รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

จุลินทรีย์เซลลูโลสิกเพื่อการย่อยสลายเซลลูโลส: การนำไปใช้ประโยชน์ทางเกษตร
Cellulosic Microorganism For Cellulose Degradation: To Agricultural Application

รศ. ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล
อ. ดร. ชมภูนุช วิรุณานนท์
ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

จุลินทรีย์เซลลูโลสิกเพื่อการย่อยสลายเซลลูโลส: การนำไปใช้ประโยชน์ทางเกษตร

Cellulosic Microorganism For Cellulose Degradation: To Agricultural Application

รศ. ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล
อ. ดร. ชมภูนุช วิรุณานนท์
ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2554 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ หน่วยบัญชาการทหารพัฒนา และ การไฟฟ้าฝ่ายผลิต ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ และขอขอบคุณภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เพื่อนำจุลินทรีย์เซลลูโลสิกเพื่อการย่อยสลายเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์ทางเกษตร โดยเป็นการใช้จุลินทรีย์ ชนิดยีสต์ทนร้อนเพื่อการผลิตเอทานอลจากฟางข้าว เนื่องจากยีสต์ทนร้อนสามารถเจริญและทำให้เกิดกระบวนการหมักได้ดีในประเทศเขตร้อน งานวิจัยได้นำยีสต์ที่ได้รับการคัดกรองมาแล้วในโครงการวิจัยก่อนหน้านี้ ยีสต์ทนร้อนสามารถใช้ไซโลสในการผลิตเอทานอลได้โดยใช้อาหาร Yeast-malt extract medium ที่อุณหภูมิ 35, 37, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่ามี 7 ไอโซเลท จาก 25 ไอโซเลท ที่สามารถใช้ไซโลสเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล ยีสต์ไอโซเลท SKN 2-1 สามารถผลิตเอทานอลได้ปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับไอโซเลทอื่น ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส การศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 ที่อุณหภูมิ 40 และ 45องศาเซลเซียส และใช้ฟางข้าวเป็นวัตถุดิบ ที่ประกอบไปด้วยเซลลูโลส 37.67 ± 0.31 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 33.36 ± 1.96 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 4.12 ± 0.36 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงที่สุดเท่ากับ 0.66 และ 0.87 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 7.67 และ 10.10 เปอร์เซ็นต์ของเอทานอลที่ผลิตได้เมื่อเทียบกับค่าทางทฤษฎี

คำสำคัญ: จุลินทรีย์เซลลูโลสิก ฟางข้าว เอทานอล

Abstract

The aim of this research is to use cellulosic microorganism in agricultural application. Ethanol production by thermotolerant yeasts have been extensively studied, because thermotolerant yeasts are capable of growth and fermentation during the summer months in non-tropical countries as well as under tropical climates. The result revealed that 7 from 25 isolate show to be thermotolerant xylose-utilizing yeasts for ethanol production from rice straw. Yeast-malt extract medium was used to isolate thermotolerant yeasts at 35, 37, 40, 45 and 50 °C. SKN 2-1 was showing producing highest yield of ethanol compared to other isolates. SKN 2-1 could grow and produce ethanol at 40 and 45 °C. The thermotolerant yeast isolate SKN 2-1 produced the highest concentration of ethanol 0.66 and 0.87 g L^{-1} which was equivalent 7.67 and 10.10 of the theoretical ethanol yield r at 40 and 45 °C using rice straw contained cellulose 37.67 ± 0.31%, hemicelluloses 33.36 ± 1.96% and lignin 4.12 ± 0.36% as substrate.

Keywords: cellulosic microorganism rice straw ethanol

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วิธีดำเนินการศึกษา	3
ผลการศึกษา	7
สรุปและวิจารณ์ผล	13
เอกสารอ้างอิง	14
ประวัตินักวิจัยและคณะ	15

เลขหมู่
เลขทะเบียน 015892
วัน, เดือน, ปี 15 พ.ค. 56

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	จำนวนยีสต์ทนร้อนที่สามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิต่างๆ	7
ตารางที่ 2	ปริมาณเอทานอลที่ยีสต์ทนร้อนผลิตได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	8

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ลักษณะฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางกายภาพ	3
ภาพที่ 2	ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช	5
ภาพที่ 3	ปริมาณเอทานอลที่ยีสต์ทนร้อนผลิตได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	8
ภาพที่ 4	ลักษณะของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1	9
ภาพที่ 5	ผลกระทบของอุณหภูมที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 ซึ่งทำการทดลองในอาหารไซโลส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	10
ภาพที่ 6	ผลกระทบของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1	11
ภาพที่ 7	ปริมาณปริมาณเอทานอลที่เวลาต่างๆ ของ *P. stipitis* และยีสต์ทนร้อนไอโซเลท 2-1	12

จุลินทรีย์เซลลูโลสิกเพื่อการย่อยสลายเซลลูโลส: การนำไปใช้ประโยชน์ทางเกษตร

Cellulosic Microorganism For Cellulose Degradation: To Agricultural Application

วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล และ ชมภูนุช วิรุณานนท์

Warawut Chulalaksananukul and Chompunuch Virunanond

ภาคพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัญหาสภาวะโลกร้อนและการลดลงอย่างต่อเนื่องของแหล่งน้ำมันดิบในปัจจุบันส่งผลให้ราคาน้ำมันดิบมีราคาสูงขึ้น ดังนั้นการหาแหล่งพลังงานใหม่หรือการผลิตเชื้อเพลิงขึ้นมาทดแทนจึงได้รับความสนใจมากขึ้น ทำให้พลังงานทางเลือกใหม่ๆ เช่น แก๊สโซฮอล์ ดีเซลชีวภาพถูกพัฒนาขึ้นอย่างกว้างขวางดังนั้นจึงมีการพัฒนาการผลิตไบโอเอทานอล ซึ่งใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตแก๊สโซฮอล์มากขึ้นตามลำดับด้วยเช่นกัน กระบวนการผลิตเอทานอลในปัจจุบันจะพิจารณาถึงความคุ้มค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์ ด้านสิ่งแวดล้อม และด้านพลังงาน ปัจจัยที่มีผลต่อราคาของกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลนั้น มาจากวัตถุดิบซึ่งมีผลประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ปัจจุบันมีการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลหรือแป้งที่ได้จากพืชหลายชนิด เช่น อ้อย ข้าวโพด และมันสำปะหลัง อย่างไรก็ตาม เอทานอลที่ผลิตได้ยังมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานจากแหล่งน้ำมันดิบ ดังนั้นจึงเลือกใช้ผลิตผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรมหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ซึ่งวัสดุเหล่านี้เรียกว่าวัตถุดิบประเภท ลิกโนเซลลูโลส เช่น ชานอ้อย เศษไม้ ซังข้าวโพด ฟางข้าว เป็นต้น

วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีอยู่อย่างเหลือเฟือ มีราคาต่ำ ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในอัตราส่วนที่ต่างกันไปตามชนิดของวัตถุดิบ เช่น ฟางข้าว ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต เอทานอล มีองค์ประกอบที่เป็นเซลลูโลส 39 เปอร์เซ็นต์เฮมิเซลลูโลส 27 เปอร์เซ็นต์และลิกนิน 12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลที่สามารถนำมาหมักด้วยจุลินทรีย์แล้วให้ผลผลิตเป็นเอทานอลได้ น้ำตาลที่ได้จากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสซึ่งมีคาร์บอน 6 และ 5 อะตอมตามลำดับ ซึ่งในวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสจะมีน้ำตาลกลูโคสประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์และมีน้ำตาลไซโลสประมาณ 17 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง แต่ด้วยธรรมชาติของยีสต์จะสามารถนำน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่กระบวนการหมักเพื่อได้ผลผลิตเป็นเอทานอลได้มากกว่าการใช้น้ำตาลไซโลส ดังนั้นการคัดเลือกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการใช้น้ำตาลไซโลสในการผลิตเอทานอลได้นั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญ

ในยีสต์ดีไซโลสจะถูกรีดิวซ์โดย D-xylose reductase ได้เป็นไซลิทอลและจะถูกออกซิไดซ์โดย xylitol dehydrogenase ได้เป็นดีไซลูโลสจากนั้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น glyceraldehyde-3-phosphate และ fructose-6-phosphate เข้าสู่กระบวนการหมักตามปกติ ยีสต์ที่สามารถนำน้ำตาลไซโลสเข้าสู่กระบวนการหมักที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายและสามารถหมักน้ำตาลไซโลสแล้วได้เอทานอลออกมาเป็นผลิตภัณฑ์อย่างเดียว คือสายพันธุ์ *Candida shehatea, Pachysolen tannophilus* และ *Pichia stipitis*

ขั้นตอนในการผลิตเอทานอลโดยทั่วไปจะประกอบด้วยการเตรียมวัตถุดิบการหมัก (fermentation) การกลั่น (distillation) และการกำจัดน้ำ (dehydration) ซึ่งในกรณีที่วัตถุดิบที่เป็นแป้งหรือวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส จะต้องมีขั้นตอนการย่อย (hydrolysis) เพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลก่อนการหมัก ซึ่งการย่อยวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลสามารถทำได้โดยใช้กรดหรือเอนไซม์ การใช้กรดนั้นมีข้อเสีย คือ ในการเกิดปฏิกิริยาต้องใช้อุณหภูมิสูงปฏิกิริยาเกิดขึ้นรุนแรงและเป็นการย่อยที่ไม่เฉพาะเจาะจงเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ ภาชนะที่ใช้ต้องทนทานต่อการกัดกร่อนของกรดได้ซึ่งมีราคาแพง และต้องมีการกำจัดน้ำทิ้งที่เหลือจากกระบวนการซึ่งมีกรดเจือปนอยู่ ดังนั้นการใช้เอนไซม์จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจ เพราะเอนไซม์มีความจำเพาะสูง ปฏิกิริยาเกิดที่สภาวะเป็นกลาง ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการเหมือนกับการใช้กรด ทำให้ค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียลดลง และกระบวนการผลิตเอทานอลที่นิยมในปัจจุบันคือ กระบวนการผลิตแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) โดยรวมขั้นตอนการย่อยครั้งสุดท้าย เพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาล พร้อมกับการหมักด้วยยีสต์ในขั้นตอนเดียวกัน แต่กระบวนการ SSF มีการใช้อุณหภูมิสูงซึ่งสามารถทำลายเซลล์ยีสต์ได้ เพราะฉะนั้นยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมักควรมีความสามารถในการทนต่ออุณหภูมิสูงจะทำให้ประสิทธิภาพในกระบวนการผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้นดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดเพื่อทำการคัดกรองยีสต์ทนร้อนที่มีความสามารถในการนำไซโลสเข้าสู่กระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้ฟางข้าวเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิต

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ทำได้โดยใช้เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส 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) ส่วนเฮมิเซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสซึ่งมีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักทำให้ได้เป็นน้ำตาลไซโลส ประกอบด้วยเอนไซม์ 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 สามารถผลิต

ได้จากเชื้อราที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Trichoderma* spp. (MacKenzie และคณะ, 1987) *T. reesei* สามารถผลิตได้ทั้งเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส (Juhász และคณะ, 2005) จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส เพราะทำให้ไม่ต้องใช้เชื้อหลายตัวในการผลิตเอนไซม์ การใช้เอนไซม์มีข้อดีหลายประการเพราะเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงสูง (Wyman, 1994)

วัตถุประสงค์

การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายเซลลูโลสฟางข้าวผลิตเอทานอล

วิธีดำเนินการวิจัย

การผลิตเอทานอลจากกระบวนการหมักด้วยยีสต์ทนร้อนที่คัดกรองได้โดยใช้ฟางข้าวเป็นวัตถุดิบ

1. ตัวอย่างฟางข้าวที่ใช้ในงานวิจัย

1.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างฟางข้าวจากจังหวัดสุรินทร์ นำตัวอย่างฟางข้าว ที่ได้มาล้างให้สะอาด และนำไปปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพต่อไป

1.2 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางกายภาพ

นำฟางข้าวไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นตัดให้มีขนาดเล็กลง บดด้วยเครื่องปั่นและเครื่องบดละเอียดตามลำดับ แล้วนำไปร่อนผ่านตะแกรงร่อนที่มีรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร จนได้เป็นผงออกมาซึ่งจะนำไปใช้ ในการทดลองต่อไป สำหรับส่วนที่อยู่บนตะแกรงร่อนจะนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของชีวมวลพืชลักษณะของฟางข้าวที่ผ่านการการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางกายภาพแล้ว

(ก) (ข)

ภาพที่ 1 ลักษณะฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางกายภาพ

(ก) ฟางข้าวที่นำไปใช้ในกระบวนการหมัก

(ข) ฟางข้าวนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของชีวมวลพืช

1.3 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางเคมี

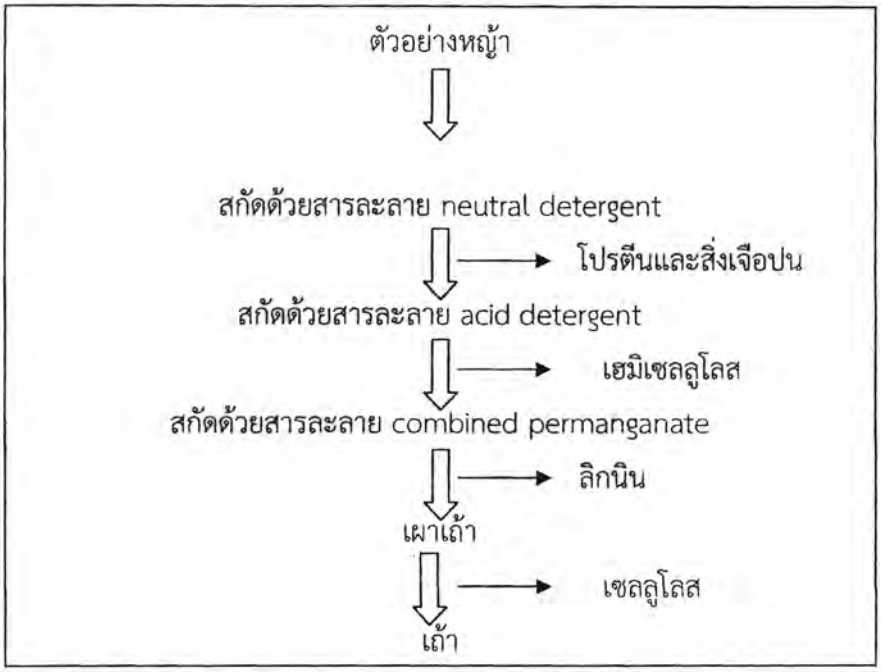
นำฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพได้เป็นผง มาปริมาณ 0.6 กรัม ใส่ลงไปในฟลาสก์ขนาด 200 มิลลิลิตร ทำการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้วิธี alkaline peroxide pretreatment โดยเติมอัลคาไลน์เพอร์ออกไซด์ pH 11.5 ลงไปในฟลาสก์การเตรียมเติมอัลคาไลน์เพอร์ออกไซด์สำหรับเติมใน 1 ฟลาสก์จะใช้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณ 4 มิลลิลิตร (15 เปอร์เซ็นต์โดยมวลของพืชที่ใช้/ปริมาตรของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์) แล้วปรับ pH ให้เป็น 11.5ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ จากนั้นนำไปบ่มในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วปรับ pH เป็น 5.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นก่อนนำไปย่อยสลายด้วยเอนไซม์ต่อไป

1.4 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์

เติมเซลลูเลสจำนวน 18 ยูนิต (คิดเป็น 30 ยูนิต/กรัมของวัตถุดิบ) ไซลาเนสจำนวน 10.8 ยูนิต (คิดเป็น 18 ยูนิต/กรัมของวัตถุดิบ) และสารละลายโซเดียมซิเทรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 4.8 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในฟลาสก์ที่มี หญ้าและฟลาสก์ที่เป็น ชุดควบคุมซึ่งผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีในข้อ 3.5.1.3 นำไปบ่มในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

1.5 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช

นำฟางข้าวที่บดและร่อนเอาส่วนละเอียดออกไปแล้วมาหาปริมาณองค์ประกอบของ ชีวมวลพืชตามวิธีของ Goering และ Van Soest (1970) วิเคราะห์หาค่าต่างๆ คือ ปริมาณ neutral detergent fiber (NDF) ปริมาณ acid detergent fiber (ADF) ปริมาณ permanganate lignin (PML) และปริมาณเถ้า เพื่อนำไปคำนวณหา ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของชีวมวลพืช โดยหญ้าแต่ละชนิดจะวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ ขั้นตอนการวิเคราะห์โดยย่อแสดงในภาพ



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช

2 การผลิตเอทานอล

2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก

จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัยมียีสต์ 2 ชนิด คือ

(ก) *P. stipitis* CBS 5773 ได้รับมาจาก Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) ประเทศเนเธอร์แลนด์

(ข) ยีสต์ทนร้อนที่ได้จากการคัดกรองในงานวิจัยนี้

2.2 การเก็บรักษาเชื้อ

ถ่ายเชื้อโดยใช้ลูปเขี่ยเชื้อมาลากลงบนอาหารแข็งเอียง (agar slant) สูตร YMA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยถ่ายเชื้อลงบนอาหารใหม่ (subculture) ทุก 3 เดือน

2.3 การศึกษาอายุของกล้าเชื้อที่เหมาะสมเพื่อให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล

2.3.1. การศึกษาการเจริญของเชื้อ *P. stipitis*

ถ่ายหัวเชื้อยีสต์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ลงในอาหารไซโลส บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเก็บตัวอย่างทุกๆหนึ่งชั่วโมง เพื่อวัดการเจริญเติบโต ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

2.3.2. การศึกษาการเจริญของยีสต์ทนร้อน

ถ่ายหัวเชื้อยีสต์ที่ได้ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ลงในอาหารไซโลส บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเก็บตัวอย่างทุกๆหนึ่งชั่วโมง เพื่อวัดการเจริญเติบโต

2.4 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางเคมีก่อนใช้ในกระบวนการ SSF

นำฟางข้าวที่บดเป็นผงแล้วมา 21 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตรทำการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางเคมีตามข้อ 3 ปรับ pH เป็น 5.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นก่อนนำไปใช้ในการหมักต่อไป

2.5 การเติมสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์

เทฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางเคมีลงในถังหมัก เติมสารอาหารลงไปโดยเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณ 6 กรัมสารสกัดจากมอลต์ปริมาณ 6 กรัมและแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 10 กรัม โดยละลายในสารละลายโซเดียมซิเทรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (คิดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,800 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ปิดฝาถังปฏิกรณ์ชีวภาพให้สนิท นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.6 การเตรียมเอนไซม์

ใช้เซลลูเลสและไซลาเนสทางการค้า คือ Sigma C2730 และFluca 95595 ตามลำดับ โดยเซลลูเลสมีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 82 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และไซลาแนสมีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 296.36 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งวิธีการหากิจกรรมของเอนไซม์ นำเอนไซม์แต่ละชนิดที่ได้มากรองผ่านชุดกรองสารเพื่อให้ปลอดเชื้อ โดยใช้เซลลูโลสอะซิเทตเมมเบรนที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมครอน เป็นตัวกรอง

2.7 การผลิตเอทานอลจากฟางข้าวด้วยกระบวนการ SSF

2.7.1 การเลี้ยงกล้าเชื้อ

เลี้ยงกล้าเชื้อ *P. stipites* และยีสต์ทนร้อน โดยเลี้ยงเชื้อตามอายุที่เหมาะสม จากนั้นถ่ายกล้าเชื้อชนิดละ 200 มิลลิลิตร (คิดเป็น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) ลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

2.7.2 **การเติมเอนไซม์**

เติมเซลลูเลสและไซลาเนสที่ผ่านการกรองแล้วปริมาณ 630 และ 378 ยูนิต ตามลำดับ ลงไปในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ จากนั้นนำถังปฏิกรณ์ชีวภาพไปต่อกับจอควบคุม โดยตั้งค่าใบพัดให้มี

ความเร็วรอบเท่ากับ 200 รอบต่อนาที ตั้งอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสสำหรับ *P. stipitis* และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสสำหรับยีสต์ทนร้อน เก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 8 วัน โดยถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

2.8 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการหมัก

ในกระบวนการหมัก ตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร จะถูกเก็บที่แต่ละช่วงเวลาของการหมักเพื่อนำมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณผลผลิตของเอทานอลที่เกิดขึ้นจากการหมักด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟี (GC-2010A Shimadzu, Japan) ด้วยคอลัมน์ DB-WAX (Agilent Technologies, USA) อุณหภูมิคอลัมน์ หัวฉีด (Injector) และตัวตรวจจับ (Detector) เท่ากับ 45, 250 และ 260 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สตัวนำ (carrier gas) ผลผลิตมวลรวมของผลิตภัณฑ์คำนวณออกมาเป็นกรัมต่อลิตร

ผลการศึกษา

1. การทดสอบความสามารถในการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อน

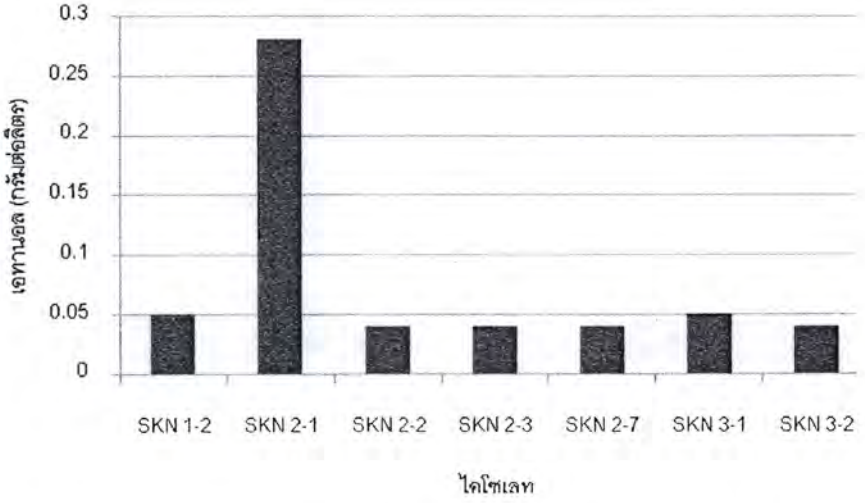
ยีสต์ทนร้อนที่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสขึ้นไปถูกเลือกมาทดสอบความสามารถในการผลิตเอทานอล โดยเลือกยีสต์ทนร้อนทั้งหมด 25 ไอโซเลท มาทดสอบในอาหารไซโลสซึ่งมีความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันเพื่อให้เกิดการหมักและผลิตเอทานอล พบว่าจากยีสต์ทนร้อนทั้งหมด 25 ไอโซเลท มีเพียง 7 ไอโซเลทสามารถใช้ไซโลสและผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ มี 3 ไอโซเลทที่สามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสและยีสต์ทั้งหมดไม่สามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยยีสต์ทนร้อนสามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 จำนวนยีสต์ทนร้อนที่สามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	จำนวนไอโซเลท	จำนวน	
		สามารถผลิตเอทานอล	ไม่สามารถผลิตเอทานอล
40	27	7	20
45	13	3	10
50	9	0	9

ตารางที่ 2 ปริมาณเอทานอลที่ยีสต์ทนร้อนผลิตได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ไอโซเลท	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลที่ใช้ไป (กรัมต่อลิตร)	กรัมของเอทานอลต่อกรัมของน้ำตาล	ethanol yield (เปอร์เซ็น)
SKN 1-2	0.05±0.01	1.26±0.00	18.74	0.003	0.58
SKN 2-1	0.28±0.00	1.20±0.01	18.80	0.015	2.94
SKN 2-2	0.04±0.01	1.20±0.01	18.80	0.004	0.20
SKN 2-3	0.04±0.00	1.14±0.00	18.86	0.002	0.10
SKN 2-7	0.04±0.01	1.15±0.01	18.85	0.002	0.39
SKN 3-1	0.05±0.00	1.28±0.01	18.72	0.003	0.59
SKN 3-2	0.04±0.00	1.22±0.02	18.78	0.002	0.39



ภาพที่ 3 ปริมาณเอทานอลที่ยีสต์ทนร้อนผลิตได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

จากปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากการหมักของทั้ง 7 ไอโซเลทเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างปริมาณเอทานอลเป็นเปอร์เซ็นต์พบว่าไอโซเลท SKN 2-1 สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุดจากแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลไซโลส 20 กรัมต่อลิตร ลักษณะของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1

(ก) (ข)

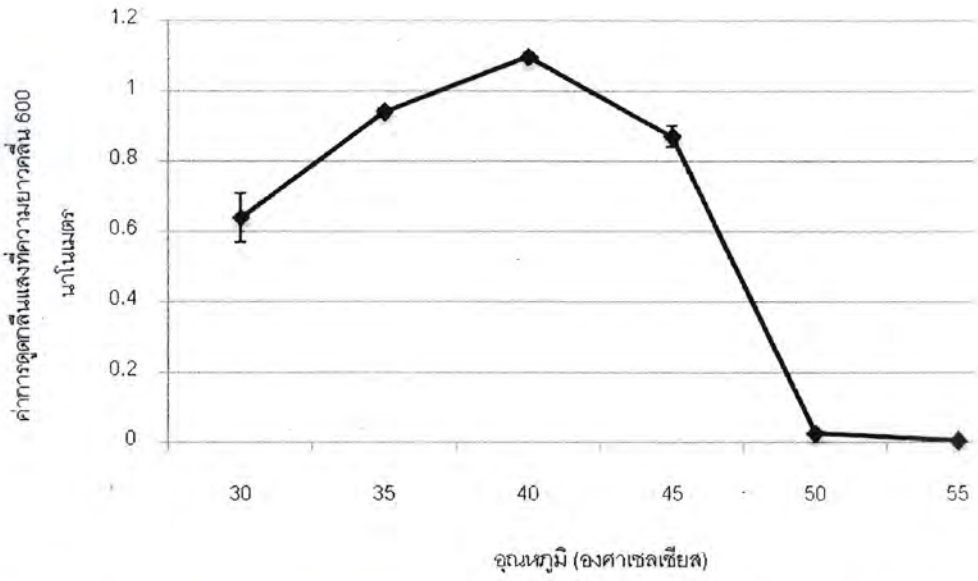
ภาพที่ 4. ลักษณะของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1

(ก) บนผิวหน้าอาหารแข็ง YM

(ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

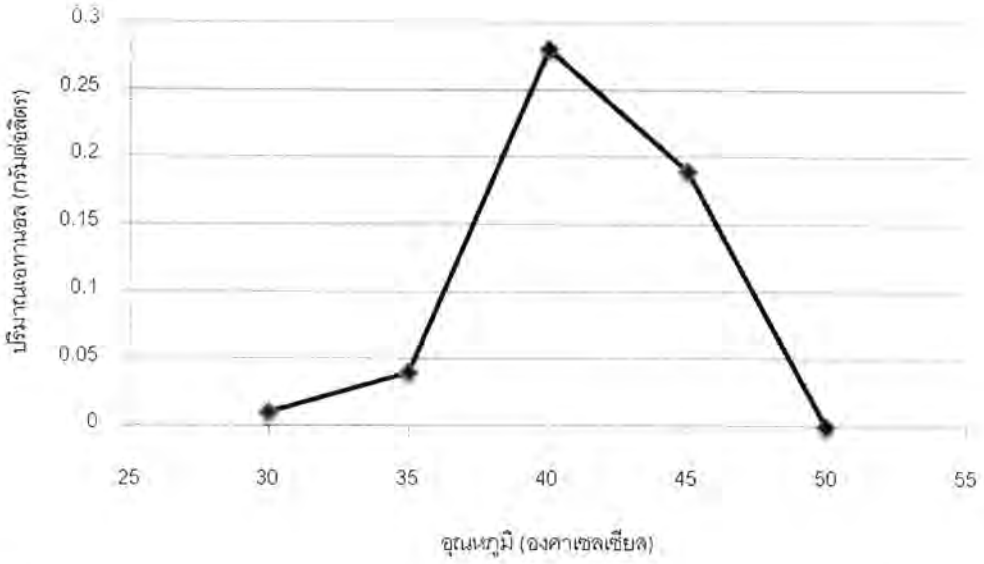
2. การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อน

การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์ทนร้อนสายพันธุ์ SKN 2-1 ทำการทดลองในช่วง อุณหภูมิระหว่าง 35 – 55 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่ยีสต์ทนร้อนมีการเจริญเติบโตมากที่สุด คือ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสโดยดูจากค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และการเจริญเติบโตของยีสต์ทนร้อน จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนที่อุณหภูมิ 4 0 องศาเซลเซียส เนื่องจากปัจจุบันการใช้ยีสต์ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลจะใช้อุณหภูมิประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์ จึงทำให้ผลผลิตของเอทานอล ที่ได้มีปริมาณน้อย และการใช้ยีสต์ทนร้อนในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลนั้นจะส่งผลถึงต้นทุนการผลิตเนื่องจากกระบวนการผลิตเอทานอลในปัจจุบันจำเป็นต้องใช้กระบวนการหล่อเย็นเพื่อให้ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ ซึ่งค่าใช้จ่ายในกระบวนการหล่อเย็นมีต้นทุนสูง ดังนั้นการใช้ยีสต์ทนร้อนในกระบวนการผลิตสามารถลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการหล่อเย็นและกระบวนการกลั่นได้



ภาพที่ 5 ผลกระทบของอุณหภูมที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 ซึ่งทำการทดลองในอาหารไซโลส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 โดยทดสอบความสามารถในการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 30, 35, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่า ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท 2-1 สามารถผลิตเอทานอลได้ปริมาณสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและสามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 50 องศาเซลเซียส ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท 2-1 ไม่สามารถผลิตเอทานอลได้



