวลา 60 นาที โดยเขย่าให้เข้ากันสม่ำเสมอทุก ๆ 10 นาที จนครบระยะเวลาของการปรับสภาพ (ปรับปรุงจาก [16]) ดำเนินการทดลอง 3 ซ้ำ และเมื่อครบระยะเวลาของการปรับสภาพจึงกรองแยกแหว่งสารละลายส่วนใสหรือเรียกว่า ไฮโดรไลเสท (Hydrolysate) ออกจากตะกอนชีวมวล แล้วนำไฮโดรไลเสทไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นลำดับต่อไป

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากชีวมวลแห้งสดและอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการทางเคมีร่วมกับการใช้ความร้อนด้วยวิธี 3,5-Dinitro Salicylic Acid Method (DNS Method) ทำได้โดยนำไฮโดรไลเสทที่ได้จากการปรับสภาพชีวมวล ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และสารละลาย DNS (Sigma-Aldrich, USA) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ปิดฝาหลอดทดลอง และผสมสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นจึงป้อนสารละลายในอ่างน้ำควบคุม

อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาจึงแช่หลอดทดลองลงในน้ำเย็นทันทีแล้วตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (Metertech, Taiwan) [17, 18] ชุดควบคุม (Blank) เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นแทนไฮโดรไลเสทจากการปรับสภาพ ชีวมวลแห้ง คำนวณค่ารีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพชีวมวลสามารถคำนวณได้จากการเปรียบเทียบค่าน้ำตาลรีดิวซ์จากกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (Glucose Standard Curve)

3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การศึกษาองค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสของชีวมวลแห้ง

ผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic Biomass) ของชีวมวลแห้ง *Lemna minor* L. ที่เก็บตัวอย่างในมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ที่เตรียมตัวอย่างชนิดแห้งสดและอบแห้งประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบกลุ่มลิกโนเซลลูโลสของชีวมวลแห้ง

ชีวมวล	องค์ประกอบลิกโนเซลลูโลส (ร้อยละ)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
แห้งสด	19.22 ± 0.65	62.70 ± 0.97	12.11 ± 0.14
แห้งอบแห้ง	29.18 ± 0.41	64.83 ± 0.54	5.75 ± 0.51

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสของแห้งสดและแห้งอบแห้งพบว่า เมื่อชีวมวลผ่าน



การอบแห้งโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส อาจมีผลให้ปริมาณของลิกนินลดลง เนื่องจากความร้อนที่ได้รับทำให้โครงสร้างของชั้นผนังเซลล์แทนถูกทำลาย มีผลให้ลิกนินทำปฏิกิริยากับตัวทำละลายมากขึ้น [19] จึงทำให้สัดส่วนของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในภาพรวมของแหวนอบแห้งสูงกว่าที่วิเคราะห์ได้ในชีวมวลแห้งสดซึ่งองค์ประกอบส่วนของเซลลูโลสและลิกโนเซลลูโลสเป็นวัตถุดิบที่สำคัญที่สามารถเปลี่ยนรูปให้เป็นน้ำตาลสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (Fermentable Sugar) ทั้งยังพบว่าปริมาณลิกนินที่พบในสัดส่วนที่น้อยมากทั้งในแห้งสดและแหวนอบแห้ง ยังเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งในการพิจารณาเลือกแหวน *Lemna minor* L. เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานชีวภาพ เช่น ก๊าซชีวภาพ (Biogas) และไบโอเอทานอล (Bioethanol) เป็นต้น [4, 20-21] นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาองค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสของแหวนด้วยวิธี Van Soest Method ซึ่งผลจากการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส ลิกโนเซลลูโลส และลิกนินของแหวน (ไม่ระบุชนิดพันธุ์) พบว่าสัดส่วนขององค์ประกอบทั้งสามชนิดที่วิเคราะห์ได้นั้นมีสัดส่วนของลิกนินในปริมาณต่ำที่สุดที่ร้อยละ 12.0 ในขณะที่องค์ประกอบที่มากที่สุดได้แก่ เซลลูโลส ที่ร้อยละ 55.2 ตามด้วยเฮมิเซลลูโลสที่พบว่ามีอยู่ประมาณร้อยละ 32.6 เมื่อนำตัวอย่างแหวนไปใช้เป็นวัตถุดิบร่วมกับมูลวัวในอัตราส่วน 90 : 10 พบว่าให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 305 มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าการใช้มูลวัวเพียงอย่างเดียวที่ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพสูงถึง 11,620 มิลลิลิตร [22] อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบชนิดอื่น เช่น มูลสัตว์ การผลิตพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพจากชีวมวลแหวนใช้เวลาหมักนานกว่า

