วัชพืชที่มีศักยภาพเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์เชื้อเพลิง

นางสาว สุภาภรณ์ โสภณพัฒนะโภคา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546
ISBN 974-17-3874-9
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

WEED AS POTENTIAL RAW MATERIALS FOR THE PRODUCTION OF FUEL ALCOHOL

Miss Supaporn Sophonputtanaphoca

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Botany

Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-3874-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	วัชพืชที่มีศักยภาพเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์เชื้อเพลิง
โดย	นางสาวสุภาภรณ์ โสภณพัฒนะโภคา
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันทน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา)

.....กรรมการ

(อาจารย์บุญธิดา โฆษิตทรัพย์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุภาภรณ์ โสภณพัฒนะโภคา: วัชพืชที่มีศักยภาพเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์เชื้อเพลิง (WEED AS POTENTIAL RAW MATERIALS FOR THE PRODUCTION OF FUEL ALCOHOL) อ. ที่ปรึกษา: ผศ.ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ อ. ที่ปรึกษาร่วม: รศ. มุกดา คูหิรัญ; 160หน้า. ISBN 974-17-3874-9

การเก็บตัวอย่างวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่มีต้นสูงมากกว่า 1 เมตร จากการสำรวจในพื้นที่ 8 จังหวัด คือ นครปฐม กรุงเทพฯ สมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ปทุมธานี ลำพูน และนครราชสีมา พบวัชพืช 10 ชนิด ได้แก่ *Coix aquatica* *Imperata cylindrica* *Panicum maximum* *Pennisetum polystachyon* *Pennisetum purpureum* *Phragmites karka* *Saccharum spontaneum* *Sorghum propinquum* *Thysanolaena maxima* และ *Typha angustifolia* จากการศึกษาผลผลิตชีวมวล ปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวในพืช องค์ประกอบของชีวมวล ปริมาณซัลเฟอร์ ปริมาณเถ้า และค่า heating value พบว่า วัชพืชที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการเป็นพืชพลังงานเพื่อการเผาไหม้โดยตรง ได้แก่ *T. maxima* *S. spontaneum* และ *I. cylindrica* เนื่องจากมีค่าผลผลิตชีวมวลสูง (0.6-3.0 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) มีปริมาณซัลเฟอร์ต่ำ (0.09-0.12%) ปริมาณเถ้าต่ำ (4.95-6.27%) มีค่า heating value สูง (17.43-18.79 ล้านจูลต่อกิโลกรัม) และมีปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวในพืชระหว่าง 58.84-73.12% ในการผลิตเอทานอลจากวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ซึ่งใช้กระบวนการย่อยสลายและหมักแบบต่อเนื่องโดยใช้เซลลูเลสจากเชื้อราทนร้อน *Acrophialophora* sp. UV10-2 และยีสต์ทนร้อน *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-1109 ภายใต้สภาวะเขย่า 125 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 5.0 พบว่า *C. aquatica* ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด คือ 4.9 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 0.16 กรัมต่อกรัมสับสเตรท (48.48% จากค่าทฤษฎี) เมื่อเพิ่มระดับการหมักไปเป็นถังหมักขนาด 5 ลิตร (batch process) พบว่า ได้ผลผลิตเอทานอล 8.8 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 0.18 กรัมต่อกรัมสับสเตรท (54.55% จากค่าทฤษฎี) หลังจากการกลั่นแบบ Simple distillation สามารถเพิ่มความเข้มข้นเอทานอลไปเป็น 96.8 กรัมต่อลิตร (เพิ่มขึ้น 11.02 เท่า)

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2546 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา (ร่วม) .....