ภาพที่ 6 ผลกระทบของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1

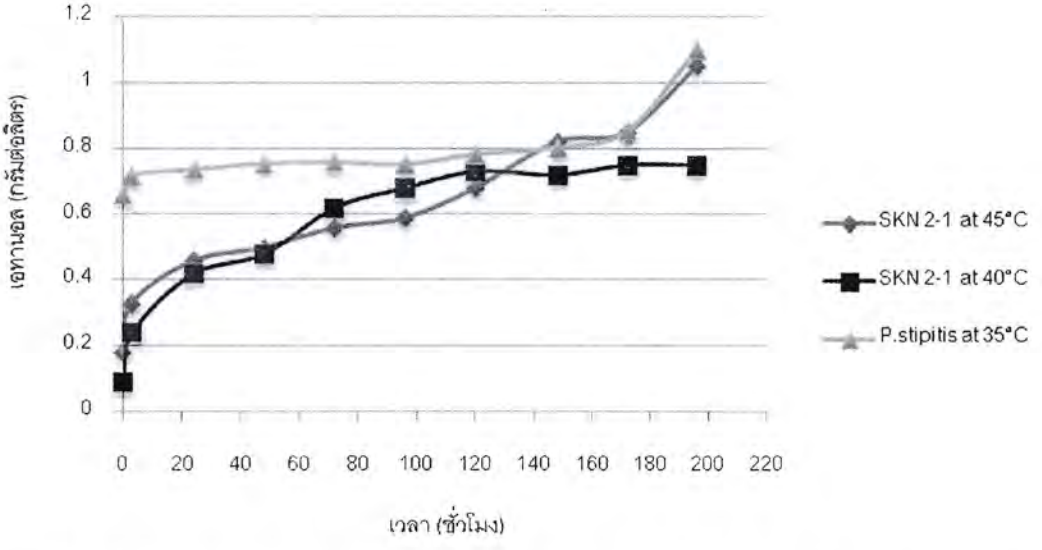
การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการเจริญและการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท 2-1 พบว่ายีสต์ทนร้อนไอโซเลท 2-1 สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้ที่อุณภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการผลิตเอทานอลในภูมิอากาศของประเทศในเขตร้อน โดยส่วนใหญ่การผลิตเอทานอลใช้ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ในกระบวนการผลิต โดยยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* เป็นยีสต์ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆได้ดี แต่เป็นสายพันธุ์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ถึงแม้ว่าบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40-42 องศาเซลเซียส แต่การหมักเอทานอลเกิดได้ดีที่อุณหภูมิเพียง 33-35 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่ดีพอสำหรับการหมักเอทานอลในประเทศไทยที่อุณหภูมิสูงตลอดปี โดยความร้อนที่สูงนั้นนอกจากจะมาจากอุณหภูมิของสภาพอากาศร้อนแล้วในการหมักเอทานอลเมื่อมีอัตราการหมักสูงจะมีความร้อนเกิดขึ้นในอัตราที่สูงด้วย การผลิตเอทานอลด้วยยีสต์สายพันธุ์ทั่วไปซึ่งมักเป็นยีสต์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความสามารถในการผลิตเอทานอลจะลดลง ดังนั้นการใช้ยีสต์ที่สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิสูงจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงขึ้น และประโยชน์ของการใช้ยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูงสำหรับการผลิตเอทานอลในอุตสาหกรรม คือ ลดการใช้ระบบหล่อเย็น ซึ่งทำให้ค่าใช้จ่ายในส่วนนี้ลดลงเป็นผลให้ต้นทุนการผลิตโดยรวมลดลงด้วย นอกจากนั้นการหมักในที่อุณหภูมิสูงยีสต์จะมีอัตราการหมักสูง ทำให้สามารถผลิตเอทานอลได้เร็ว ยิ่งไปกว่านั้นยังช่วยลดปัญหาการปะปนของจุลินทรีย์อื่นในระหว่างการผลิตเอทานอล

เมื่อนำฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยอัลคาไลน์เพอร์ออกไซด์แล้วหมักด้วยกระบวนการ SSF โดยใช้ยีสต์ 2 ชนิดคือ *P. stipitis* และยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 โดยเลี้ยงกล้าเชื้อที่ระยะเวลาที่เหมาะสมดังกล่าวเติมเอนไซม์ 2 ชนิดที่ผลิตจาก *T. reesei* TISTR 3081 คือเซลลูเลสและไซลาเนสลงไปแล้วหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสสำหรับ *P.stipitis* และอุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส สำหรับ

ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 เป็นเวลา 7 วันจะได้ปริมาณเอทานอลแสดงดังตารางที่ 3 ปริมาณการเกิดเอทานอลที่เวลาต่างของ *P. stipitis* และ ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1

ตารางที่ 3 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	SKN 2-1			*P. stipitis*		
	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	กรัมเอทานอลต่อกรัมวัตถุดิบ	Ethanol yield (เปอร์เซ็น)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	กรัมเอทานอลต่อกรัมวัตถุดิบ	Ethanol yield (เปอร์เซ็น)
35	-	-	-	0.44	0.021	5.11
40	0.66	0.031	7.67	-	-	-
45	0.87	0.041	10.10	-	-	-



ภาพที่ 7 ปริมาณปริมาณเอทานอลที่เวลาต่างๆ ของ *P. stipitis* และยีสต์ทนร้อนไอโซเลท 2-1

การผลิตเอทานอลจากฟางข้าวที่มีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจำเป็นต้องมีการย่อยสลายองค์ประกอบดังกล่าวเพื่อให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและไซโลสซึ่งเป็นน้ำตาลที่จะได้จากการย่อยสลายเป็นส่วนใหญ่ เพื่อที่จะนำน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้มาหมักเป็นเอทานอลและใช้ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 หมักที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส และใช้ *P. stipitis* หมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าปริมาณเอทานอลสูงที่สุดที่ผลิตได้โดยยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 เท่ากับ 0.66 และ 0.87 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส คิดเป็น 7.67 และ 10.10 เปอร์เซ็นต์เอ

ทานอลเมื่อเทียบกับการคำนวณทางทฤษฎี และปริมาณเอทานอลสูงที่สุดที่ผลิตได้โดย *P. stipitis* เท่ากับ 0.44 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 5.11 เปอร์เซ็นต์เอทานอลเมื่อเทียบกับการคำนวณทางทฤษฎี เมื่อนำปริมาณเอทานอลที่ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท 2-1 สามารถผลิตได้มาเปรียบเทียบกับปริมาณเอทานอลที่ *P.stipitis* พบว่า ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 สามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่า *P. stipitis* คิดเป็น 50.59 เปอร์เซ็นต์

สรุปและวิจารณ์ผล

การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการเจริญและการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 ที่อุณหภูมิ 35, 37, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่ายีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 เจริญและผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส

การทดสอบความสามารถในการผลิตเอทานอลของยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้ฟางข้าวที่มีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลส 37.67 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 33.63 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน 4.12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมีด้วย alkaline peroxide และย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสแล้ว พบว่า ยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SKN 2-1 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดปริมาณ 0.66 และ 0.87 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 7.67 และ 10.10 เปอร์เซ็นต์ของเอทานอลที่ผลิตได้เมื่อเทียบกับค่าทางทฤษฎี ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาแหล่งคัดกรองใหม่ๆที่มีความหลากหลายเพิ่มขึ้นเพื่อค้นหาเชื้อใหม่ๆที่สามารถและผลิตเอทานอลได้ปริมาณสูงๆ

2. ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเพื่อให้เชื้อที่คัดกรองได้ผลิตเอทานอลได้เต็มประสิทธิภาพ

3. ควรศึกษาแหล่งที่จะนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นที่เหมาะสมเพื่อให้การผลิตเกิดประสิทธิภาพสูงสุด

เอกสารอ้างอิง

1. Guimarães, L. H. S., et al. 2006. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. Brazilian Journal of Microbiology 37: 474-480.
2. MacKenzie, C. R., Bilous, D., Schneider, H., and Johnson, K. G. 1987. Induction of cellulolytic and xylanolytic enzyme systems in Streptomyces spp. Applied and Environmental Microbiology 53: 2835-2839.
3. Panagiotou, G., Kekos, D., Macris, B. J., and Christakopoulos, P. 2003. Production of cellulolytic and xylanolytic enzymes by Fusarium oxysporum grown on corn stover in solid state fermentation. Industrial Crops and Products 18: 37-45.
4. Ryu, D. D. Y., and Mandels, M. 1980. Cellulases: biosynthesis and applications. Enzyme and Microbial Technology 2: 91-102.
5. Wyman, C. E. 1994. Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. Bioresource Technology 50: 3-15.
6. WHO. 1995. Control of foodborne trematode infections. *WHO Technical Report Series 849, Geneva, World Health Organization*.
7. Wiwanitkit, V. 2005. The correlation between rainfall and the prevalence of trematode metacercaria in freshwater fish in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*. 36 (Suppl 4): 120-123.

ประวัติคณะวิจัย

1. นักวิจัยที่ปรึกษา (ชื่อ-สกุล ภาษาไทย) นาย วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล

(ชื่อ-สกุล ภาษาอังกฤษ) Mr. Warawut Chulalaksananukul

เพศ ชาย อายุ 53 ปี

สถานะภาพสมรส ☐ โสด ■ สมรส

2. การทำงาน

ตำแหน่งปัจจุบัน (อาจารย์, ผศ., รศ., ศ.) รองศาสตราจารย์ ดร.

สถานที่ทำงาน ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จังหวัด กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10330

โทรศัพท์ 02-218-5482 โทรสาร 02-218-5482

e-mail warawut.c@chula.ac.th

3. ที่อยู่ (ที่บ้าน) 248/10 หมู่บ้านชวนชื่นพาร์ควิลล์ ซอย6/1 แขวงศาลาธรรมสพน์ เขตทวีวัฒนา

จังหวัด กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10170

โทรศัพท์ 02-885-0903 โทรสาร 02-218-5482

e-mail warawut.c@chula.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

4.1 ปริญญาตรีสาขา พันธุศาสตร์ สถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่จบ 2523

4.2 ปริญญาโทสาขา พฤกษศาสตร์ สถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่จบ 2527

4.3 ปริญญาเอกสาขา Ph.D. (Microbiology-Biotechnology) สถาบัน INSA, Toulouse
ปีที่จบ 2537

4.4 อื่น ๆ (ระบุ) D.E.A. (Microbiology) INSA, Toulouse, France, พ.ศ. 2533 (1990)

5. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ (ตอบได้มากกว่า 1) Biofuels, Biocatalysts, Biotechnology

6. ผลงานวิจัย (ปี 2005-ปัจจุบัน)

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ (โปรดระบุทั้งชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปีที่ตีพิมพ์ ฉบับที่ เล่มที่ เลขหน้า และค่า impact factor)

1. Suwannarangsee, S., Moulis, C., Potocki-Veronese, G., Monsan, P., Remaud-Simeon, M., and **Chulalaksananukul, W.** 2007. Search for dextransucrase minimal motif involved in dextran binding. *FEBS letter* 581: 4675-4680. **Impact factor 3.842.**

2.Chokchaichamnankit, P., Anamthawat-Jonsson, K., **Chulalaksananukul, W.** 2007. Chromosomal mapping of 18S-25S and 5S ribosomal genes on 15 species of Fagaceae from northern Thailand. *Silvae Genetica* (J. D. Sauerländer's Verlag) 57: 5-13. **Impact factor 0.372**

3. Chokchaichamnankit, P., **Chulalaksananukul, W.**, Phengklai, C., Anamthawat-Jónsson, K. 2007. Karyotypes of some species *of Castanopsis*, *Lithocarpus* and *Quercus* (Fagaceae) from Khun Mae Kuong Forest in Chiang Mai province, northern Thailand. *Thai Forest Bulletin* (Botany) 35: 38-44. **Impact factor 0.049**.

4. Chokchaichamnankit, P., **Chulalaksananukul, W.,** Phengklai, C., Anamthawat- Jónsson, K. 2008. Species and genetic diversity of Fagaceae in Chiang Mai, northern Thailand, based on ISSR markers. *Journal of Tropical Forest Science* (Forest Research Institute Malaysia) 20: 8-18. **Impact factor 0.160.**

5. Virunanon, C., Chantaroopamai, S., and **Chulalaksananukul, W.** 2007. Solventogenic-cellulolytic Clostridia from 4-step-screening process in Agricultural Waste and Cow Intestinal Tract. *Anaerobes* . Nov 7. **Impact factor 1.561**.

6. Siripiyasing P, **Chulalaksananukul, W;** Pariyanonth P, et al: (2008) The Identification of the Sex Chromosome and Karyotype of Four Toad Species (Genus Bufo) in Thailand by T-lymphocyte Cell Culture. CYTOLOGIA. Volume: 73 Issue: 3 : 229-241. **Impact factor 0.12**.

7. Winayanuwattikun, P., Kaewpiboon, C., Piriyakananon, K., Tantong, S., Thakernkarnkit, W., **Chulalaksananukul, W.**, Yongvanich, T. 2008. Potential plant oil feedstock for lipase-catalyzed biodiesel production in Thailand. *Biomass and Bioenergy* 32 (12), pp. 1279-1286. **Impact factor 2.54.**

8. Rattanapoltee, P., **Chulalaksananukul**, W., James, AE., Kaewkannatre,P. (2008) Comparison of Autotrophic and Heterotrophic cultivations of microalgae as a raw material for biodiesel production, Journal of Biotechnology, 136:S412. **(Impact factor 2.565).**

9. Kensingh, P., **Chulalaksananukul**, W., Charuchinda, S. 2010 Lipase immobilization on *Scirpus grossus L.f.* fiber support by glutaraldehyde-crosslinked technique for biodiesel synthesis. JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY. Volume: **150.** Supplement: **1. S163-S163** . **Impact factor 2.97.**

10. Suwannarangsee, S., Oh, D.-B., Seo, J.-W., Kim, C.H., Rhee, S.K., Kang,H.A., **Chulalaksananukul, W.**, Kwon, O. 2010. Characterization of alcohol dehydrogenase 1 of the thermotolerant methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 88 (2), pp. 497-507. **Impact factor 3.26.**

11.Winayanuwattikun, P., Kaewpiboon, C., Piriyakananon, K., **Chulalaksananukul, W.**, Yongvanich, T., Svasti, J. 2011. Immobilized lipase from potential lipolytic microbes for catalyzing biodiesel production using palm oil as feedstock. *African Journal of Biotechnology* 10 (9), pp. 1666-1673. **Impact factor 0.56.**

12.Theerachat, M., Virunanon, C., Chulalaksananukul, S., Sinbuathong, N., **Chulalaksananukul, W.** 2011. NirK and nirS Nitrite reductase genes from non-agricultural forest soil bacteria in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27 (4), pp. 999-1003. **Impact factor 1.08.**

13. Piamtongkam, R., Duquesne, S., Barbe, S, André, I., Marty, A and **Chulalaksananukul, W.** 2011. Enantioselectivity of *Candida rugosa* lipases (Lip1, Lip3 and Lip4) towards 2-bromo phenylacetic acid octyl esters controlled by a single amino acid. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol 108, no 8, 1749-1756. **Impact factor 3.7.**

14. Ouephanit, C., Virunanon, C., Burapatana, V., and **Chulalaksananukul, W.** 2011 Butanol and ethanol production from tapioca starch wastewater by Clostridium spp. Water Science and Technology. 64.9 1774-1780. **Impact factor 1.056.**

15. Theerachat, M, Morel, S., Guieysse, D., Remaud-Simeon, M., and **Chulalaksananukul, W.** 2012 Comparison of synthetic dye decolorization by whole cells and a laccase enriched extract from *Trametes versicolor* DSM11269. *African Journal of Biotechnology* 10 (9), Vol. 11(8), pp. 1964-1969, **Impact factor 0.56**.

7. ผลงานวิชาการอื่นๆ (เช่น Proceeding ตำรา ฯลฯ)

Poster and Oral Presentation (2005-2008)

Chulalaksananukul, W., Virunanon, P. and Soucaille, C. 2005. Screening of Cellulolytic and solvent producing Clostridium from natural resources in Thailand 14th European Biomass Conference&Exhibition Biomass for Energy Industry and Climate protection. 17-21 October 2005. Paris, France. p 1740-1741.

Virunanon, C., Soucaille, P., Chulalaksananukul, W. 2005. *In silico* and *In vitro* Cel48A engineer in *Clostridium acetobutylicum* ATCC824. 10th Biological Science Graduate Congress, National University of Singapore, November 30 – December 2.

Chokchaichamnankit, P., Chulalaksananukul, W., and Anamthawat-Jónsson K., Molecular and cytogenetic analysis of Fagaceae from northern Thailand. 8th International Congress of Plant Molecular Biology (ISPMB), Adelaide, Australia, August 20-25, 2006.

Virunanon, C., Chulalaksananukul, W., Soucaille, P. 2006. *In silico* and *In vitro* Cel48A engineer in *Clostridium acetobutylicum*ATCC824. Clostridium IX, Rice University, Houston, USA, May18-21.