ทั้งนี้เนื่องมาจากชีวมวลส่วนใหญ่จะมีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบจำเป็นต้องมีกระบวนการย่อยและเปลี่ยนเป็นแหล่งพลังงานสำหรับจุลินทรีย์ เช่น กลุ่มสร้างก๊าซมีเทน (Methanogenic Bacteria) [23] ซึ่งต่างจากมูลสัตว์ที่มีแหล่งของสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการสังเคราะห์ก๊าซมีเทน (Methanogenesis) ในสัดส่วนที่เพียงพอแล้ว [24] และเมื่อพิจารณาการนำชีวมวลแหวนไปใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไบโอเอทานอล พบว่ามีรายงานการใช้แหวนสายพันธุ์ *Landoltia punctata* เป็นซับสเตรตสำหรับการผลิตไบโอเอทานอล ซึ่งเป็นผลจากการศึกษาพบว่า แหวนเป็นพืชที่มีการสะสมแป้งในปริมาณสูงถึงร้อยละ 75 (ของน้ำหนักเซลล์) [25] และยังพบรายงานวิจัยที่พบว่าเมื่อมีการปรับสภาวะการเพาะเลี้ยงแหวนให้เจริญในสภาวะจำกัดสารอาหาร และให้แสงเป็นช่วงเวลานานขึ้น จะมีผลให้แหวนสายพันธุ์ *Spirodela polyrrhiza* สามารถสะสมแป้งได้เพิ่มขึ้นถึง 3 เท่า [26] ในขณะที่เดียวกันยังมีการศึกษาแนวทางการส่งเสริมให้แหวนสายพันธุ์ *S. polyrrhiza* มีการสะสมแป้งปริมาณสูงโดยการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนพืชชนิด Abscisic Acid ซึ่งมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ Soluble Starch Synthase (SSS) และ Starch Branching Enzyme (SBE) เป็นผลให้แหวนสามารถสะสมแป้งได้สูงถึงร้อยละ 35.3 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง [27]

จากการศึกษารายงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นนั้นพบว่าองค์ประกอบในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ซึ่งประกอบด้วย แป้ง เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส นับเป็นองค์ประกอบสำคัญที่สนับสนุนให้แหวนเป็นชีวมวลที่ได้รับความสนใจในการเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นและเป็นที่ต้องการใช้ในปัจจุบัน ทั้งยัง



พบว่าการที่เหนืมีความสามารถในการสะสมแป้งได้ในปริมาณสูงจัดได้ว่าเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานชีวภาพ ซึ่งนอกจากจะช่วยลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการปรับสภาพชีวมวล (Pretreatment) แล้ว ยังเป็นการเพิ่มทางเลือกในการทดแทนชีวมวลบางชนิดที่จำเป็นต้องใช้พื้นที่และระยะเวลาในการเพาะปลูกเพื่อให้ได้ชีวมวลปริมาณมากพอสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ [28-29] แต่อย่างไรก็ตามอุปสรรคเกี่ยวกับการผลิตสารในกลุ่มพลังงานชีวภาพจากชีวมวลชนิดนี้ยังคงเป็นประเด็นสำคัญที่ต้องการการพัฒนาต่อไป ตัวอย่างเช่น การพิจารณาเลือกใช้การปรับสภาพด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยการใช้เอนไซม์เพคตินเนส (Pectinase) ช่วยในการย่อยชีวมวล เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลรีดิวซ์ที่เพียงพอสำหรับกระบวนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ เป็นต้น [30]

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

การปรับสภาพชีวมวลแห้งทั้งชนิดแห้งสด และแห้งอบแห้งเป็นกระบวนการย่อยหรือการทำลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสและกำจัดลิกนิน เพื่อให้เกิดการย่อยเซลลูโลสให้ดีขึ้นและมีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งผลที่ได้คือน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลในกลุ่มน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) [31] ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้วิธีการปรับสภาพด้วยวิธีการทางเคมีควบคู่กับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยการใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2 นอร์มัล ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า ชีวมวลแห้งชนิดอบแห้งให้ปริมาณน้ำตาล