43724619: MAJOR BOTANY

KEY WORD: WEED, BIOMASS, FUEL ALCOHOL, ENERGY CROP

SUPAPORN SOPHONPUTTANAPHOCA: THESIS TITLE: WEED AS POTENTIAL RAW MATERIALS FOR THE PRODUCTION OF FUEL ALCOHOL. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. HUNSA PUNNAPAYAK, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. MUKDA KUHIRUN; 160 pp. ISBN 974-17-3874-9

Collection of 10 weed samples (height > 1m) from the exploration in 8 provinces including Nakornpathom, Bangkok, Samuthprakarn, Chacheongsao, Chonburi, Pathumtani, Lumphun, and Nakornrachasrima found ten weeds including *Coix aquatica, Imperata cylindrica, Panicum maximum, Pennisetum polystachyon, Pennisetum purpureum, Phragmites karka*, *Saccharum spontaneum, Sorghum propinquum, Thysanolaena maxima,* and *Typha angustifolia.* The study on biomass yield, moisture content at harvest in plant, biomass composition, sulfur content, ash content, and heating value revealed that some of these weeds were found to have suitable properties as energy crops for direct combustion. *T. maxima, S. spontaneum,* and *I. cylindrica* had high biomass yields (0.6-3.0 kg/m^2), low sulfur content (0.09-0.12%), low ash content (4.95-6.27%), high heating value (17.43-18.79 MJ/kg), and moisture content at harvest in plant between 58.84-73.12%. Ethanol production of 10 weeds using simultaneous saccharification and fermentation process (SSF) with cellulases from thermotolerant fungus, *Acrophialophora* sp. UV10-2, and thermotolerant yeast, *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-1109, was performed under shaking condition (125 rpm), 40 °C, and pH 5.0. The maximum ethanol yield was found to be 4.9 g/L or 0.16 g/g substrate (%conversion = 48.48%) for *C. aquatica*. When SSF process was performed in large scale, 5L fermentor (batch process), the ethanol yield was 8.8 g/L or 0.18 g/g substrate (%conversion = 54.55%). After distilling by simple distillation method, the higher concentration of ethanol was obtained 96.8 g/L (11.02 fold increased).

Department Botany Student's signature .....

Field of Study Botany Advisor's signature .....

Academic year 2003 Co-advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีเนื่องจากความเมตตาและความอนุเคราะห์จากหลายๆ ฝ่าย ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์และถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ.มุกดา คูหิรัญ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ช่วยให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และตรวจแก้ต้นฉบับวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องครบถ้วน

ขอขอบพระคุณ รศ. นันทนา อังกินันทน์ ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และตรวจแก้ต้นฉบับให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ส่งศรี กุลปรีชา และอาจารย์บุญธิดา โฆษิตทรัพย์ ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และตรวจแก้ต้นฉบับให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ Prof. Dr. Rodney J. Bothast (USDA) ที่กรุณามอบเชื้อยีสต์สำหรับใช้ในงานวิจัยนี้ และขอขอบพระคุณ Prof. Dr. Douglas E. Eveleigh (Rutgers University) สำหรับคำแนะนำที่มีค่า แม้จะเป็นช่วงเวลาสั้นๆ ที่ท่านมาเยี่ยมห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณ รศ.บุษบรรณ ณ สงขลา ผศ.จิรายุพิณ จันทรประสงค์ และอาจารย์ชุมศรี ชัยอนันต์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ของวัชพืชบางชนิด

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์มนฑกานติ วัชราภัย ผศ.ดร.พิพัฒน์ พัฒนผล อาจารย์อัญชลี ใจดี อาจารย์ชนิตา ปาลิยะวุฒิ และอาจารย์ ดร. ศิริลักษณ์ ธีระดากร (สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สำหรับเครื่องมือและอุปกรณ์บางชนิด ตลอดจนคำแนะนำในการใช้งาน

ขอขอบคุณ คุณศรีฉไล ขุนทน เจ้าหน้าที่แห่งสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการยืมใช้เครื่องบดตัวอย่างพืช

ขอขอบคุณ คุณเพ็ญสุดา ฮ่งภู่ คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาฯ และเจ้าหน้าที่ของกองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ จ.ปทุมธานี ที่กรุณาสอนการหาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช

ขอขอบพระคุณโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) สำหรับทุนการศึกษา และขอขอบคุณกองทุนเพื่อการส่งเสริมและอนุรักษ์พลังงาน สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานชาติ (สพช.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย

นอกจากนี้ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนในห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจเสมอมา รวมถึงเพื่อนที่ดี เดชา เสริมวิทยาวงศ์ (Ph.D. student, Penn State University, USA) ที่ช่วยหา paper จาก journal ที่ไม่มีในเมืองไทยมาให้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความช่วยเหลือและกำลังใจจากพี่กมลชัยที่มีให้ตลอดเวลา อีกทั้งทุกๆ คนอันเป็นที่รักในครอบครัวที่ให้กำลังใจเพื่อเอาชนะอุปสรรคต่างๆ ได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญภาพ.....ฌ
คำย่อ.....ฎ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. ตรวจเอกสาร.....4
3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย.....23
4. ผลการทดลอง.....35
5. วิจารณ์ผลการทดลอง.....80
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....92

รายการอ้างอิง.....100
ภาคผนวก.....108
ภาคผนวก ก.....109
ภาคผนวก ข.....111
ภาคผนวก ค.....116
ภาคผนวก ง.....121
ภาคผนวก จ.....130
ภาคผนวก ฉ.....132
ภาคผนวก ช.....138
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....160

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 เปรียบเทียบคุณสมบัติในการเป็นพืชพลังงานของ miscanthus กับ switchgrass.....11
2 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในวัชพืชแต่ละชนิด.....49
3 เปรียบเทียบปริมาณซัลเฟอร์กับพืชพลังงานชนิดอื่นและถ่านหิน.....50
4 ปริมาณเถ้าในชีวมวลของวัชพืชแต่ละชนิด.....52
5 เปรียบเทียบค่า heating value ของวัชพืชที่ศึกษา 4 ชนิดกับพืชพลังงานชนิดอื่น.....53
6 ค่าแอคติวิตีของเซลลูเลสที่ใช้ในการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง.....66
7 ปริมาณเซลลูโลส (%) ก่อนและหลังการปรับสภาพ.....68
8 ปริมาณเฮมิเซลลูโลส (%) ก่อนและหลังการปรับสภาพ.....68
9 ปริมาณลิกนิน (%) ก่อนและหลังการปรับสภาพ.....69
10 เปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร (batch process).....77
11 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลก่อนและหลังการกลั่นแบบ Simple distillation.....78
12 สรุปประเภทพืชของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด.....92
13 สรุปผลผลิตชีวมวล องค์ประกอบของชีวมวล และคุณสมบัติต่างๆ ของพืชพลังงานสำหรับการเผาไหม้โดยตรงของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด.....95
14 สรุปค่าแอคติวิตีของเซลลูเลสทั้งสามองค์ประกอบที่ได้จาก *Acrophialophora* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์.....97

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 ผนังเซลล์ของพืชที่ประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ในโครงสร้างคล้ายมัดเส้นใย (bundle-like structure) และมีลิกนินที่ทำหน้าที่คล้ายกับกาวเชื่อมเส้นใยให้อยู่ด้วยกัน....4

2 โครงข่ายพันธะไฮโดรเจนภายในและระหว่างโมเลกุลของสายกลูแคน....5

3 เซลโลไบโอสและพันธะ β-1,4-glucosidic ที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลกลูโคสในสายเซลลูโลส....6

4 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส....6

5 แบบจำลองโครงสร้างของลิกนินในไม้เนื้ออ่อน....7

6 แบบจำลองการย่อยสลายด้วยเซลลูเลสของเซลลูโลสในส่วนที่เป็น crystalline และ amorphous....16

7 ขั้นตอนโดยย่อในการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช....28

8 *Coix aquatica* Roxb....36

9 *Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv....37

10 *Panicum maximum* Jacq....38

11 *Pennisetum polystachyon* (L.) Schult....39

12 *Pennisetum purpureum* Schumach....40

13 *Phragmites karka* (Retz.) Trin. ex Steud....41

14 *Saccharum spontaneum* Linn....42

15 *Sorghum propinquum* (Kunth) Hitchc....43

16 *Thysanolaena maxima* (Roxb.) O. Ktze....44

17 *Typha angustifolia* Linn....45

18 น้ำหนักสด (กิโลกรัมต่อตารางเมตร) น้ำหนักแห้ง (กิโลกรัมต่อตารางเมตร) และปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยว (%) ของวัชพืช 10 ชนิด....47