Virunanon, C., Croux, C., Sabathe, F., Lopez, F., Girbal, L., Soucaille, P. and Chulalaksananukul, W. 2007. Two major cellulases of the *Clostridium acetobutylicum* cellulosome are active on crystalline cellulose. 12th Biological Sciences Graduate Congress 17-19 December 2007. University of Malaya. Malaysia. p. 75: Oral presentation

Piamtongkam, R. and Chulalaksananukul, W. 2007. Biodiesel production from triolein and methanol catalyzed by immobilized lipases. 12th Biological Sciences Graduate Congress 17-19 December 2007. University of Malaya. Malaysia. p. 92: Oral presentation

Suwannarangsee, S., Moulis, C., Remaud-Simeon, M., and Chulalaksananukul, W. 2007. Engineering of new affinity tag for protein purification onto dextran supports (Sephacryl® S300HR). 12th Biological Sciences Graduate Congress 17-19

December 2007. University of Malaya. Malaysia. p. 113: Oral presentation (first prize oral presentation)

Poolsup, S. and Chulalaksananukul, W. 2008. Comparation of ethanol production from five weed species in Thailand by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis stipitis*, The 16th Annual Academic Meeting of the Faculty of Science. March 13-14, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Thailand, 7.

Wongwatanapaiboon, J. and Chulalaksananukul, W. 2008. Cellulosic ethanol production from grasses in Thailand by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*, The 16th Annual Academic Meeting of the Faculty of Science. March 13-14, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Thailand, 6.

Wongwatanapaiboon, J., Kangvansaichol, K., Burapatana, V. and Chulalaksananukul, W. 2008. Analysis of grasses in Thailand for bioethanol production, 4th Naresuan Research Conference. July 28-29, Phitsanulok, Thailand, 261.

P.Rattanapoltee, W.Chulalaksananukul, S.Jinsiriwanit, P.Kaewkannetra (2008) Heterotropic growth of hlorella vulgaris TISTR 8580 for increasing of storage microalgal oil. In The 2nd International Conference on Science and Technology for Sustainable Development of the Greater Mekong Sub-region (STGMS), 2-3 October 2008, Hanoi Agricultural University, Gialam, Hanoi, Vietnam.

P.Rattanapoltee, W.Chulalaksananukul, A.E. James, P.Kaewkannatre (2008) Comparison of Autotrophic and Heterotrophic cultivations of microalgae as a raw material for biodiesel production, In The 13th International Biotechnology Symposium (IBS 2008) on Biotechnology for the Sustainability of Human Society, 12-17 October 2008, Dalian, China.

Chulalaksananukul, W., Virunanon, C., Soucaille, P. 2005. Screening of Cellulolytic and Solvent Producing Clostridia from Natural Resources in Thailand. Biomass Conference Program and Abstract. Paris, France

Marie Demuez, Olivier Guerrini Sophie Mondeil, Chompunuch Virunanon, Florence Saint-Prix, Christian Croux, Philippe Soucaille et Laurence Girbal. *Clostridium acetobutylicum* : une usine à biohydrogène. Posters Résumés – MicrobioToul 2006 – 11 Avril.

Virunanon, C. Croux, C., Soucaille, P., Chulalaksananukul, W. 2007. Optimization of 2, 2-Bicinchoninic acid methods for reducing-sugar detection in anaerobic cellulase activity assay. International Conference on New Horizons in Biotechnology (NHBT-2007), NIST, Trivandrum, India, November 26-29.

Chompunuch Virunanon, Christian Croux, Philippe Soucaille, and Warawut Chulalaksananukul. 2008. Gene-disruption process for cellulosome modification in *C. acetobutylicum* ATCC824. Biotechnology of Lignocellulose Degradation, Biomass Utilization and Biorefinery, Shima Spain Mura, Shima-Isobe, Japan, September 1-5.

Chompunuch Virunanon, Chanika Ouephanit, Vorakan Burapatana, and Warawut Chulalaksananukul. 2009. Biobutanol production from pineapple waste in Thailand. Abstarct in JSPS-NRCT Summer School: Biomass Energy in Asia, Bangkok, Thailand, February 21-23.

8. รางวัลที่เคยได้รับ (ด้านวิชาการโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับงานวิจัย)

ปี 2527 กุญแจทองผลการเรียนสูงสุดระดับปริญญาโทในสาขาพฤกษศาสตร์จากมูลนิธิแถบ นีละนิธิ

ปี 2537 ผลการสอบวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอกเกียรตินิยมอันดับหนึ่ง (ประเทศฝรั่งเศส)

ปี 2544 นักวิจัยเงินรางวัลกองทุนศาสตราจารย์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปี 2551 รางวัลชนะเลิศอันดับ1 การแข่งขันเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ (The Science Forum 2008) ครั้งที่

16 ประจำปี 2551 ประเภทบรรยาย Symposium: PTT Research Session ระหว่างวันที่ 13-14 มีนาคม 2551 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปี 2552 รางวัลชนะเลิศอันดับ1 การแข่งขันเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ (The Science Forum 2008) ครั้งที่

17 ประจำปี 2552 ประเภทบรรยาย Symposium: PTT Research Session ระหว่างวันที่ 13-14 มีนาคม 2552 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติบุคคล

2. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) ชมภูนุช วิรุณานนท์
(ภาษาอังกฤษ) Chompunuch Virunanon

เพศหญิง วันเดือนปีเกิด 12 กันยายน 2523

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ดร.

สถานที่ติดต่อ (ที่ทำงาน) ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์/โทรสาร 02-218-5482

E-mail – address knutz2@hotmail.com

ที่อยู่ (ที่บ้าน) 295/51 ม. 9 ต. บางกระสอ อ. เมือง จ. นนทบุรี 11000

โทรศัพท์/โทรสาร 02-580-3396

เงินเดือนปัจจุบัน 21,440 บาท

ประวัติการศึกษา (ปริญญาตรี – เอก; สาขา และสถาบัน)

ปริญญา	วันเดือนปีที่จบ	มหาวิทยาลัย	สาขาวิชา
ปริญญาตรี*	2545	จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	พันธุศาสตร์
ปริญญาโท	-	-	-
ปริญญาเอก	2551	จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	วิทยาศาสตรชีวภาพ

*เกียรตินิยมอันดับ 2

ผลงานวิจัย

ก. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติและนานาชาติ

Virunanon, C., Chantaroopamai, S., Dendoungbaripant, J., and Chulalaksananukul, W. 2008. Solventogenic-cellulolytic Clostridia from 4-step-screening process in Agricultural Waste and Cow Intestinal Tract. Anaerobe.14: 109-117.

Chompunuch Virunanon, Christian Croux, Philippe Soucaille, and Warawut Chulalaksananukul. 2008. Gene-disruption process for cellulosome modification in *C. acetobutylicum* ATCC824. MIE Bioforum 2008 proceeding.

Chompunuch Virunanon, Christian Croux, Philippe Soucaille, and Warawut Chulalaksananukul. 2008. Improved *C. acetobutylicum* Family48 Cellulase Activity by Chimera Protein Expressed in *E. coli*. MIE Bioforum 2008 proceeding.

ชมภูนุช วิรุณานนท์ และ วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2009. เซลลูโลโซม: กุญแจสำคัญสู่การผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว.* ปีที่ 25 ฉบับที่ 2.

Monnat Theerachat, **Chompunuch Virunanon,** Jittra Piapukiew, Suphang Chulalaksananukul, Nussara Sinbuathong, and Warawut Chulalaksananukul. *Nir*K and *nir*S Nitrite Reductase Genes of non-agricultural forest soil in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. (accepted/in press) มี impact factor 1.082

Chompunuch Virunanon, Chanika Ouephanit, Vorakan Burapatana, and Warawut Chulalaksananukul. Bioethanol Production from Starch Industrial Waste in Thailand. *Journal of cleaner production*. (revised) มี impact factor 1.798

ชมภูนุช วิรุณานนท์ และ วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2010. ชีวสารสนเทศ: ประโยชน์ในงานวิจัยทางชีวภาพ. *วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพา.* 15(2), 99-106.

Chompunuch Virunanon, Chanika Ouephanit, Warawut Chulalaksananukul. Internatinal review article "Butanol, Properties, Engineering and Applications" **ในหนังสือ** "Chemistry research update" สำนักพิมพ์ Nova publisher, NY, USA.

Chanika Ouephanit, **Chompunuch Virunanon,** Vorakan Burapatana, and Warawut Chulalaksananukul*. 2011. Butanol and ethanol production from tapioca starch wastewater by *Clostridium* sp. Water Science and Technology. (accepted) มี impact factor 1.056

ชมภูนุช วิรุณานนท์ จิราพร พวงแก้ว และ วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2011. ดีไนตริไฟอิ้งแบคทีเรียและบทบาทในการแก้ปัญหามลภาวะในสภาวะแวดล้อม. *วารสารเกษตร.* ปีที่ 27. ฉบับที่ 3 ตุลาคม 2554.

Chompunuch Virunanon, Chanika Ouephanit, Vorakan Burapatana, and Warawut Chulalaksananukul*. Bioethanol Production from Starch Industrial Waste in Thailand. *Journal of Cleaner Production*. (revised)

<u>การประชุมวิชาการนานาชาติ</u>

Virunanon, C., Soucaille, P., Chulalaksananukul, W. 2005. *In silico* and *In vitro* Cel48A engineer in *Clostridium acetobutylicum*ATCC824. 10th Biological Science Graduate Congress, National University of Singapore, November 30 – December 2.

Chulalaksananukul, W., **Virunanon, C.,** Soucaille, P. 2005. Screening of Cellulolytic and Solvent Producing Clostridia from Natural Resources in Thailand. Biomass Conference Program and Abstract. Paris, France

Virunanon, C., Chulalaksananukul, W., Soucaille, P. 2006. *In silico* and *In vitro* Cel48A engineer in *Clostridium acetobutylicum* ATCC824. Clostridium IX, Rice University, Houston, USA, May18-21.

Marie Demuez, Olivier Guerrini Sophie Mondeil, **Chompunuch Virunanon**, Florence Saint-Prix, Christian Croux, Philippe Soucaille et Laurence Girbal. *Clostridium acetobutylicum* : une usine à biohydrogène. Posters Résumés – MicrobioToul 2006 – 11 Avril.

Virunanon, C. Croux, C., Soucaille, P., Chulalaksananukul, W. 2007. Optimization of 2, 2-Bicinchoninic acid methods for reducing-sugar detection in anaerobic cellulase activity assay. International Conference on New Horizons in Biotechnology (NHBT-2007), NIST, Trivandrum, India, November 26-29.

Chompunuch Virunanon, Christian Croux, Fabrice Sabathé, Frédéric Lopez, Laurence Girbal' Philippe Soucaille, and Chulalaksananukul, W. 2007. Two of the three major cellulases of the cellulosome of *Clostridium acetobutylicum* are active on crystalline cellulose. 12th Biological Sciences Graduate Congress (BSGC) "Science Empowering Life", University of Malaya, Malaysia, December 17-19.

Chompunuch Virunanon, Christian Croux, Philippe Soucaille, and Warawut Chulalaksananukul. 2008. Gene-disruption process for cellulosome modification in *C. acetobutylicum* ATCC824. Biotechnology of Lignocellulose Degradation, Biomass Utilization and Biorefinery, Shima Spain Mura, Shima-Isobe, Japan, September 1-5.

Chompunuch Virunanon, Chanika Ouephanit, Vorakan Burapatana, and Warawut Chulalaksananukul. 2009. Biobutanol production from pineapple waste in Thailand. Abstarct in JSPS-NRCT Summer School: Biomass Energy in Asia, Bangkok, Thailand, February 21-23.

Chompunuch Virunanon, Warawut Chulalaksananukul, and Philippe Soucaille. 2010. Nucleotide sequence and structure of CelC-Lic-16 homologous, a $\beta(1,3)$-glucan hydrolase from marine algae isolated *Clostridium* sp. L2-50. International proceeding ในการประชุมวิชาการ International Conference on Biotechnology for Healthy Living.

Chanika Ouephanit, **Chompunuch Virunanon**, Vorakan Burapatana, Warawut Chulalaksananukul. 2009. Butanol and Ethanol Production from Tapioca-starch Waste Water by Clostridia strains from 16SrDNA identification in Thailand. Genetics for National Energy Crisis 2009 Proceeding.

Chanika Ouephanit, **Chompunuch Virunanon**, Warawut Chulalaksananukul. 2010. Facter effecting butanol production of *Clostridium* sp. National proceeding ในการประชุมวิชาการ Thailand research symposium 2010.

Phanthipa Songsermpanit, **Chompunuch Virunanon**, Vorakan Burapatana and Warawut Chulalaksananukul. 2010. Anaerobic bacteria from cow dung for biofuels applications. International proceeding ในการประชุมวิชาการ International Conference on Biotechnology for Healthy Living.

Chanika Ouephanit, **Chompunuch Virunanon**,Vorakan Burapatana, Warawut Chulalaksananukul. 2010. Biobutanol production from tapioca starch wastewater by *Clostridium* sp. International proceeding ในการประชุมวิชาการ International Conference on Biotechnology for Healthy Living.

Panida Suriyapan, **Chompunuch Virunanon**, Supahng Chulalaksananukul, and Warawut Chulalaksananukul. 2011. Screening of Themotolerant Xylose-Utilizing Yeasts for Ethanol Production. Kasetsart University graduate conference.

Chompunuch Virunanon, Chanika Ouephanit, Vorakan Burapatana, and Warawut Chulalaksananukul. 2011. Bio-ethanol Production from Starch Industrial Waste in Thailand. The 8th Asia Pacific Conference on Sustainable Energy and Environmental Technologies (APCSEET 2011). Adelaide, Australia, July 10-13. Pp. 102.

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นาย นางสาว นาง ยศ
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr., Miss, Mrs., Rank
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน
3. ตำแหน่งปัจจุบัน
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
5. ประวัติการศึกษา
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
   - 3.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย
   - 3.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย
   - 3.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

3.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัย ว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

หมายเหตุ : 1. กรณีที่หน่วยงานมิได้ทำการวิจัยเองแต่ใช้วิธีจัดจ้าง โปรดใช้ **แบบ ว-1ด** โดยระบุรายละเอียดตามแบบฟอร์มที่กำหนดไว้ให้มากที่สุด พร้อมทั้งแนบแบบข้อกำหนด (terms of reference - TOR) การจัดจ้างทำการวิจัยด้วย

2. กรณีเป็นโครงการวิจัยต่อเนื่องที่ได้รับการจัดสรรงบประมาณในปีงบประมาณที่ผ่านมา และนักวิจัยมีความประสงค์จะเสนอของบประมาณการวิจัยในปีงบประมาณต่อไป ต้องจัดทำโครงการวิจัยประกอบการเสนอของบประมาณด้วย

3. ระบุข้อมูลโดยละเอียดในแต่ละหัวข้ออย่างถูกต้องและครบถ้วนสมบูรณ์ เพื่อประโยชน์ในการประเมินผล

4. กรณีโครงการวิจัยที่มีการใช้สัตว์ ให้ปฏิบัติตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ (ผนวก 11) และจัดทำเอกสารแนบตามแบบฟอร์มใบรับรองในผนวก 12 จำนวน 1 ชุด

5. กรณีโครงการวิจัยที่มีการทำวิจัยในคนให้ปฏิบัติตามจริยธรรมการวิจัยในคน (ผนวก 13) และจัดทำเอกสารแนบตามแบบฟอร์มใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการวิจัยหรือ Certiftcate of Approval ที่ออกโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยของสถาบัน (ผนวก 14) จำนวน 1 ชุด

6. กรณีโครงการวิจัยที่มีการดำเนินการวิจัยด้านความปลอดภัยทางชีวภาพให้ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม (ผนวก 15) และจัดทำเอกสารแนบตามแบบฟอร์มใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการวิจัยด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ ที่ออกโดยคณะกรรมการด้านความปลอดภัยทางชีวภาพของสถาบัน (ผนวก 16) จำนวน 1 ชุด