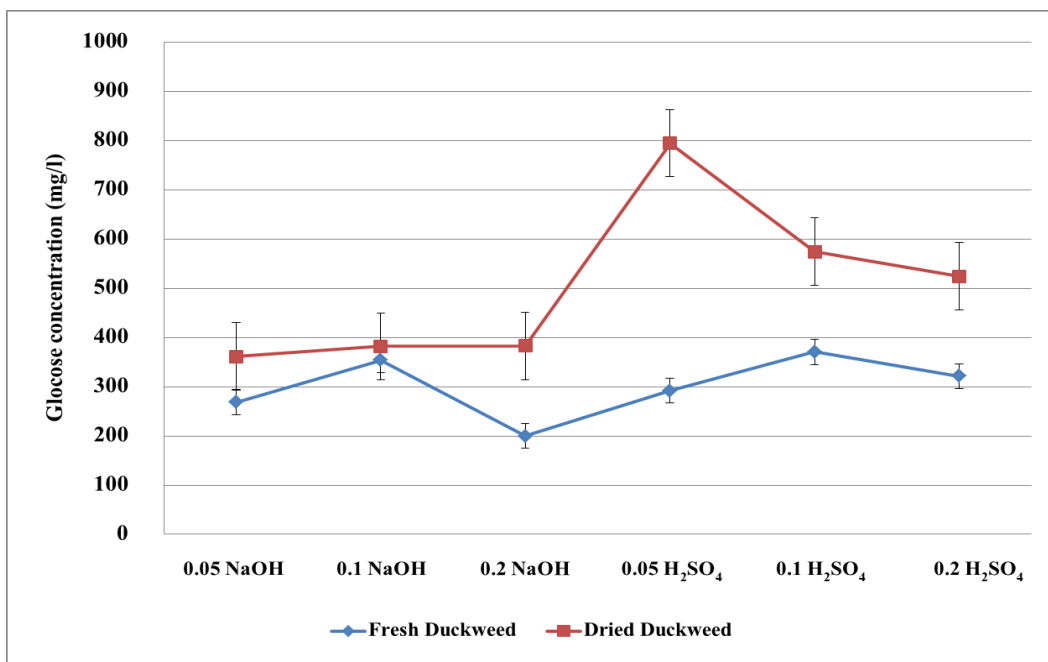
กลูโคสสูงกว่าแห้งสดทั้งในการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและต่างทุกความเข้มข้น เนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการปรับสภาพตัวอย่างมีผลทำลายโครงสร้างผนังเซลล์ และโครงสร้างที่ซับซ้อนของลิกโนเซลลูโลส ทำให้สารกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ ได้แก่ เซลลูโลส ลิกโนเซลลูโลส รวมทั้งแป้งที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สามารถทำปฏิกิริยากับตัวทำละลายและเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากกว่าการใช้ชีวมวลแห้งสด [32] นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกมีประสิทธิภาพในการปรับสภาพตัวอย่างและให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้สารละลายต่าง โดยเฉพาะการใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.05 นอร์มัล ในการปรับสภาพแห้งอบแห้งให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ 796.21 ± 0.91 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่การปรับสภาพตัวอย่างแห้งสดให้ค่าน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ 370.67 ± 1.16 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (รูปที่ 2) จากผลการทดลองพบว่าการใช้สารละลายกรดมีประสิทธิภาพในการปรับสภาพตัวอย่างชีวมวลกลุ่มลิกโนเซลลูโลสเนื่องจากกรดซัลฟิวริกมีคุณสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำลายพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic Linkages) ทำให้เกิดการสะสมผลิตภัณฑ์กลุ่มพอลิแซคคาไรด์และจะมีประสิทธิภาพดีขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยความร้อน [33] ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในตัวอย่างแห้ง นอกจากจะเกิดจากการย่อยโครงสร้างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสแล้วนั้น ยังพบว่าเป็นชีวมวลที่มีการสะสมพอลิแซคคาไรด์ปริมาณสูงซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการย่อยหรือการปรับสภาพ ทำให้อัตราน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิด ดังรายงานวิจัยของ



Zhao *et al.* [34] พบว่าองค์ประกอบในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตโดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลเดี่ยว (Mono Saccharides) ของแหนสายพันธุ์ *L. minor* มีสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 51.2 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง แสดงให้เห็นว่าแหนเป็นชีวมวลที่เหมาะสมในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กลุ่มพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพเป็นอย่างดี โดยจากการศึกษาพบว่าเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเซลล์แห้ง *L. minor* ที่ผ่านการทำแห้งสุญญากาศแบบแช่เยือกแข็ง ผลิตภัณฑ์น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่พบในปริมาณสูงสุด ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส (331 กรัมต่อกิโลกรัม) นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยที่ศึกษากระบวนการปรับสภาพชีวมวล

แหน *L. minor* ร่วมกับการใช้เอนไซม์ Cellulase และ β -Glucosidase เพื่อเตรียมสารตั้งต้นสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลจากยีสต์ ซึ่งพบว่าสามารถสังเคราะห์ไบโอเอทานอลได้สูงถึงร้อยละ 80 เมื่อมีความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เหมาะสม [34-35]

จากผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในตัวอย่างแหนที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการเพิ่มแนวทางการใช้วัตถุดิบชีวมวลทางเลือกสำหรับการผลิตพลังงานชีวภาพ โดยเฉพาะกลุ่มเชื้อเพลิงชีวภาพที่ต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ในการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์



รูปที่ 2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพตัวอย่างชีวมวลแห้งทั้งชนิดสดและอบแห้งด้วยการใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์ (Fresh Duckweed = ตัวอย่างชีวมวลแห้งสด และ Dried Duckweed = ตัวอย่างชีวมวลแห้งอบแห้ง)



4. สรุปผลการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาศักยภาพของ แหนซึ่งเป็นชีวมวลประเภทหนึ่ง เพื่อนำมาใช้เป็น วัตถุดิบสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง โดยเฉพาะ พลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพที่กำลังมีบทบาทสำคัญเป็น อย่างมากต่อสถานการณ์โลกในปัจจุบัน เนื่องจาก แหน เป็นพืชน้ำที่มีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็ว ใช้พื้นที่ น้อยในการเพาะเลี้ยง และจากการศึกษาในครั้งนี้ยัง พบว่า แหนมีสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีชนิด เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมากกว่าลิกนิน ซึ่งเป็น ปัจจัยสำคัญที่สนับสนุนให้การเปลี่ยนพอลิแซคคาไรด์ กลุ่มนี้ไปเป็นน้ำตาลสามารถทำได้ง่าย ไม่ต้องการ วิธีการที่ซับซ้อน ซึ่งผลจากการศึกษาปริมาณน้ำตาล ริดิวซ์ในชีวมวลแห้งทั้งชนิดสดและอบแห้ง พบว่า การใช้ชีวมวลแห้งชนิดอบแห้งเป็นวิธีการที่ช่วยให้ ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลริดิวซ์ปริมาณสูงกว่าการใช้ แหนสด แต่อย่างไรก็ตามในการพิจารณาใช้ แหนเป็นวัตถุดิบ สำหรับกระบวนการหมักยังคงจำเป็นต้องมีการปรับ สภาพของตัวอย่าง แหน และเมื่อมีการใช้สารเคมี ทั้งสารละลายกรดและสารละลายต่าง จำเป็นต้องมี ขั้นตอนในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เหมาะสม ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นปัจจัยสำคัญใน การเปลี่ยนวัตถุดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง โดยเฉพาะกลุ่มพลังงานชีวภาพ และยังพบว่า การ ชะล้างสารละลายกรดและสารละลายต่างที่ใช้ในการ ปรับสภาพอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นในการพิจารณาเลือกใช้ แหนเป็นชีวมวลตั้งต้น สำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ จำเป็นต้องม ีการศึกษาสายพันธุ์และสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ เหมาะสม เพื่อนำไปสู่การพัฒนาให้เป็นวัตถุดิบหลัก

ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ เป็นแนวทางสำคัญใน การลดค่าใช้จ่าย และสามารถแข่งขันกับการผลิต เชื้อเพลิงปิโตรเคมี จากผลการทดลองในครั้งนี้ นอกจากจะเป็นการศึกษาวัตถุดิบทางเลือกที่เหมาะสม มีต้นทุนการผลิตต่ำแล้ว ยังเป็นวิธีการที่ช่วยควบคุม อัตราการแพร่กระจายของวัชพืชน้ำได้อย่างมี ประสิทธิภาพอีกทางหนึ่งด้วย

5. เอกสารอ้างอิง

- [1] K. Nahar and S.A. Sunny, Duckweed-based Clean Energy Production Dynamics (Ethanol and Biogas) and Phyto-remediation Potential in Bangladesh, *Modeling Earth Systems and Environment*, 2020, 6, 1-11.
- [2] F. Martins, C. Felgueiras, M. Smitkova and N. Caetano, Analysis of Fossil Fuel Energy Consumption and Environmental Impacts in European Countries, *Energies*, 2019, 12(6), 964, 1-11., doi:10.3390/en12060964.
- [3] M.A. Perea-Moreno, E. Samerón-Manzano and A.-J. Perea-Moreno, Biomass as Renewable Energy: Worldwide Research Trends, *Sustainability*, 2019, 11(3), 863, 1-19., doi: 10.3390/su11030863
- [4] T. Fujita, E. Nakao, M. Takeuchi, A. Tanimura, *et al.*, Characterization of Starch-Accumulating Duckweeds, *Wolffia globosa*, as Renewable Carbon Source for Bioethanol Production, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2016, 6, 123–127.



- [5] R. Chandra, H. Takeuchi and T. Hasegawa, Methane Production from Lignocellulosic Agricultural Crop Wastes: A Review in Context to Second Generation of Biofuel Production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2012, 16(3), 1462-1476.
- [6] J. Akhtar and N.A.S. Amin, A Review on Process Conditions for Optimum Bio-oil Yield in Hydrothermal Liquefaction of Biomass, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2011, 15(3), 1615-1624.
- [7] J. Xu, H. Zhao, A.M. Stomp and J.J. Cheng, The Production of Duckweed as a Source of Biofuels, *Biofuels*, 2012, 3(5), 589-601.
- [8] J. Xu and G. Shen, Growing Duckweed in Swine Wastewater for Nutrient Recovery and Biomass Production, *Bioresource Technology*, 2011, 102(2), 848-853.
- [9] C. Yu, C. Sun, L. Yu, M. Zhu, H. Xu, J. Zhao, Y. Ma and G. Zhou, Comparative Analysis of Duckweed Cultivation With Sewage Water and SH Media for Production of Fuel Ethanol, *PLoS One*, 2014, 9(12), e115023, 1-15.
doi:10.1371/journal.pone.0115023.
- [10] Y. Xiao, Y. Fang, Y. Jin, G. Zhang, and H. Zhao, Culturing Duckweed in the Field for Starch Accumulation, *Industrial Crops and Products*, 2013, 48, 183-190.
- [11] R. Verma and S. Suthar, Bioenergy Potential of Duckweed (*Lemna gibba* L.) Biomass, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 2016, 38(15), 2231-2237.
- [12] E.I. Iatrou, E. Kora and A.S. Stasinakis, Investigation of Biomass Production, Crude Protein and Starch Content in Laboratory Wastewater Treatment Systems Planted with *Lemna minor* and *Lemna gibba*, *Environmental Technology*, 2019, 40(20), 2649-2656.
- [13] J.B. Binder and R.T. Raines, Simple Chemical Transformation of Lignocellulosic Biomass into Furans for Fuels and Chemicals, *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(5), 1979-1985.
- [14] F. Xu, Y.C. Shi and D. Wang, Enhanced Production of Glucose and Xylose with Partial Dissolution of Corn Stover in Ionic Liquid, 1-Ethyl-3-methylimidazolium Acetate, *Bioresource Technology*, 2012, 114, 720-724.
- [15] P. Serechodchawong and K. Sangkharak, The production of biodiesel and ethanol from pressed coconut, *Thaksin University Journal*, 2014, 17(3), 103-110. (in Thai)



- [16] B.T.N. Thi, L.H.V. Thanh, T.N.P. Lan, N.T.D. Thuy and Y.H. Ju, Comparison of Some Pretreatment Methods on Cellulose Recovery from Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipe*), *Journal of Clean Energy Technologies*, 2017, 5(4), 274-279.
- [17] A.V. Gusakov, E.G. Kondratyeva and A.P. Sinitsyn, Comparison of Two Methods for Assaying Reducing Sugars in the Determination of Carbohydrase Activities, *International Journal of Analytical Chemistry*, 2011, 283658, 1-4., doi:10.1155/2011/283658.
- [18] G.L. Miller, Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar, *Analytical Chemistry*, 1959, 31(3), 426-428.
- [19] L.R.F. Souto, I.F. da Silva, J.L. Ninow, S.R.A. Collins, A. Elliston and K.W. Waldron, Effect of Hydrothermal Pre-treatment on Duckweed (*Landoltia punctata*) Biomass for Simultaneous Saccharification and Fermentation Process, *Biomass and Bioenergy*, 2019, 127, 105259.
- [20] T.T.T. Cu, T.X. Nguyen, J.M. Triolo, L. Pedersen, V.D. Le, P.D. Le and S.G. Sommer, Biogas Production from Vietnamese Animal Manure, Plant Residues and Organic Waste: Influence of Biomass Composition on Methane Yield, *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2015, 28(2), 280-289.
- [21] R. Ramaraj and Y. Unpaprom, Effect of Temperature on the Performance of Biogas Production from Duckweed, *Chemistry Research Journal*, 2016, 1(1), 58-66.
- [22] D. Yadav, L. Barbora, D. Bora, S. Mitra, L. Rangan, and P. Mahanta, An Assessment of Duckweed as a Potential Lignocellulosic Feedstock for Biogas Production, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 119, 253-259.
- [23] V. Facchin, C. Cavinato, F. Fatone, P. Pavan, F. Cecchi and D. Bolzonella, Effect of Trace Element Supplementation on the Mesophilic Anaerobic Digestion of Food Wastes in Batch Trials: The Influence of Inoculum Origin, *Biochemical Engineering Journal*, 2013, 70, 71-77.
- [24] M. Seppälä, V. Pyykkönen, A. Väisänen and J. Rintala, Biomethane Production from Maize and Liquid Cow Manure - Effect of Share of Maize, Post methanation Potential and Digestate Characteristics, *Fuel*, 2013, 107, 209-216.
- [25] J.J. Cheng and A.M. Stomp, Growing Duckweed to Recover Nutrients from Wastewaters and for Production of Fuel Ethanol and Animal Feed, *CLEAN – Soil, Air, Water*, 2009, 37(1), 17 – 26.



- [26] W. Cui and J.J. Cheng, Growing Duckweed for Biofuel Production: A Review, *Plant Biology*, 2014, 17(1), 16-23.
- [27] X. Wang, W. Cui, W. Hu and C. Feng, Abscisic Acid-Induced Starch Accumulation in Bioenergy Crop Duckweed *Spirodela polyrrhiza*, *BioEnergy Research*, 2017, 10, 417-426.
- [28] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple and M. Ladisch, Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass, *Bioresource Technology*, 2005, 96(6), 673-686.
- [29] K. Sander and G.S. Murthy, Life Cycle Analysis of Algae Biodiesel, *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 2010, 15, 704-714.
- [30] Q. Chen, Y. Jin, G., Zhang, Y. Fang, Y. Xiao and H. Zhao, Improving Production of Bioethanol from Duckweed (*Landoltia punctata*) by Pectinase Pretreatment, *Energies*, 2012, 5(8), 3019-3032.
- [31] A.P. Dadi, S. Varanasi and C.A. Schall, Enhancement of Cellulose Saccharification Kinetics Using an Ionic Liquid Pretreatment Step, *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, 95(5), 904-910.
- [32] V.B. Barua and A.S. Kalamdhad, Effect of Various Types of Thermal Pretreatment Techniques on the Hydrolysis, Compositional Analysis and Characterization of Water Hyacinth, *Bioresource Technology*, 2017, 227, 147–154.
- [33] N.N. Deshavath, M. Mohan, V.D. Veeranki, V.V. Goud, S.R. Pinnamaneni and T. Benarjee, Dilute Acid Pretreatment of Sorghum Biomass to Maximize the Hemicellulose Hydrolysis with Minimized Levels of Fermentative Inhibitors for Bioethanol Production, *3 Biotech*, 2017, 7(2), 139, 1-12., doi: 10.1007/s13205-017-0752-3.
- [34] X. Zhao, G.K. Moates, N. Wellner, S.R.A. Collins, M.J. Coleman and K.W. Waldron, Chemical Characterisation and Analysis of the Cell Wall Polysaccharides of Duckweed (*Lemna minor*), *Carbohydrate Polymers*, 2014, 111, 410–418.
- [35] X. Zhao, G.K. Moates, A. Elliston, D.R. Wilson, M.J. Coleman and K.W. Waldron, Simultaneous Saccharification and Fermentation of Steam Exploded Duckweed: Improvement of the Ethanol Yield by Increasing Yeast Titre, *Bioresource Technology*, 2015, 194, 263–269.