19 ปริมาณซัลเฟอร์ (%) ที่มีอยู่ในวัชพืช 10 ชนิด....51

20 ค่า heating value (ล้านจูลต่อกิโลกรัม) ของวัชพืช 10 ชนิด....54

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

21 เชื้อราที่ใช้ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส *Acrophialophora* sp. (wild type) (ก) *Acrophialophora* sp. UV10-2 (ข) และ *Acrophialophora* sp. UV10-7 (ค).....55
22 แอคติวิตีของเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. ทั้งสามสายพันธุ์.....57
23 กราฟการเจริญเติบโตของ *Acrophialophora* sp. UV10-2 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PDB.....58
24 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของ *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-1109 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร YMB.....59
25 กราฟแสดงปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักและกลูโคสที่เหลือ โดยใช้ยีสต์ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร YMB กลูโคส 5% (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส.....62
26 กราฟแสดงจำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ในน้ำหมัก เมื่อใช้ยีสต์ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันซึ่งเลี้ยงอาหารสูตร YMB กลูโคส 5% (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส.....64
27 กราฟแสดงค่า pH ของน้ำหมัก เมื่อใช้ยีสต์ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันซึ่งเลี้ยงอาหารสูตร YMB กลูโคส 5% (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส.....65
28 ปริมาณเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ กลูโคส เซลโลไบโอส และไซโลสที่มีอยู่ในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด.....71
29 จำนวนเซลล์ยีสต์ในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด.....74
30 ค่า pH ในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด.....75
31 ปริมาณกากพืชที่เหลือโดยประมาณในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด.....76
32 การหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องในถังขนาด 5 ลิตร.....79
33 การกลั่นแบบ Simple distillation.....79
34 กราฟมาตรฐานซัลเฟอร์ โดยใช้ Calcium sulfate เป็นสารละลายมาตรฐาน.....120

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

35 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ได้จากวิธี DNS assay เพื่อใช้ในการคำนวณแอคติวิตีของเซลลูเลส.....127
36 กราฟมาตรฐานน้ำตาลไซโลส.....128
37 กราฟมาตรฐานโปรตีน.....129
38 กราฟมาตรฐานเอทานอล.....132
39 กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้กลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน.....133
40 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง HPLC.....134
41 กราฟมาตรฐานไซโลส ที่ได้จากวัดด้วยเครื่อง HPLC.....135
42 กราฟมาตรฐานเซลโลไบโอส ที่ได้จากวัดด้วยเครื่อง HPLC.....136
43 กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของยีสต์ *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-1109 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YMB.....137

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

CMC	=	carboxymethyl cellulose
CTAB	=	cetyl trimethyl ammonium bromide
DNS	=	dinitrosalicylic acid
EDTA	=	ethylene diamine tetra-acetic acid
g	=	กรัม
g/g	=	กรัมต่อกรัม (สับสเตรท)
g/L	=	กรัมต่อลิตร
GJ/t	=	พันล้านจูลต่อเฮกแตร์
μg	=	ไมโครกรัม
kg	=	กิโลกรัม
L	=	ลิตร
M	=	โมลาร์
mg	=	มิลลิกรัม
MJ/kg	=	ล้านจูลต่อกิโลกรัม
ml	=	มิลลิลิตร
NRRL	=	Agricultural Research Service Culture Collection, Northern Utilization Research Branch, US Dept of Agriculture, Peoria, Illinois, USA
U/ml	=	หน่วยต่อมิลลิลิตร
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
w/v	=	น้ำหนักต่อปริมาตร
%	=	เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย