บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การสำรวจและการเก็บตัวอย่างวัชพืช

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างวัชพืช 10 ชนิด (ช่วงเดือนตุลาคม – พฤศจิกายน ปี 2543) ในพื้นที่ 8 จังหวัด คือ จังหวัดนครปฐม กรุงเทพฯ สมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ปทุมธานี ลำพูน และนครราชสีมา พบวัชพืชที่มีลักษณะต้นสูงมากกว่า 1 เมตร เจริญอยู่ในพื้นที่รกร้างและริมถนน จากการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์สามารถจัดจำแนกชนิดของวัชพืชที่พบได้ดังนี้ (ภาพที่ 8 ถึง 17)

(1) *Coix aquatica* Roxb.

(2) *Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv.

(3) *Panicum maximum* Jacq.

(4) *Pennisetum polystachyon* (L.) Schult.

(5) *Pennisetum purpureum* Schumach.

(6) *Phragmites karka* (Retz.) Trin. ex Steud.

(7) *Saccharum spontaneum* Linn.

(8) *Sorghum propinquum* (Kunth) Hitchc.

(9) *Thysanolaena maxima* (Roxb.) O. Ktze.

(10) *Typha angustifolia* Linn.

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด มีรายละเอียดตามที่อ้างใน Bor (1960) Gilland (1971) Noda และคณะ (1985) Harada และคณะ (1987) สุรชัย มัจฉาชีพ (2538) และคุณหญิงสุชาดา ศรีเพ็ญ (2543) ดังนี้

ภาพที่ 8 *Coix aquatica* Roxb.

ชื่อไทย	ลำเอียก อ้อน้ำชายเฟือย เอื้อง เดือยหิน
ชื่อสามัญ	-
ชื่อวงศ์	Poaceae
สถานที่สำรวจพบ	จังหวัดนครปฐม กรุงเทพฯ สมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี
สถานที่เก็บตัวอย่าง	อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Coix aquatica เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) ลำต้นเลื้อยทอดไปตามพื้นดินหรือพื้นน้ำ ปลายยอดชูตั้งขึ้นสูงประมาณ 1.5 – 2 เมตร ลำต้นกลมยาวแข็งแรง รากออกตามข้อของลำต้นส่วนที่เลื้อยหรือตามข้อล่างๆ ใบเดี่ยวแตกจากลำต้นแบบสลับ แผ่นใบยาวเรียว ปลายใบเรียวแหลม ขนาดของแผ่นใบยาวประมาณ 80 เซนติเมตร กว้างประมาณ 4 เซนติเมตร เส้นกลางใบหนาสีอ่อนกว่าแผ่นใบ กาบใบหุ้มลำต้นไว้ ดอกออกเป็นช่อที่ยอดลำต้นหรือตามซอกใบ ช่อดอกขนาดเล็กแยกเป็นช่อดอกเพศผู้ และช่อดอกเพศเมีย ช่อดอกทั้งสองชนิดเกิดอยู่ภายในกลีบรองดอกที่มีลักษณะเป็นลูกกลมๆ เปลือกแข็ง โดยช่อดอกย่อยมีดอกย่อยเพียง 2 ดอกอยู่ภายใน ส่วนช่อดอกเพศผู้มีก้านช่อยื่นออกมาจากลูกกลมนั้น ช่อดอกย่อยเพศผู้มีดอกย่อย 2 – 3 ดอก ดอกประกอบด้วยเกสรเพศผู้ 3 อัน ดอกเพศเมียมี 1 ดอก มีก้านชูยอดเกสรเพศเมียยื่นออกมา ปลายแตกออกเป็น 2 แฉก อย่างไรก็ตาม พืชชนิดนี้มักจะไม่ค่อยออกดอก

C. aquatica มีการกระจายพันธุ์ทั่วเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถพบวัชพืชชนิดนี้ได้ตามหนองน้ำทั่วไปซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตื้นเขินของแม่น้ำลำคลอง

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

ชื่อไทย หญ้าคา

ชื่อสามัญ Cogon grass Lalang

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดนครปฐม ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ลำพูน นครราชสีมา

สถานที่เก็บตัวอย่าง อำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Imperata cylindrica เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) มีลำต้นใต้ดินเป็นเส้นกลม สีขาวซึ่งแตกแขนงได้มากมายและรวดเร็ว ลำต้นเหนือพื้นดินมีลักษณะแข็ง ตั้งตรงเป็นกอ สูงประมาณ 1.2-1.5 เมตร มีข้อ 2-4 ข้อ บริเวณข้อมีขน ใบเป็นใบเดี่ยว แข็งและสาก แผ่นใบแคบเรียว ปลายใบแหลม เส้นกลางใบมีสีขาว แตกออกจากลำต้นใต้ดิน ขอบใบมีขน ตรงรอยต่อระหว่างแผ่นใบกับกาบใบจะมีเยื่อกันน้ำฝน (ligule) ความยาวของแผ่นใบจะยาวหรือสั้นจะแตกต่างกันตามสภาพแวดล้อม บางครั้งใบอาจจะยาวถึง 150 เซนติเมตร ใบอ่อนมีปลอกแข็งและแหลมหุ้ม ช่อดอกชนิดพานิเคิล (panicle) ยาว 10-20 เซนติเมตร ดอกย่อยอยู่อัดกันแน่นบนก้านช่อดอก ช่อดอกมีลักษณะฟูสีขาวเงิน ดอกย่อยมีก้านดอกยาวไม่เท่ากัน ลักษณะยาวรี ล้อมรอบด้วยขนสีขาว มีกลีบประดับ (glume) 2 อัน กลีบบนยาวกว่ากลีบล่าง มีกลีบนอก (lemma) รูปไข่ ปลายแหลม มีลักษณะโปร่งแสงและมีขน กลีบใน (palea) มีลักษณะกว้างและมีขน มีเกสรเพศผู้ 2 อัน อับละอองเกสรมีสีส้มหรือสีน้ำตาล ยอดเกสรเพศเมียมีสีม่วงหรือสีน้ำตาล เมล็ดสีน้ำตาลแคบยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร

I. cylindrica เป็นวัชพืชร้ายแรงในแปลงพืชเพาะปลูก เช่น แปลงไม้ผล ชา กาแฟ และไร่ที่เปิดใหม่ และพบทั่วไปตามพื้นที่รกร้าง และที่ทิ้งร้างหลังการทำไร่เลื่อนลอย ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและเหง้า พบกระจายพันธุ์ทั่วไปในเขตร้อนของเอเชีย แอฟริกา และออสเตรเลีย พบทั่วประเทศไทย ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลถึงพื้นที่สูงกว่า 2,000 เมตร ออกดอกตลอดปี

ภาพที่ 10 *Panicum maximum* Jacq.

ชื่อไทย หญ้ากินี เสือแกลก

ชื่อสามัญ Guinea grass

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดชลบุรี

สถานที่เก็บตัวอย่าง อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Panicum maximum เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) ลำต้นกลม แข็ง ตั้งตรงสูงประมาณ 2-2.5 เมตร มักจะมีเหง้าใต้ดินเลื้อยทอดสั้นๆ ใบเรียวยาวชี้ขึ้นทั้งสองข้าง โคนใบแผ่เป็นกาบหุ้มลำต้นไว้ แผ่นใบกว้างประมาณ 3.5 เซนติเมตร ใบยาว 80-100 เซนติเมตร ช่อดอกเป็นแบบพานิเคิล ยาว 12-40 เซนติเมตร ดอกย่อยมีขนาดยาว 3-3.5 มิลลิเมตร ดอกมีสีม่วงแดง มีกลีบประดับ (glume) ขนาดไม่เท่ากัน อันที่มีขนาดสั้นกว่าจะมีขนาดเป็น 1/3 ถึง 1/4 ของความยาวของดอกย่อย ดอกย่อยในช่อดอกที่อยู่ต่ำกว่าจะเป็นดอกเพศผู้ ดอกเพศเมียจะอยู่ระดับสูงกว่าซึ่งเป็นตำแหน่งของผลเช่นกัน

การกระจายพันธุ์ของ *P. maximum* พบได้ที่ระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 2-500 เมตร ในเขตร้อนชื้นของทวีปแอฟริกา อเมริกา อเมริกาใต้ และออสเตรเลีย แต่มีการนำเข้าไปปลูกในหลายๆ ประเทศเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์รวมถึงประเทศไทย ฤดูการเจริญเติบโตจะอยู่ในช่วงฤดูร้อน มีการกระจายพันธุ์ด้วยเมล็ด

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

ชื่อไทย หญ้าขจรจบ หญ้าขจรจบดอกเล็ก

ชื่อสามัญ Feather pennisetum Mission grass

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดปทุมธานี ชลบุรี นครราชสีมา ลำพูน

สถานที่เก็บตัวอย่าง ถนนวงแหวนตะวันตก จังหวัดปทุมธานี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Pennisetum polystachyon เป็นพืชอายุปีเดียว (annual plant) ลำต้นแตกกิ่ง สูงได้ถึง 2 เมตร แผ่นใบยาว 10-40 เซนติเมตร กว้าง 10-15 เซนติเมตร ช่อดอกเป็นแท่งกลม ยาวได้ถึง 25 เซนติเมตร แกนช่อดอกไม่มีขนปกคลุมแต่เป็นปีกเล็กๆ โดยรอบ กลุ่มดอกประกอบด้วยขนหยาบหนาหลายอัน ห่อหุ้มดอกไร้ก้าน 1 ดอกอยู่ภายใน มีขนละเอียดหุ้มรอบขนหยาบหนาแต่ละอันอีกชั้นหนึ่ง ดอกมีสีเหลืองทองหรือม่วง เมื่อแก่มีสีน้ำตาล ดอกยาว 2-5 มิลลิเมตร รูปร่างคล้ายใบหอก กลีบหุ้มดอกบนแข็ง ผิวเรียบเป็นมัน ผลหลุดร่วงง่ายเมื่อแก่

P. polystachyon เป็นวัชพืชร้ายแรงในแปลงปลูกพืชล้มลุกอื่นๆ เช่น ข้าวโพด และพบตามพื้นที่ๆ ขุดไถทิ้งไว้ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดซึ่งปลิวลมไปได้ไกลด้วยขนที่ห่อหุ้ม เป็นพืชที่ออกดอกในช่วงวันสั้น พบกระจายพันธุ์ในเขตร้อนของโลก พบทั่วประเทศไทย จนถึงระดับสูงถึง 1,000 เมตร พบมากในเขตตะวันออกและตอนใต้ของภาคเหนือ ออกดอกระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนมีนาคม

ภาพที่ 12 *Pennisetum purpureum* Schumach.

