

## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 1. การสำรวจและการเก็บตัวอย่างวัชพืช

การสำรวจและเก็บตัวอย่างวัชพืช 10 ชนิด (ช่วงเดือนตุลาคม – พฤศจิกายน ปี 2543) ในพื้นที่ 8 จังหวัด พบวัชพืชที่มีลักษณะต้นสูงมากกว่า 1 เมตร ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นพืชอายุหลายปี ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 สรุปประเภทพืชของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด.

ชนิดวัชพืช	ประเภทพืช
<i>Coix aquatica</i> Roxb.	perennial
<i>Imperata cylindrica</i> (L.) P. Beauv.	perennial
<i>Panicum maximum</i> Jacq.	perennial
<i>Pennisetum polystachyon</i> (L.) Schult.	anual
<i>Pennisetum purpureum</i> Schumach.	perennial
<i>Phragmites karka</i> (Retz.) Trin. ex Steud.	perennial
<i>Saccharum spontaneum</i> Linn.	perennial
<i>Sorghum propinquum</i> (Kunth) Hitchc.	perennial
<i>Thysanolaena maxima</i> (Roxb.) O. Ktze.	perennial
<i>Typha angustifolia</i> Linn.	perennial

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 2. การหาผลผลิตชีวมวลและเปอร์เซ็นต์ความชื้นขณะเก็บเกี่ยว

วัชพืชที่มีผลผลิตชีวมวล (น้ำหนักสด) ต่อพื้นที่สูงสุดคือ *P. purpureum* มีน้ำหนักสดเท่ากับ 14.4 กิโลกรัมต่อตารางเมตร รองลงมาคือ *T. maxima* (10.9 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) และ *T. angustifolia* (8.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตร)

วัชพืชที่มีผลผลิตชีวมวล (น้ำหนักแห้ง) สูงสุดคือ *P. purpureum* และ *T. maxima* ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 3.3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร และ 3.0 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ *S. spontaneum* มีน้ำหนักแห้ง 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

วัชพืชที่มีความชื้นขณะเก็บเกี่ยวสูงสุด คือ *C. aquatica* และ *T. angustifolia* โดยมีความชื้นขณะเก็บเกี่ยวเท่ากับ 91.09% และ 90.17% วัชพืชที่มีความชื้นขณะเก็บเกี่ยวต่ำสุดคือ *S. spontaneum* ที่มีความชื้นขณะเก็บเกี่ยว 58.84%

## 3. การหาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช

วัชพืชที่มีปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุดคือ *S. spontaneum* โดยมีปริมาณเซลลูโลส 42.23% รองลงมาคือ *T. maxima* *P. maximum* และ *P. polystachyon* ซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส 39.81% 39.39% และ 38.69% ตามลำดับ

วัชพืชที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสสูงที่สุดคือ *C. aquatica* โดยมีปริมาณเฮมิเซลลูโลส 34.21% วัชพืชชนิดอื่นที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสใกล้เคียงกัน จะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสอยู่ระหว่าง 30.52-32.23% และกลุ่มที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสอยู่ระหว่าง 26.71-28.45%

วัชพืชที่มีปริมาณลิกนินสูงที่สุดคือ *T. maxima* โดยมีปริมาณลิกนิน 14.44% รองลงมาคือกลุ่มวัชพืชที่มีปริมาณลิกนินอยู่ในช่วงระหว่าง 10.22-11.03% ได้แก่ *T. angustifolia* *P. polystachyon* *P. maximum* และ *P. karka* ส่วนวัชพืชที่มีปริมาณ ลิกนินต่ำสุดคือ *P. purpureum* และ *C. aquatica* โดยมีปริมาณลิกนิน 6.84% และ 6.00% ตามลำดับ

## 4. การหาปริมาณซัลเฟอร์ในชีวมวลพืช

วัชพืชที่มีปริมาณซัลเฟอร์สูงที่สุดคือ *P. karka* โดยมีปริมาณซัลเฟอร์เท่ากับ 1.54% รองลงมาคือ *P. polystachyon* *T. angustifolia* และ *P. purpureum* ที่มีปริมาณซัลเฟอร์ 1.26% 1.20% และ 1.09% ตามลำดับ วัชพืชที่มีปริมาณซัลเฟอร์ต่ำสุดมี 3 ชนิด คือ *I. cylindrica* *S. propinquum* และ *P. maximum* ซึ่งมีปริมาณซัลเฟอร์เท่ากับ 0.09% 0.08% และ 0.06% ตามลำดับ

## 5. การหาปริมาณเถ้าในชีวมวลพืช

วัชพืชที่มีปริมาณเถ้าสูงสุดมี 2 ชนิด คือ *T. angustifolia* และ *P. purpureum* โดยมีปริมาณเถ้าเท่ากับ 11.08% และ 10.19% ตามลำดับ รองลงมาคือ *S. propinquum* *P. polystachyon* และ *P. maximum* ที่มีปริมาณเถ้าเท่ากับ 8.79% 8.46% และ 8.18% ตามลำดับ วัชพืชที่มีปริมาณเถ้าต่ำที่สุด คือ *T. maxima* และ *S. spontaneum* ซึ่งมีปริมาณเถ้า 5.46% และ 4.95% ตามลำดับ

## 6. การหาค่า heating value ของชีวมวลพืช

วัชพืชทั้ง 10 ชนิด มีค่า heating value อยู่ในช่วง 16.41-18.79 ล้านจูลต่อกิโลกรัม *T. maxima* มีค่า heating value สูงสุด รองลงมาคือ *I. cylindrica* *S. spontaneum* และ *P. karka* ที่มีค่า heating value 17.47 17.43 และ 17.29 ล้านจูลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ วัชพืชที่มีค่า heating value ต่ำสุดคือ *C. aquatica* และ *T. angustifolia* โดยมีค่า heating value เท่ากับ 16.61 และ 16.41 ล้านจูลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

โดยสรุป วัชพืชที่เหมาะสมสำหรับการนำชีวมวลมาใช้เผาไหม้โดยตรงเพื่อให้พลังงานคือ *T. maxima* *I. cylindrica* และ *S. spontaneum* เพราะมีคุณสมบัติที่ดีต่อการเป็นพืชพลังงาน คือ มีผลผลิตชีวมวลสูง มีค่า heating value สูง มีความชื้นขณะเก็บเกี่ยวต่ำ มีปริมาณเถ้าต่ำ และมีปริมาณซัลเฟอร์ต่ำ

จากข้อ 1 ถึง 6 สามารถสรุปได้ในตารางที่ 13 ดังนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 สรุปผลผลิตชีวมวล องค์ประกอบของชีวมวล และคุณสมบัติต่างๆ ของพืชพลังงานสำหรับการเผาไหม้โดยตรงของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด

ชนิดวัชพืช	ผลผลิตชีวมวล (น้ำหนักแห้ง)		ปริมาณความชื้น ขณะเก็บเกี่ยวในพืช (%)	องค์ประกอบของชีวมวล (%)			แฉา (%)	ซัลเฟอร์ (%)	Heating value (MJ/kg)
	kg/m <sup>2</sup>	t/ha		เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน			
<i>Coix aquatica</i>	0.70	7	91.09	33.16	34.21	6.00	7.29	0.77	16.61
<i>Imperata cylindrica</i>	0.6	6	68.35	37.21	32.23	8.21	6.27	0.09	17.47
<i>Panicum maximum</i>	1.6	16	74.16	39.39	28.31	10.65	8.18	0.06	16.80
<i>Pennisetum polystachyon</i>	1.0	10	70.51	38.69	27.46	10.56	8.46	1.26	16.84
<i>Pennisetum purpureum</i>	3.3	33	77.45	34.60	28.44	6.84	10.19	1.09	16.70
<i>Phragmites karka</i>	1.5	15	66.56	37.83	30.52	11.03	7.53	1.54	17.29
<i>Saccharum spontaneum</i>	2.0	20	58.84	42.23	31.91	8.30	4.95	0.24	17.43
<i>Sorghum proproinquum</i>	1.3	13	72.57	33.80	30.80	8.15	8.79	0.08	16.82
<i>Thysanolaena maxima</i>	3.0	30	73.12	39.81	26.72	14.44	5.47	0.12	18.79
<i>Typha angustifolia</i>	0.9	9	90.17	32.03	27.66	10.22	11.08	1.20	16.41

## 7. การหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูเลสพบว่า แอคติวิตีของ exoglucanase และ endoglucanase ของทุกสายพันธุ์จะมีค่าสูงสุดที่เวลา 15 วันของการบ่มเชื้อ แอคติวิตีของ  $\beta$ -glucosidase ใน *Acrophialophora* sp. UV10-2 และ *Acrophialophora* sp. UV10-7 จะมีค่าสูงสุดที่เวลา 15 วันของการบ่มเชื้อเช่นกัน แต่แอคติวิตีของ  $\beta$ -glucosidase ใน *Acrophialophora* sp. wild type มีค่าต่ำตลอดการทดลอง และต่ำสุดในวันที่ 3 และ 15 ซึ่งสรุปไว้ในตารางที่ 14

สายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีของ exoglucanase ดีที่สุดคือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 โดยมีค่าเท่ากับ 0.613 U/ml (0.093 U/mg protein) รองลงมาคือ *Acrophialophora* sp. UV10-7 มีค่าแอคติวิตีเท่ากับ 0.334 U/ml (0.053 U/mg protein) และ *Acrophialophora* sp. wild type มีค่าแอคติวิตีต่ำสุดคือ 0.098 U/ml (0.019 U/mg protein)

สายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีของ endoglucanase ดีที่สุดคือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 และ *Acrophialophora* sp. UV10-7 มีค่าเท่ากับ 3.833 U/ml (0.585 U/mg protein) และ 3.724 U/ml (0.593 U/mg protein) ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ *Acrophialophora* sp. wild type มีแอคติวิตีต่ำกว่าคือ 1.737 U/ml (0.366 U/mg protein)

สายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีของ  $\beta$ -glucosidase สูงสุดคือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 และ *Acrophialophora* sp. UV10-7 โดยมีแอคติวิตีเท่ากับ 0.084 และ 0.089 U/ml (0.013 และ 0.014 U/mg protein) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีต่ำสุด คือ *Acrophialophora* sp. wild type โดยมีแอคติวิตีเท่ากับ 0.03 U/ml (0.001 U/mg protein)

โดยสรุปสายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีของเซลลูเลสทั้งสามองค์ประกอบดีที่สุด คือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 จึงเลือกสายพันธุ์นี้ไปศึกษาการเจริญในอาหารเหลวเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตเซลลูเลสต่อไป

ตารางที่ 14 สรุปค่าแอกติวิตีของเซลล์เลสทั้งสามองค์ประกอบที่ได้จาก *Acrophialophora* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์

ระยะ เวลาบ่ม เชื้อ (วัน)	exoglucanase (U/ml)			endoglucanase (U/ml)			$\beta$ -glucosidase (U/ml)		
	Wild type	UV10-2	UV10-7	Wild type	UV10-2	UV10-7	Wild type	UV10-2	UV10-7
3	0.010	0.026	0.011	0.106	0.178	0.100	0.005	0.020	0.012
6	0.035	0.121	0.039	0.323	1.118	0.698	0.012	0.038	0.029
9	0.057	0.309	0.059	0.909	1.910	1.330	0.011	0.026	0.024
12	0.086	0.393	0.215	1.454	2.577	2.380	0.008	0.021	0.034
15	0.098	0.613	0.334	1.737	3.833	3.724	0.003	0.084	0.089

#### 8. การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อราในอาหารสูตร Potato Dextrose Broth (PDB)

*Acrophialophora* sp. UV10-2 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร PDB เพื่อใช้เป็น seed culture มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกของการบ่มเชื้อ โดยเข้าสู่ช่วงท้ายของระยะ log phase ที่เวลา 2 วันหลังจากบ่มเชื้อ ค่า maximum specific growth rate ของเชื้อราสายพันธุ์นี้ คือ 0.7496 ต่อวัน

#### 9. การศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์

*K. marxianus* NRRL Y-1109 มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และเข้าสู่ช่วงท้ายของระยะ log phase ที่เวลา 12 ชั่วโมงหลังจากบ่มเชื้อ ค่า maximum specific growth rate ของยีสต์ชนิดนี้คือ 0.2301 ต่อชั่วโมง

#### 10. การหาความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการหมัก

ในการทดลองได้ใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  และ  $1 \times 10^{10}$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดคือ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดในวันที่ 1 ของการหมักทั้งที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส คือ มีค่าเท่ากับ 0.50 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และ 0.49 กรัมต่อกรัมสับสเตรท ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีกลูโคสเหลืออยู่ในน้ำหมักต่ำที่สุด และเซลล์มีการเจริญเติบโตในช่วงวันแรกของการหมักที่ดีและเร็วกว่าเมื่อเปรียบกับการใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่ม

ต้นค่าอื่น สำหรับค่า pH เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าอยู่ระหว่าง 4.1-4.9 ตลอดการหมัก

## 11. การหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

### 11.1 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยใช้ *Acrophialophora* sp. UV10-2 เพื่อใช้ในการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องในระดับฟลาสก์นั้น มีค่าแอกติวิตีของ exoglucanase อยู่ระหว่าง 0.293-0.358 U/ml ค่าแอกติวิตีของ endoglucanase อยู่ระหว่าง 2.324-2.420 U/ml และค่าแอกติวิตีของ  $\beta$ -glucosidase อยู่ระหว่าง 0.035-0.050 U/ml

### 11.2 การปรับสภาพพืช (Pretreatment)

วัชพืชที่มีค่าความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลสก่อนและหลังการปรับสภาพมากที่สุดคือ *P. purpureum* โดยหลังปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 67.71% (เพิ่มขึ้น 95.69%) รองลงมาคือ *C. aquatica* หลังปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 64.53% (เพิ่มขึ้น 94.60%) ส่วนวัชพืชที่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเซลลูโลสน้อยที่สุดคือ *T. maxima* ซึ่งหลังปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 60.48% (เพิ่มขึ้น 51.92%)

วัชพืชที่มีค่าความแตกต่างของปริมาณเฮมิเซลลูโลสก่อนและหลังการปรับสภาพมากที่สุดคือ *P. polystachyon* โดยหลังปรับสภาพมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสเท่ากับ 10.10% (ลดลง 63.22%) รองลงมาคือ *C. aquatica* หลังปรับสภาพมีค่าเท่ากับ 13.85% (ลดลง 59.21%) ในขณะที่ *T. maxima* มีการลดลงของปริมาณเฮมิเซลลูโลสน้อยที่สุด คือ 34.96%

วัชพืชส่วนใหญ่มีปริมาณลิกนินคงที่ ในขณะที่บางชนิดมีปริมาณลิกนินเพิ่มขึ้น วัชพืชที่มีปริมาณลิกนินลดลงมากที่สุดคือ *C. aquatica* มีการลดลงของลิกนิน 28% (จาก 6% ไปเป็น 4.32%) รองลงมาคือ *S. propinquum* มีการลดลงของลิกนิน 20.37% (จาก 8.15% ไปเป็น 6.49%) และใน *T. maxima* มีการลดลงของลิกนินน้อยที่สุดคือ 13.92% (จาก 14.44% ไปเป็น 12.43%)

### 11.3 การเตรียมหัวเชื้อยีสต์

หัวเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร มีอายุ 12 ชั่วโมง ซึ่งอยู่ในช่วงท้ายของระยะ log phase และเป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตสูงสุด โดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นอยู่ในช่วง  $3.5 \times 10^9$  ถึง  $4.0 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

#### 11.4 การหมักในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

วัชพืชที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดคือ *C. aquatica* โดยมีผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 4.9 กรัมต่อลิตร หรือ 0.16 กรัมต่อกรัมสับสเตรท (%conversion = 48.48%) รองลงมาคือ *S. spontaneum* *P. polystachyon* และ *S. propinquum* ที่มีผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 3.4 3.3 และ 3.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนวัชพืชที่ให้ผลผลิตเอทานอลต่ำสุดคือ *T. maxima* โดยมีผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 1.7 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 0.06 กรัมต่อกรัมสับสเตรท (%conversion = 19.35%)

ปริมาณกลูโคสที่เหลือในน้ำหมักของ *C. aquatica* จะมีปริมาณต่ำสุด (น้อยกว่า 1 กรัมต่อลิตร) แสดงว่ากลูโคสเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้ดี ดังนั้นจึงเลือกวัชพืชชนิดนี้ไปหมักในระดับถังหมักต่อไป

#### 11.5 การหมักในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร (batch process)

ในการหมักเป็นเวลา 7 วัน โดยใช้ *C. aquatica* เป็นสับสเตรท ซึ่งผ่านการปรับสภาพ เช่นเดียวกับการหมักในระดับฟลาสก์ ผลผลิตเอทานอลที่ได้มีค่าเท่ากับ 8.8 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็น 0.18 กรัมต่อกรัมสับสเตรท (%conversion = 54.55%)

#### 11.6 การกลั่น

เมื่อนำน้ำหมักที่ได้จากการหมักในถังหมักไปกลั่นแบบ Simple distillation พบว่าสามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้ถึง 11.02 เท่า คือจาก 8.8 กรัมต่อลิตร ไปเป็น 96.48 กรัมต่อลิตร

#### ข้อเสนอแนะ

1. ในการเก็บเกี่ยววัชพืชมาใช้ควรเลือกเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนมกราคมถึงเมษายน เพราะวัชพืชบางชนิดจะแห้งลงหลังผ่านฤดูหนาว จึงช่วยลดต้นทุนในด้านการอบแห้งได้ส่วนหนึ่ง
2. เอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการทดลองนี้ยังมีค่าแอกติวิตีไม่สูงมากนัก จึงควรจะมีการศึกษาต่อไปเพื่อ เช่น ศึกษาการผลิตเซลลูเลสจากเชื้อราชนิดอื่นๆ แล้วนำเอนไซม์ที่มีแอกติวิตีที่ดีกว่านี้มาใช้ในการกระบวนการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง
3. ควรจะมีการศึกษาถึงวิธีการปรับสภาพพืชวิธีอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย ซึ่งจะช่วยให้ผลผลิตเอทานอลให้สูงขึ้น