ชื่อไทย หญ้าเนเปีย

ชื่อสามัญ Napier grass Elephant grass

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดนครปฐม นครราชสีมา

สถานที่เก็บตัวอย่าง อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Pennisetum purpureum เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) ลำต้นเจริญเติบโตเป็นกอแตกแขนงเป็นพุ่ม สูงประมาณ 2-3 เมตร ใบแคบเรียวยาว ปลายใบแหลม แผ่นใบอาจยาวถึง 1 เมตร มีขนปกคลุมแผ่นใบ ส่วนโคนแผ่นใบจะแผ่ออกเป็นกาบห่อหุ้มลำต้น ระหว่างแผ่นใบกับกาบใบมีเยื่อกันน้ำฝน ดอกออกเป็นช่อชนิดสไปค์ (spike) ช่อดอกตั้งตรง กลมคล้ายเทียน ยาวประมาณ 10-30 เซนติเมตร สีเหลืองอ่อนหรือสีฟางข้าว ดอกย่อยไม่มีก้านดอก มีขนแข็งออกกระจายรอบช่อดอก เมล็ดมีรูปร่างคล้ายรูปกระสวย สีน้ำตาล ออกดอกระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึงธันวาคม

ในประเทศไทยพบวัชพืชนี้ขึ้นในสภาพแห้งแล้ง พื้นที่รกร้างและบริเวณข้างถนน ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดและลำต้น ใช้ปลูกเป็นอาหารสัตว์ได้

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

ชื่อไทย หญ้าแขม

ชื่อสามัญ Flute reed

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดนครปฐม กรุงเทพฯ สมุทรปราการ ลำพูน

สถานที่เก็บตัวอย่าง ถนนบางนา-ตราด จังหวัดสมุทรปราการ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Phragmites karka เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) มีเหง้าใหญ่แข็งแรงอยู่ใต้ดิน ลำต้นกลมเรียบตั้งตรงสูงประมาณ 3-4 เมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร แผ่นใบเรียบ มีกาบใบยาว 15-25 เซนติเมตร ใบยาวขอบขนาน ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลมยาว ใบยาวประมาณ 50 เซนติเมตรหรือยาวกว่า แผ่นใบกว้าง 3 เซนติเมตร ไม่มีเส้นกลางใบ ใบเป็นคู่ขนานออกในระนาบเดียวกัน รูปทรงของใบชี้ออกทางด้านข้าง ช่อดอกขนาดใหญ่แบบพานิเคิล ยาวประมาณ 50 เซนติเมตร กว้าง 10-20 เซนติเมตร ดอกยาว 9-12 มิลลิเมตร ประกอบด้วยดอกย่อยประมาณ 10 ดอก ก้านดอกย่อยปกคลุมด้วยขนยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร

พบวัชพืชชนิดนี้ได้ทั่วไปตามที่ชื้นแฉะริมน้ำ เป็นวัชพืชในแปลงเปิดใหม่ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและเหง้า กระจายพันธุ์ทั่วไปในเขตร้อนของเอเชีย ได้แก่ ไทย มาเลเซีย ศรีลังกา พม่า และอินเดีย และพบใน ออสเตรเลีย ในประเทศไทยพบในภาคเหนือและภาคกลาง ตั้งแต่ระดับใกล้เคียงน้ำทะเล ถึงระดับสูงกว่าน้ำทะเล 600 เมตร ออกดอกระหว่างเดือนมกราคม – มิถุนายน

ภาพที่ 14 *Saccharum spontaneum* Linn.

ชื่อไทย เลา แขมดอกขาว คาหลวง อ้อยเลา

ชื่อสามัญ Wild cane

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดนครปฐม กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ ชลบุรี

สถานที่เก็บตัวอย่าง อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Saccharum spontaneum เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) ลำต้นตั้งตรง สูง 2-4 เมตร มีระบบเหง้าที่แพร่กระจายเป็นวงกว้าง ใต้ข้อเป็นมันเงา ใบยาว 20 เซนติเมตรหรือมากกว่า แผ่นใบแคบยาว ปลายใบแหลม ใบที่ฐานใบจะเล็กกว่าเส้นกลางใบ เยื่อกันน้ำฝนมีขนเล็กน้อย ช่อดอกแบบ พานิเคิล ยาว 20-50 เซนติเมตร กว้าง 5 เซนติเมตร ดอกย่อยมีขนเล็กฟูสีขาวเงิน กลีบประดับ อันบน (upper glume) ยาว 3.4 มิลลิเมตร กลีบนอกอันบน (upper lemma) แคบ ไม่มีสี ยาว 3 มิลลิเมตร (ไม่มีกลีบใน (palea)) กลีบนอกอันล่าง (lower lemma) ไม่มีสี กว้างเป็นสองเท่า ยาว 3.2 มิลลิเมตร กลีบในไม่มีสี ยาว 1 มิลลิเมตร มีเกสรเพศผู้ 3 อัน อับเรณูสีเหลือง ยาว 1.4 มิลลิเมตร เกสรเพศเมียสีม่วง

พบวัชพืชชนิดนี้กระจายพันธุ์ทั่วไปในอินเดีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับประเทศไทยพบทั่วไปตามพื้นราบต่ำที่เป็นดินทราย

ภาพที่ 15 *Sorghum propinquum* (Kunth) Hitchc.

ชื่อไทย หญ้าพง

ชื่อสามัญ Siamese knoblick grass

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดกรุงเทพฯ

สถานที่เก็บตัวอย่าง ถนนบางนา - ตราด กรุงเทพฯ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Sorghum propinquum เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) ลำต้นตั้งตรง สูงได้ถึง 2.5 เมตร กาบใบยาว 30 เซนติเมตร เรียบ ไม่มีขน แต่จะมีขนบริเวณข้อ แผ่นใบใหญ่ ยาวได้ถึง 78 เซนติเมตร กว้าง 4 เซนติเมตร เยื่อกันน้ำฝนมีขน เส้นกลางใบกว้างและยาวตลอดแผ่นใบ ช่อดอกแบบพานิเคิลขนาดใหญ่ ยาวประมาณ 40 เซนติเมตร กว้าง 10 เซนติเมตร ดอกย่อยสีน้ำตาลอ่อน กลีบประดับอันบน (upper glume) เป็นรูปเรือ ยาว 5.2 มิลลิเมตร มีขนที่ด้านบน กลีบประดับอันล่าง (lower glume) แบนแคบรูปไข่ ยาว 5.2 มิลลิเมตร กลีบนอก (lemma) ยาวแคบ ไม่มีสี ยาวประมาณ 4.2 มิลลิเมตร กลีบใน (palea) เป็นแผ่นแคบ ไม่มีสี ยาว 3 มิลลิเมตร

พบวัชพืชชนิดนี้กระจายพันธุ์ทั่วไปตามแนวตลิ่งของแม่น้ำ พบได้ในประเทศมาเลเซีย สิงคโปร์ ศรีลังกา อินเดีย และไทย

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

ชื่อไทย กง

ชื่อสามัญ Tiger grass

ชื่อวงศ์ Poaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดลำพูน

สถานที่เก็บตัวอย่าง อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Thysanolaena maxima เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) ขึ้นเป็นกอขนาดใหญ่ ลำต้นสูงได้ถึง 3 เมตร ลักษณะลำต้นกลมและแข็ง ไม่มีขน เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 1-2 เซนติเมตร แผ่นใบรูปปลายใบหอกแคบยาว ขนาดยาวประมาณ 50 เซนติเมตร กว้าง 7 เซนติเมตร มีก้านสั้น เยื่อกันน้ำฝนค่อนข้างหนา ปลายตัด ผิวมัน ช่อดอกใหญ่ยาวประมาณ 50 เซนติเมตร แตกกิ่งเล็กจำนวนมาก กิ่งย่อยตั้งหรือเอียง ชี้ขึ้นด้านบน มีดอกย่อยจำนวนมาก ดอกยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ประกอบด้วยดอกย่อย 2 ดอก ขอบดอกมีขนเล็กนุ่มละเอียด ดอกย่อยดอกล่างลดรูปเป็นเยื่อบาง ดอกย่อยดอกบนสมบูรณ์ ขนาดยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร เมล็ดทรงรี เป็นชนิด caryopsis ยาวประมาณ 0.5 มิลลิเมตร

พบวัชพืชนี้ทั่วไปตามที่โล่งค่อนข้างแห้งแล้งชายป่า เป็นวัชพืชในแปลงที่ขุดทิ้งไว้ หรือตามแปลงทิ้งรกร้างหลังการทำไร่เลื่อนลอยตามภูเขา กระจายพันธุ์ทั่วไปในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ มาเลเซีย สิงคโปร์ อินเดีย พม่า ไทย และจีน ในประเทศไทยพบทั่วไปในภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ มีการนำพืชชนิดนี้ไปปลูกในภาคอื่นเพื่อใช้ทำไม้กวาด เจริญได้ตั้งแต่ใกล้ระดับน้ำทะเลจนถึง 1,100 เมตร ออกดอกมากระหว่างเดือนพฤศจิกายน – สิงหาคม

ภาพที่ 17 *Typha angustifolia* Linn.

ชื่อไทย ธูปฤาษี กกช้าง

ชื่อสามัญ Narrow-leaved cat tail Lesser reedmace

ชื่อวงศ์ Typhaceae

สถานที่สำรวจพบ จังหวัดนครปฐม กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ ชลบุรี นครราชสีมา ปทุมธานี

สถานที่เก็บตัวอย่าง อำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

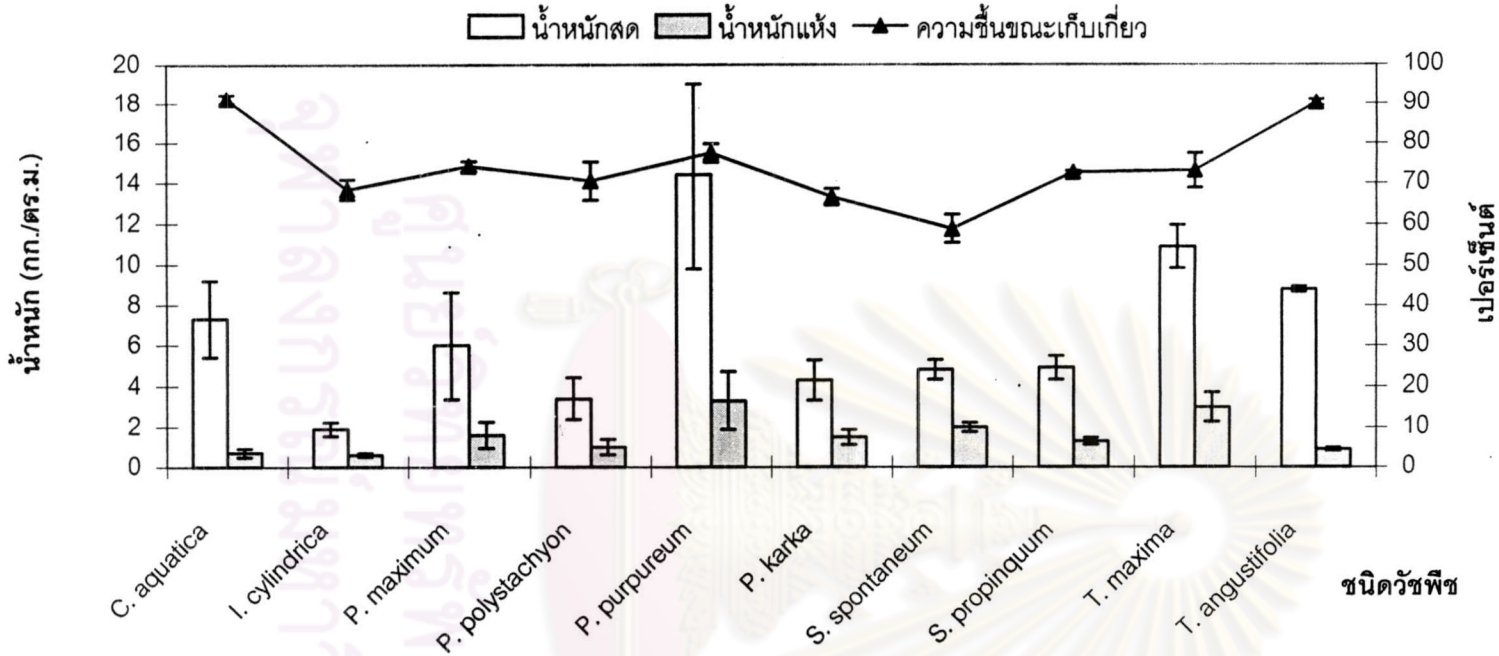
Typha angustifolia เป็นพืชอายุหลายปี (perennial plant) ลำต้นเป็นเหง้าแข็งอยู่ใต้ดิน ส่วนที่อยู่เหนือดินเป็นกลุ่มใบที่แตกแบบสลับกันเป็นสองแถว กอขนาดใหญ่สูงประมาณ 2-3.5 เมตร สามารถแตกกอใหม่จากเหง้าได้ ใบเป็นใบเดี่ยว รูปเรียวยาว สีเขียวเข้ม โคนใบแผ่เป็นกาบอวลหนาหุ้มประกบกัน ใบแก่อยู่ด้านนอกหุ้มใบอ่อนไว้ แผ่นใบเรียบลักษณะนูนอวบกว้าง 5-8 มิลลิเมตร ยาวมากกว่า 1 เมตร ดอกเป็นช่อดอกแบบดอกย่อยเรียงชิดกันแน่นบนก้านช่อดอก (dense spike) ลักษณะคล้ายธูปขนาดใหญ่ ดอกเพศผู้กับดอกเพศเมียแยกกันอยู่คนละส่วนในช่อเดียวกัน ดอกเพศผู้อยู่ตอนปลายของก้านช่อดอก มีเกสรเพศผู้ 2-5 อัน ก้านเกสรเพศผู้แยกหรือติดกัน อับเรณูมี 2 ช่อง เมื่อดอกเพศผู้แก่จะร่วงหลุดไปหมด ดอกเพศเมียอยู่ตอนล่างเรียงตัวอัดกันแน่นเป็นรูปทรงกระบอก มีรังไข่อยู่เหนือส่วนของดอก รังไข่รูปกระสวยมี 1 ช่อง ภายในมีไข่อ่อนเพียง 1 ใบ ยอดเกสรเพศเมียเรียวยาวเป็นรูปช้อน (spathulate) หรือแผ่เป็นรูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด และพบดอกเพศเมียที่เป็นหมันแทรกอยู่ด้วย เมื่อดอกแก่จะมีสีน้ำตาลเข้ม ผลมีขนาดเล็กเปลือกแข็ง รูปร่างกลมเรียวยาว 5-8 มิลลิเมตร มีก้านชูเกสรเพศเมียติดอยู่จนแก่ ผลแก่มีสีน้ำตาล เมล็ดมีเพียง 1 เมล็ด ที่ปลายมีขนสีขาวเป็นกระจุกติดอยู่ทำให้แพร่กระจายได้ไกล พบวัชพืชชนิดนี้แพร่กระจายเกือบทั่วโลก ชอบขึ้นบริเวณแหล่งน้ำขัง ในหนอง บึง นาข้าว ขยายพันธุ์โดยใช้เหง้าและเมล็ด ในประเทศไทยพบเป็นจำนวนมาก

2. **การหาผลผลิตชีวมวลและปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวในพืช**

ในการหาผลผลิตชีวมวลจากความหนาแน่นต่อพื้นที่ซึ่งแสดงในภาพที่ 18 พบว่า *P. purpureum* มีผลผลิตชีวมวลต่อหน่วยพื้นที่สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 คือ มีน้ำหนักสดเท่ากับ 14.4 กิโลกรัมต่อตารางเมตร รองลงมาคือ *T. maxima* (10.9 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) และ *T. angustifolia* (8.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) วัชพืชที่มีน้ำหนักสดต่ำสุดคือ *I. cylindrica* ซึ่งมีน้ำหนักสดเท่ากับ 1.9 กิโลกรัมต่อตารางเมตร แต่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักสดของ *P. polystachyon* *P. karka* *S. spontaneum* และ *S. propinquum* ซึ่งมีน้ำหนักสดเท่ากับ 3.4 4.3 4.8 และ 4.9 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบจากน้ำหนักแห้งหลังการอบในตู้อบพบว่า วัชพืชที่มีน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ *P. purpureum* และ *T. maxima* ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 3.3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร และ 3.0 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ *S. spontaneum* มีน้ำหนักแห้ง 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเมตร สำหรับพืชที่มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 คือ *I. cylindrica* *C. aquatica* *T. angustifolia* *P. polystachyon* *S. propinquum* *P. karka* และ *P. maximum* ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.6 0.7 0.9 1.0 1.3 1.5 และ 1.6 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาจากปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวในพืชจะพบว่า วัชพืชที่มีความชื้นขณะเก็บเกี่ยวสูงสุด คือ *C. aquatica* และ *T. angustifolia* โดยมีปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวเท่ากับ 91.09% และ 90.17% รองลงมาคือ *P. purpureum* (77.45%) ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวของ *P. maximum* (74.16%) *T. maxima* (73.12%)และ *S. propinquum* (72.57%) เช่นเดียวกับในกลุ่มของวัชพืชที่เหลือที่มีปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 70.51 – 66.56% ยกเว้นใน *S. spontaneum* ที่มีปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวต่ำที่สุดคือ 58.84%



ภาพที่ 18 น้ำหนักสด (กิโลกรัมต่อตารางเมตร) น้ำหนักแห้ง (กิโลกรัมต่อตารางเมตร) และปริมาณความชื้นขณะเก็บเกี่ยวในพืช (%) ของวัชพืช 10 ชนิด (แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)

3. **การหาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืช**

จากการหาปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลพืชซึ่งได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยเทียบจากน้ำหนักแห้งของพืช ดังแสดงในตารางที่ 3พบว่าวัชพืชที่มีปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุดคือ *S. spontaneum* โดยมีปริมาณเซลลูโลส 42.23% รองลงมาคือ *T. maxima P. maximum* และ *P. polystachyon* มีปริมาณเซลลูโลส 39.81% 39.39% และ 38.69% ตามลำดับ กลุ่มวัชพืชที่มีปริมาณเซลลูโลสต่ำสุดใกล้เคียงกัน (ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05) มี 3 ชนิด คือ *S. propinquum C. aquatica* และ *T. angustifolia* โดยมีปริมาณเซลลูโลส 33.80% 33.15% และ 32.03% ตามลำดับ

ปริมาณเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากวัชพืชทั้ง 10 ชนิด จะอยู่ในช่วง 26.71–34.21% วัชพืชที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสสูงสุดคือ *C. aquatica* วัชพืชชนิดอื่นที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสใกล้เคียงกัน (ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05) จะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสอยู่ระหว่าง 30.52-32.23% ได้แก่ *P. karka S. propinquum S. spontaneum* และ *I. cylindrica* ส่วนวัชพืชอีกกลุ่มที่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสอยู่ระหว่าง 26.71-28.45% ได้แก่ *T. maxima P. polystachyon T. angustifolia P. maximum* และ *P. purpureum*

สำหรับปริมาณลิกนิน วัชพืชที่มีปริมาณลิกนินสูงที่สุดคือ *T. maxima* ซึ่งมีปริมาณลิกนิน 14.44% รองลงมาคือกลุ่มวัชพืชที่มีปริมาณลิกนินอยู่ในช่วงระหว่าง 10.22-11.03% ได้แก่ *T. angustifolia P. polystachyon P. maximum* และ *P. karka* และกลุ่มวัชพืชที่มีปริมาณลิกนินอยู่ในช่วงระหว่าง 8.15-8.30% ได้แก่ *S. propinquum I. cylindrica* และ *S. spontaneum* ส่วนวัชพืชที่มีปริมาณลิกนินต่ำสุดคือ *P. purpureum* และ *C. aquatica* โดยมีปริมาณลิกนิน 6.84% และ 6.00% ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในวัชพืชแต่ละชนิด

ชนิดวัชพืช	ปริมาณองค์ประกอบชีวมวล* (%)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
Coix aquatica	33.16^{a-b}	34.21^{c}	6.00^{a}
Imperata cylindrica	37.21^{c}	32.23^{b}	8.21^{b}
Panicum maximum	39.39^{d-e}	28.31^{a}	10.65^{c}
Pennisetum polystachyon	38.69^{c-e}	27.46^{a}	10.56^{c}
Pennisetum purpureum	34.60^{b}	28.44^{a}	6.84^{a-b}
Phragmites karka	37.83^{c-d}	30.52^{b}	11.03^{c}
Saccharum spontaneum	42.23^{f}	31.91^{b}	8.30^{b}
Sorghum propinquum	33.80^{a-b}	30.80^{b}	8.15^{b}
Thysanolaena maxima	39.81^{e}	26.72^{a}	14.44^{d}
Typha angustifolia	32.03^{a}	27.66^{a}	10.22^{c}

*เทียบต่อหน่วยน้ำหนักแห้งของพืช

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกัน (เปรียบเทียบกันในแนวคลอลัมน์) แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. การหาปริมาณซัลเฟอร์ในชีวมวลพืช

จากการหาปริมาณซัลเฟอร์ในวัชพืชแต่ละชนิดด้วยการย่อยด้วยกรดแล้วนำมาตกตะกอนด้วยวิธี Turbidimetric determination พบว่า วัชพืชที่มีปริมาณซัลเฟอร์สูงที่สุดคือ *P. karka* โดยมีปริมาณซัลเฟอร์เท่ากับ 1.54% (เทียบจากน้ำหนักแห้งของพืช) รองลงมาคือ *P. polystachyon* *T. angustifolia* และ *P. purpureum* ที่มีปริมาณซัลเฟอร์ 1.26% 1.20% และ 1.09% ตามลำดับ สำหรับพืชที่มีปริมาณซัลเฟอร์ไม่ถึง 1% ได้แก่ *C. aquatica* (0.77%) *S. spontaneum* (0.24%) และ *T. maxima* (0.12%) โดยที่วัชพืชที่มีปริมาณซัลเฟอร์ต่ำสุดมี 3 ชนิด (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ) คือ *I. cylindrica* *S. propinquum* และ *P. maximum* ซึ่งมีปริมาณซัลเฟอร์เท่ากับ 0.09% 0.08% และ 0.06% ตามลำดับ ดังภาพที่ 19

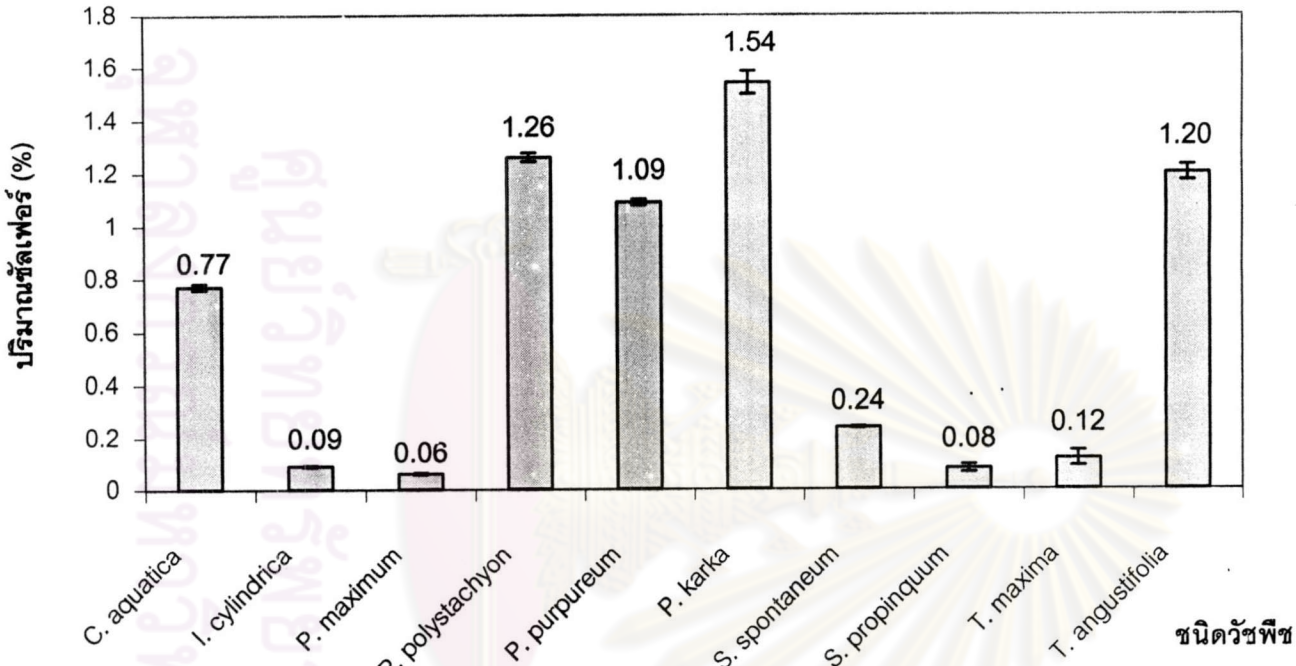
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณซัลเฟอร์ของวัชพืช 6 ชนิดที่ทำการศึกษาแล้วพบว่ามีปริมาณซัลเฟอร์ไม่ถึง 1% กับพืชพลังงานชนิดอื่นและถ่านหิน ดังในตารางที่ 3 จะพบว่าวัชพืชทั้ง 6 ชนิดมีปริมาณซัลเฟอร์ต่ำกว่าถ่านหิน แต่ถ้าพิจารณาเปรียบเทียบเฉพาะพืชด้วยกัน จะพบว่ามีวัชพืช 5 ชนิดที่มีปริมาณซัลเฟอร์อยู่ในช่วงเดียวกับพืชพลังงานที่สำคัญ 4 ชนิด คือ switchgrass miscanthus reed canary grass และ kentucky bluegrass

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณซัลเฟอร์กับพืชพลังงานชนิดอื่นและถ่านหิน

ชนิดพืช	ปริมาณซัลเฟอร์ (%)*
Coix aquatica	0.77
Saccharum spontaneum	0.24
Thysanolaena maxima	0.12
Imperata cylindrica	0.09
Sorghum propinquum	0.08
Panicum maximum	0.06
Switchgrass (*Panicum virgatum*)[a]	0.12
Miscanthus (*Miscanthus* spp.)[a]	0.04-0.19
Reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)[a]	0.06-0.11
Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*)[b]	0.40
Bituminous coal [b]	1.0

* เทียบต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง

[a] Lewandowski และคณะ (2003), [b] Klass (1998)



ภาพที่ 19 ปริมาณซัลเฟอร์ (%) ที่มีอยู่ในวัชพืช 10 ชนิด

(แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)

5. การหาปริมาณเถ้าในชีวมวลพืช

จากผลการทดลองที่ได้ซึ่งแสดงในตารางที่ 4 พบว่า 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 ในขณะที่วัชพืชชนิดอื่นมีปริมาณเถ้าอยู่ระหว่าง 6.27-7.53% ยกเว้นใน *T. maxima* และ *S. spontaneum* ที่มีปริมาณเถ้าต่ำที่สุดคือ 5.46% และ 4.95% ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ปริมาณเถ้าในชีวมวลของวัชพืชแต่ละชนิด

ชนิดวัชพืช	ปริมาณเถ้า* (%)
Coix aquatica	7.29^{c-d}
Imperata cylindrica	6.27^{b-c}
Panicum maximum	8.18^{d-f}
Pennisetum polystachyon	8.46^{e-f}
Pennisetum purpureum	10.19^{g}
Phragmites karka	7.53^{d-e}
Saccharum spontaneum	4.95^{a}
Sorghum propinquum	8.79^{f}
Thysanolaena maxima	5.47^{a-b}
Typha angustifolia	11.08^{g}

*เทียบต่อหน่วยน้ำหนักแห้งของพืช

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

6. **การหาค่า heating value ของชีวมวลพืช**

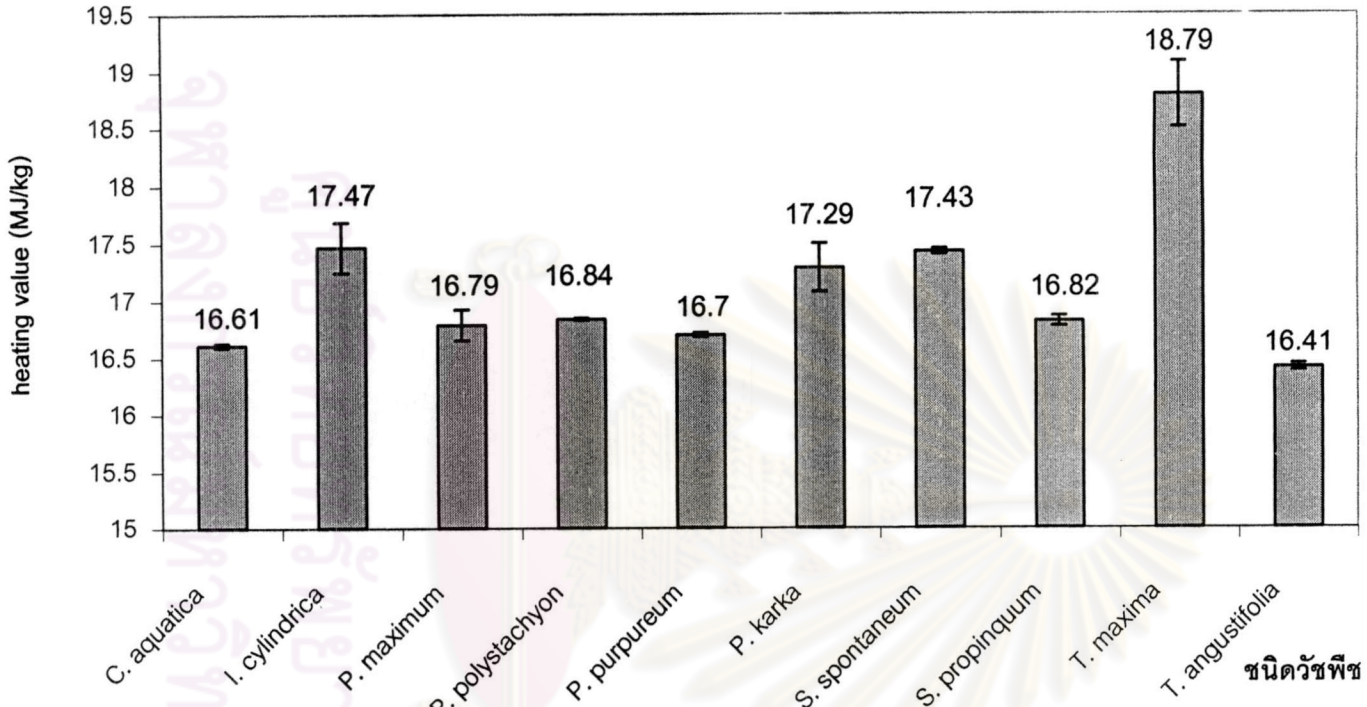
ในการหาค่า heating value โดยนำตัวอย่างพืชมาเผาในเครื่อง Bomb calorie meter ผลการทดลองที่ได้พบว่า วัชพืชทั้ง 10 ชนิด มีค่า heating value อยู่ในช่วง 16.41-18.79 ล้านจูลต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ดังในภาพที่ 20 โดยที่ *T. maxima* มีค่า heating value สูงสุด รองลงมาคือ *I. cylindrica* *S. spontaneum* และ *P. karka* ที่มีค่า heating value ใกล้เคียงกัน (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ) คือ 17.47 17.43 และ 17.29 ล้านจูลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนวัชพืชที่มีค่า heating value ต่ำสุดคือ *C. aquatica* และ *T. angustifolia* โดยมีค่า heating value เท่ากับ 16.61 และ 16.41 ล้านจูลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่า heating value ของวัชพืชที่ศึกษา 4 ชนิดที่มีค่า heating value ที่สูง ได้แก่ *T. maxima* *I. cylindrica* *S. spontaneum* และ *P. karka* กับพืชพลังงานจำพวกหญ้า ก็พบว่า วัชพืชทั้ง 4 ชนิดนี้มีค่าพลังงานสูงกว่าหรือใกล้เคียงกับค่า heating value ของพืชพลังงานที่เปรียบเทียบ ดังในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่า heating value ของวัชพืชที่ศึกษา 4 ชนิดกับพืชพลังงานชนิดอื่น

ชนิดพืช	ค่า heating value (MJ/kg)
Thysanolaena maxima	18.79
Imperata cylindrica	17.47
Saccharum spontaneum	17.43
Phragmites karka	17.29
Switchgrass (*Panicum virgatum*)[a]	17.00
Miscanthus (*Miscanthus* spp.)[a]	17.10-19.20
Reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)[a]	16.6-19.3
Giant reed (*Arundo donax*)[a]	14.8-18.8

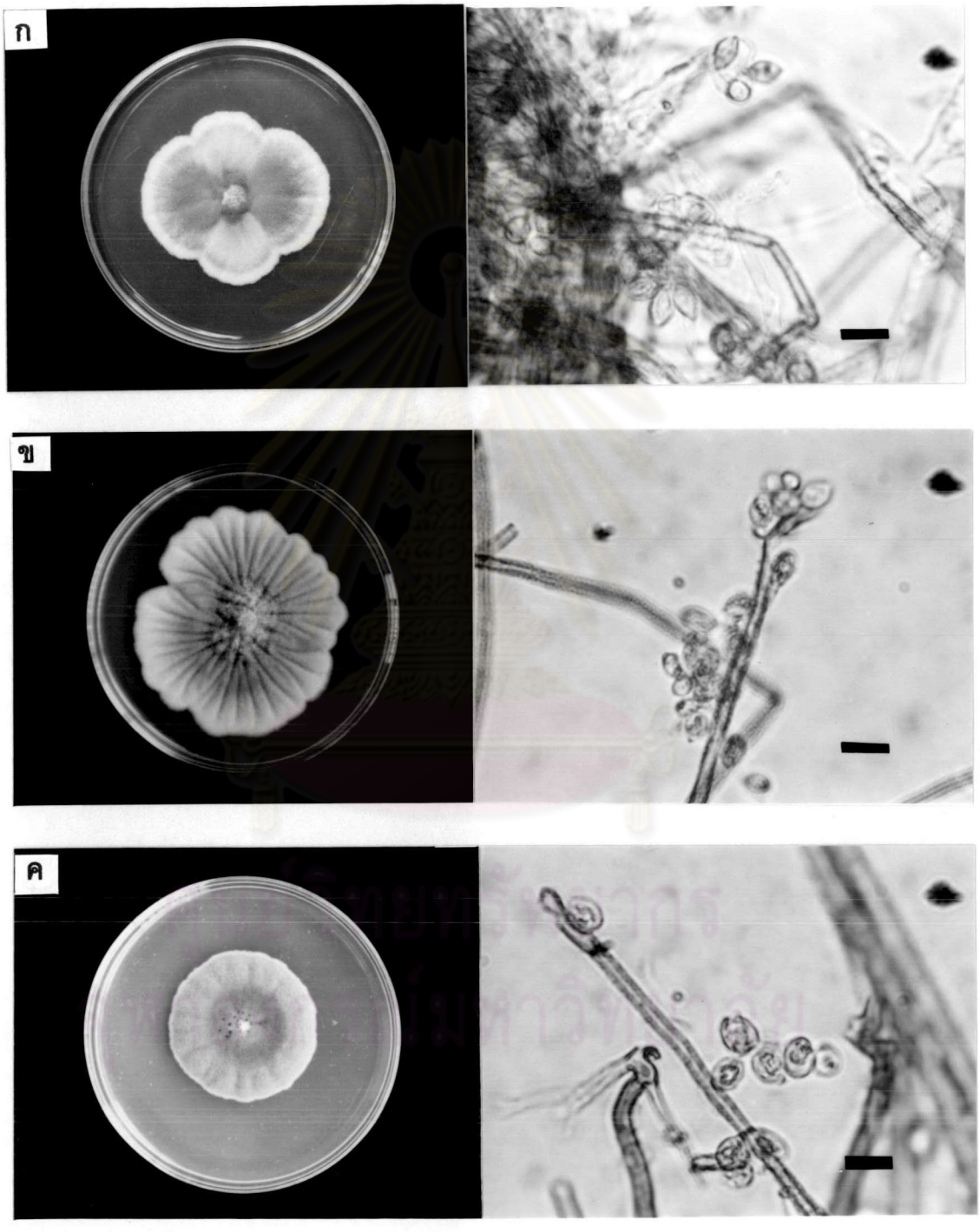
[a] Lewandowski และคณะ (2003)



ภาพที่ 20 ค่า heating value (ล้านจูลต่อกิโลกรัม) ของวัชพืช 10 ชนิด
(แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)

7. การหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

เชื้อราที่ใช้ในการวิจัยมี 3 สายพันธุ์ คือ *Acrophialophora* sp. (wild type) *Acrophialophora* sp. UV10-2 และ *Acrophialophora* sp. UV10-7 (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 เชื้อราที่ใช้ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส *Acrophialophora* sp. (wild type) (ก) *Acrophialophora* sp. UV10-2 (ข) และ *Acrophialophora* sp. UV10-7 (ค) (bar = 10 μm)

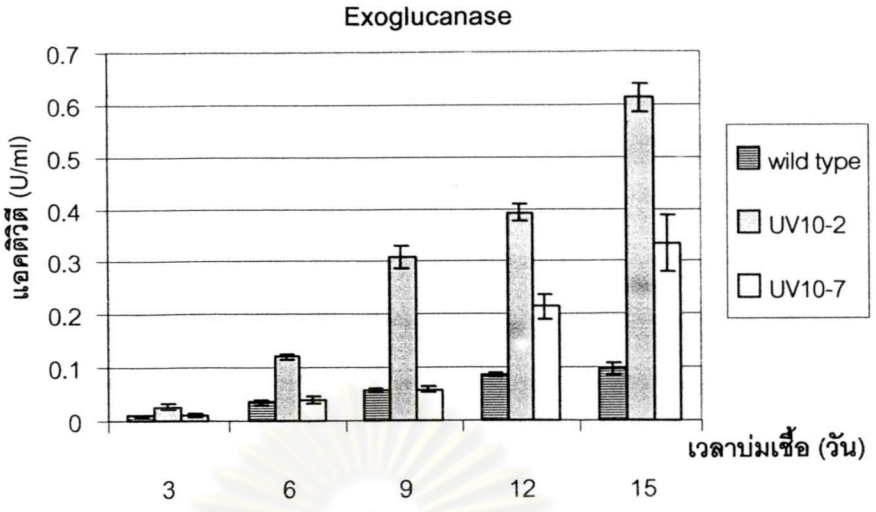
ในการทดลองเลี้ยงเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารสูตร Production ที่มี α-cellulose 3% (w/v) เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูเลส พบว่า แอคติวิตีของ exoglucanase ในแต่ละสายพันธุ์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเวลาผ่านไป โดยมีค่าสูงสุดที่เวลา 15 วันของการบ่มเชื้อ สายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีของ exoglucanase ดีที่สุดคือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 โดยมีค่าแอคติวิตีเท่ากับ 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) (ภาพที่ 22 ก)

แอคติวิตีของ endoglucanase ในแต่ละสายพันธุ์จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปเช่นเดียวกับแอคติวิตีของ exoglucanase แอคติวิตีสูงสุดของทุกสายพันธุ์จะพบได้ที่เวลา 15 วันของการบ่มเชื้อ สายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีสูงคือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 โดยจะมีค่าสูงกว่าสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่วันที่ 3 ถึง วันที่ 12 ของการบ่มเชื้อ และมีค่าแอคติวิตีสูงสุดในวันที่ 15 คือมีค่าเท่ากับ 3.833 U/ml (0.585 U/mg protein) แต่ค่าแอคติวิตีนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากค่าแอคติวิตีในวันเดียวกันของ *Acrophialophora* sp. UV10-7 ที่มีค่าเท่ากับ 3.724 U/ml (0.593 U/mg protein) ในขณะที่ *Acrophialophora* sp. wild type มีแอคติวิตีของ endoglucanase ในวันที่ 15 เท่ากับ 1.737 U/ml (0.366 U/mg protein) (ภาพที่ 22 ข)

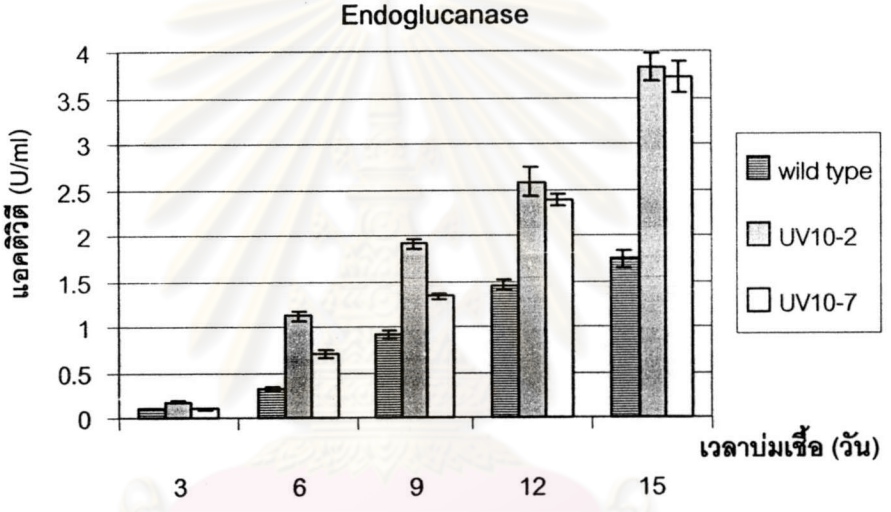
สำหรับแอคติวิตีของ β-glucosidase ในทั้ง 3 สายพันธุ์ มีค่าไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในช่วง 12 วันของการบ่มเชื้อ แต่ในวันที่ 15 แอคติวิตีของ β-glucosidase ที่ได้จาก *Acrophialophora* sp. UV10-2 และ *Acrophialophora* sp. UV10-7 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีแอคติวิตีเท่ากับ 0.084 และ 0.089 U/ml (0.013 และ 0.014 U/mg protein) ตามลำดับ แต่แอคติวิตีของ β-glucosidase ในวันที่ 15 ของ *Acrophialophora* sp. wild type มีค่าลดลงจากวันที่ 12 อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีแอคติวิตีเท่ากับ 0.03 U/ml (0.001 U/mg protein) ซึ่งไม่ต่างจากวันที่ 3 คือ 0.05 U/ml (0.003 U/mg protein) (ภาพที่ 22 ค)

จากผลการทดลองที่ได้นี้จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ที่มีแอคติวิตีของเซลลูเลสทั้งสามองค์ประกอบดีที่สุด คือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 จึงเลือกสายพันธุ์นี้ไปศึกษาการเจริญในอาหารเหลวเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตเซลลูเลสต่อไป

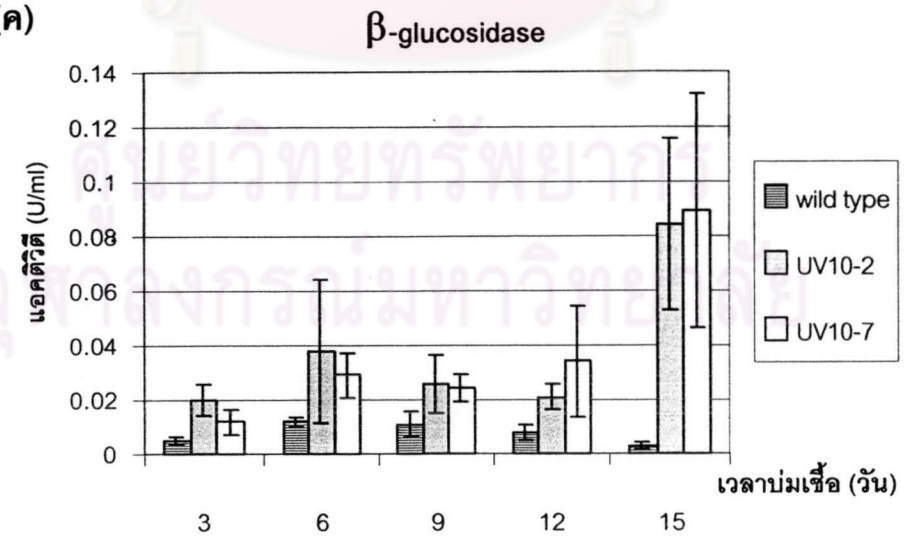
(ก)



(ข)



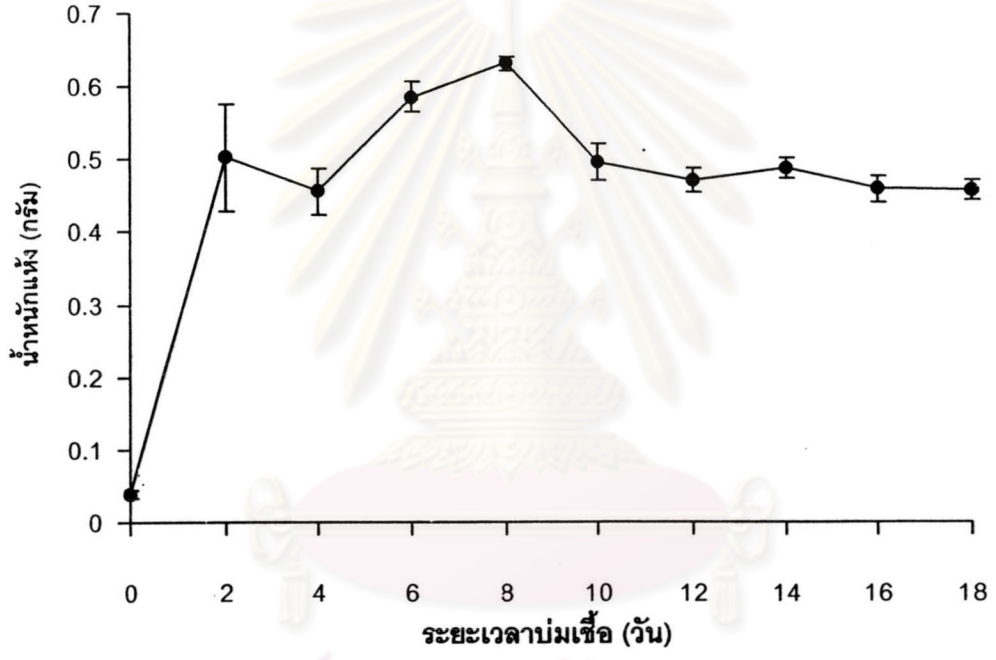
(ค)



ภาพที่ 22 แอคติวิตีของเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. ทั้งสามสายพันธุ์

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

เมื่อนำข้อมูลจากผลการเจริญเติบโตของ *Acrophialophora* sp. UV10-2 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร PDB มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของของเส้นใย ณ วันต่างๆ (ภาพที่ 23) พบว่าเชื้อรามีการเจริญเติบอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกของการบ่มเชื้อ จากนั้นค่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยลดลงในวันที่ 4 และค่อยๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 6 จนถึงในวันที่ 8 จากนั้นค่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยลดลงและคงที่ในช่วงวันที่ 10-18 ของการบ่มเชื้อ โดยมีค่า maximum specific growth rate เท่ากับ 0.7496 ต่อวัน

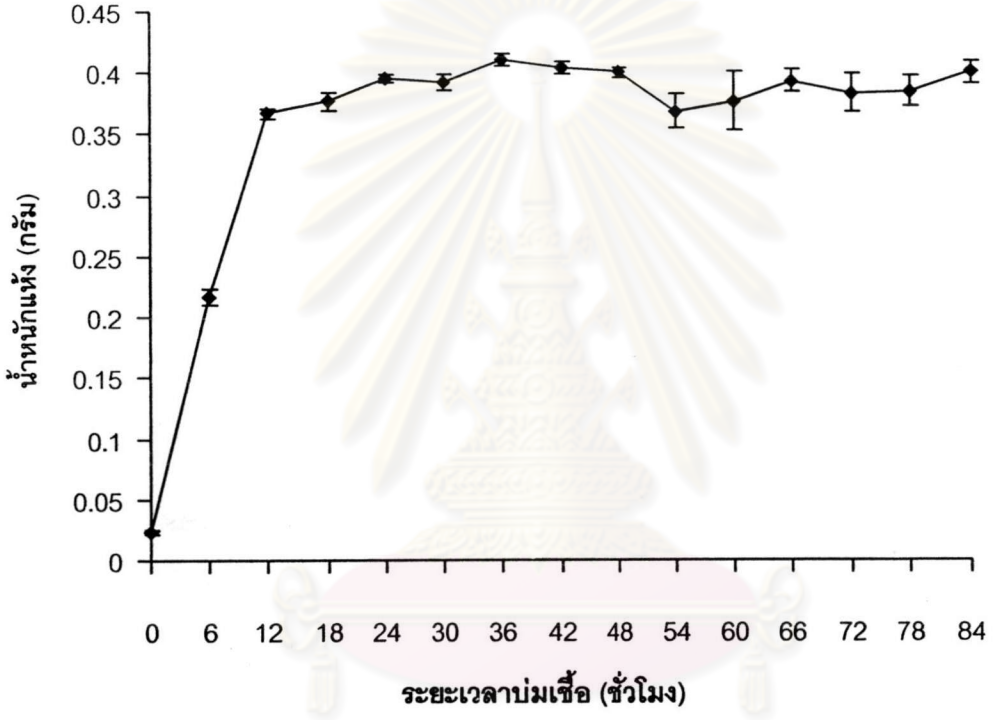


ภาพที่ 23 กราฟการเจริญเติบโตของ *Acrophialophora* sp. UV10-2 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร PDB

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

9. **การศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์**

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของเซลล์เทียบกับเวลา (ภาพที่ 24) พบว่า *K. marxianus* NRRL Y-1109 มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการบ่มเชื้อ จากนั้นจึงเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่ในชั่วโมงที่ 18 และมีค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์คงที่ตลอดจนถึงชั่วโมงที่ 84 ค่า maximum specific growth rate เท่ากับ 0.2301 ต่อชั่วโมง



ภาพที่ 24 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของ *K. marxianus* NRRL Y-1109 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร YMB

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. การหาความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการหมัก

จากผลการทดลองเลี้ยงยีสต์ *K. marxianus* NRRL Y-1109 ในอาหารสูตร YMB ที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 5% (w/v) เป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ $1x10^9$ และ $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และอุณหภูมิต่างกันคือ 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด คือ $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดในวันที่ 1 ของการหมัก คือมีค่าเท่ากับ 0.50 กรัมต่อกรัมสับสเตรท (กลูโคส) จากนั้นผลผลิตเอทานอลมีค่าค่อนข้างคงที่ (ไม่ต่างกันอย่างนัยสำคัญ) ตลอดช่วงวันที่ 2 ถึง วันที่ 7 (ภาพที่ 25)

สำหรับความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ และ $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 25) พบว่า ผลผลิตเอทานอลที่ได้ในวันที่ 1-7 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าผลผลิตเอทานอลอยู่ในช่วง 0.40-0.42 กรัมต่อกรัมสับสเตรท เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าผลผลิตเอทานอลอยู่ในช่วง 0.37-0.41 กรัมต่อกรัมสับสเตรท

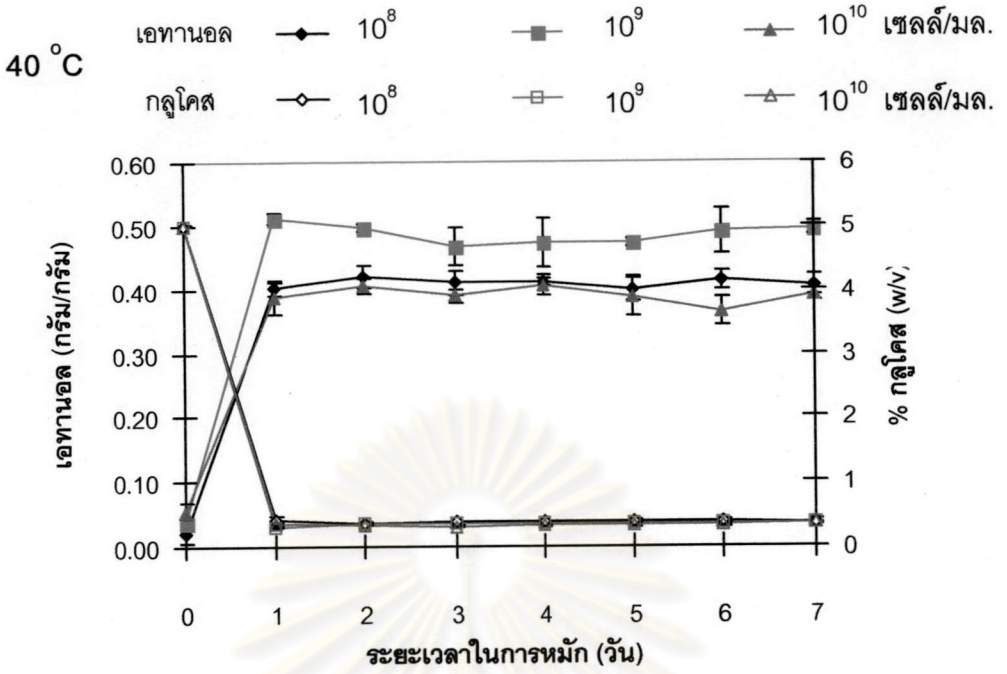
ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 25) ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด คือ $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ผลผลิตเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 1 วันหลังจากเริ่มหมัก โดยมีค่าเท่ากับ 0.49 กรัมต่อกรัมสับสเตรท ซึ่งไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับผลผลิตเอทานอลที่ได้การหมักโดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นเดียวกันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ผลผลิตเอทานอลรองลงมา คือ 0.40 กรัมต่อกรัมสับสเตรท ที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้จากการหมัก 1 วัน สำหรับความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ผลผลิตเอทานอลน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นค่าอื่น คือ ให้ผลผลิตสูงสุดในวันที่ 5 ของการหมัก โดยมีค่าเท่ากับ 0.38 กรัมต่อกรัมสับสเตรท

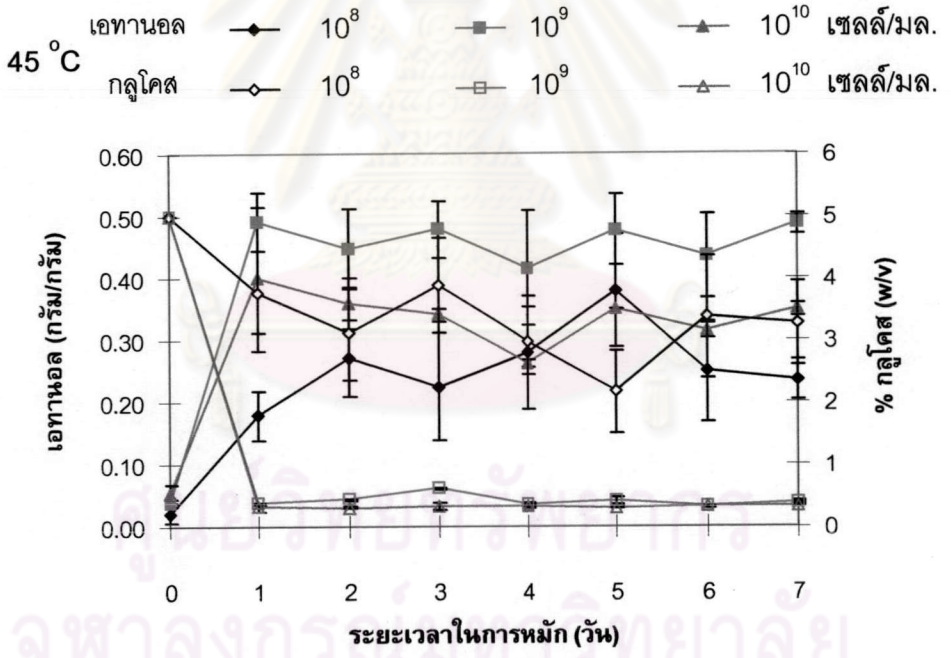
ปริมาณกลูโคสที่เหลือซึ่งได้จากการวัดด้วยวิธี DNS Assay มีค่าแปรผันกลับกับผลผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้น คือกลูโคสลดลงในขณะที่มีเอทานอลเพิ่มมากขึ้น ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^9$ และ $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าปริมาณกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็วภายในวันที่ 1 ของการหมัก โดยที่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีกลูโคสต่ำสุดในวันที่ 1 คือ 0.30% (w/v) และเมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณกลูโคสในช่วงวันที่ 1-7 จะต่ำสุด

โดยไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คือมีค่าอยู่ในช่วง 0.30-0.35% (w/v) ในขณะที่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณกลูโคสเริ่มมีค่าต่ำสุดในวันที่ 2 ของการหมักและมีค่าใกล้เคียงกันตลอดจนถึงวันที่ 7 คือมีค่าอยู่ในช่วง 0.35-0.38% (w/v) (ภาพที่ 25)

ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปริมาณกลูโคสลดลงได้ช้ากว่าและลดลงได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเห็นได้ชัดเจนเมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยปริมาณกลูโคสเหลือมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นค่าอื่น โดยในวันที่ 1-7 ของการหมักมีปริมาณกลูโคสอยู่ในช่วง 2.16-3.87% (w/v) และมีค่าต่ำสุดในวันที่ 5 ของการหมัก ในขณะที่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^9$ และ $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.33-0.60% (w/v) และ 0.30-0.33 % (w/v) ตามลำดับ และมีค่าต่ำสุดในวันที่ 6 และ 5 ของการหมัก ตามลำดับ (ภาพที่ 25)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





ภาพที่ 25 กราฟแสดงปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักและกลูโคสที่เหลือ โดยใช้ยีสต์ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร YMB กลูโคส 5% (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส (แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)

จากการนับจำนวนเซลล์ด้วยการใช้ haemacytometer ผลการเจริญเติบโตของยีสต์เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกันในการหมักพบว่า ทุกความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้นมีการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ดีกว่าการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเห็นได้ตั้งแต่วันที่ 1 ของการหมัก (ภาพที่ 26) เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 1 ของการหมัก ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีจำนวนเซลล์ $0.92 x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีจำนวนเซลล์ $0.21 x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีจำนวนเซลล์ $2.27 x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีจำนวนเซลล์ $1.43 x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นค่านี้จะมีการเพิ่มของจำนวนเซลล์รวดเร็วกว่าการใช้ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นค่าอื่น

แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส จำนวนเซลล์ที่นับได้จะเริ่มมีค่าต่างกันในวันที่ 2 ของการหมัก คือ $5.57 x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรสำหรับที่ 40 องศาเซลเซียส และ $5.03 x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร สำหรับที่ 45 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร การเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์เป็นไปได้น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นค่าอื่นทั้งในการเลี้ยงที่สองอุณหภูมิดังกล่าว

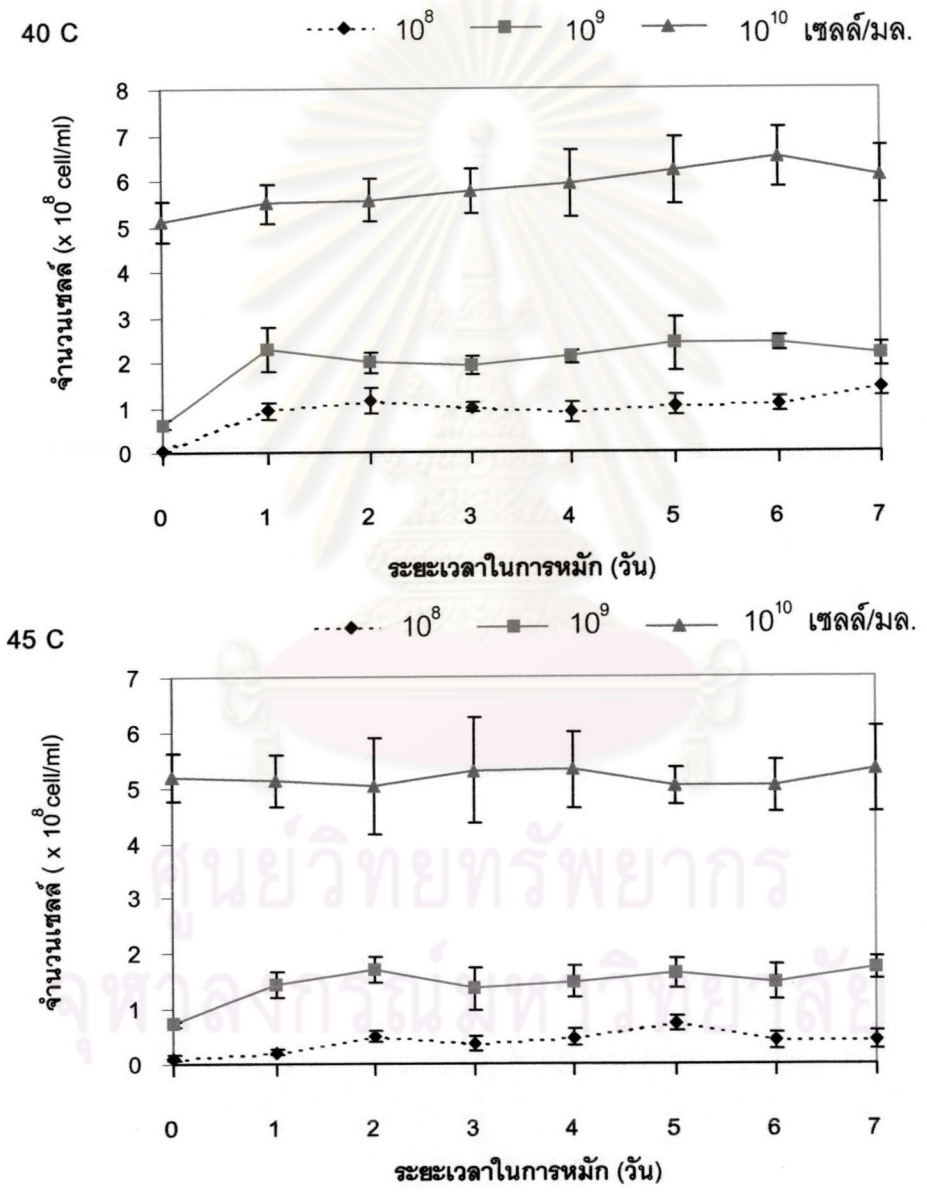
สำหรับค่า pH ของน้ำหมักในการเลี้ยงยีสต์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ และ $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ค่า pH มีค่าลดลงและคงที่เมื่อเวลาผ่านไป โดยความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าลดลงจาก 4.88 ในวันที่ 0 ไปเป็น 4.57 ในวันที่ 1 และความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าลดลงจาก 4.60 ในวันที่ 0 ไปเป็น 4.17 ในวันที่ 1 ซึ่งที่ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นนี้มีการลดลงของ pH อย่างมากที่สุดเมื่อเทียบกับค่า pH ในน้ำหมักที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นค่าอื่น

แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ค่า pH มีค่าเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 โดยเริ่มเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 คือ เพิ่มจาก 4.45 ในวันที่ 0 ไปเป็น 4.50 ในวันที่ 2 และมีค่าค่อนข้างคงที่เช่นนี้ตลอดไปจนถึงวันที่ 7

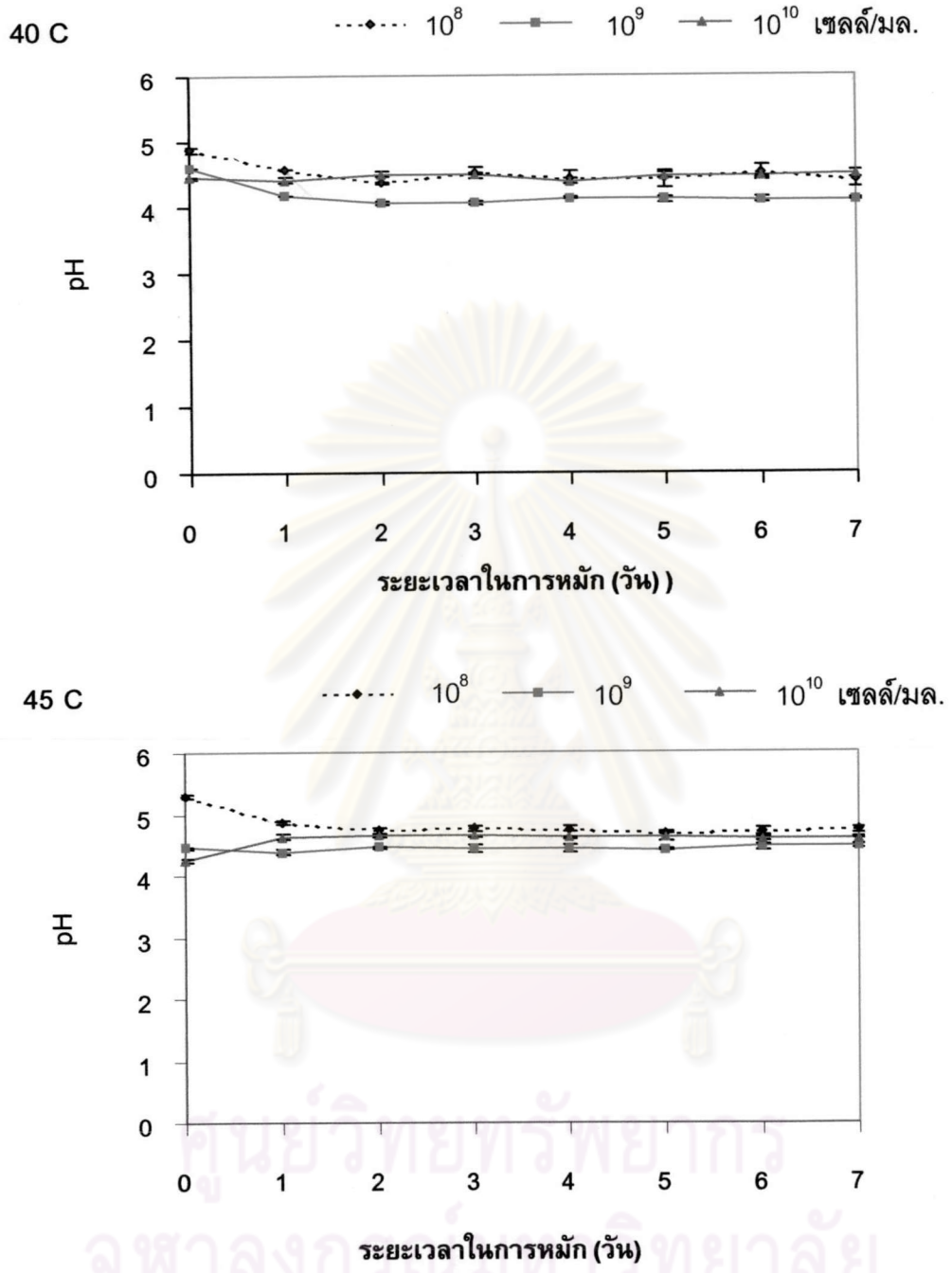
สำหรับในการเลี้ยงยีสต์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีการลดลงของ pH ในช่วง 2 วันแรกของการหมัก (ลดลงจาก 5.29 ในวันที่ 0 ไปเป็น 4.86 และ 4.73 ในวันที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) จากนั้นค่า pH ก็จะคงที่ตลอดจนถึงวันที่ 7 เช่นเดียวกับเมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^9$ เซลล์ต่อ

มิลลิลิตร ที่มีการลดลงของค่า pH ในช่วงวันที่ 1 (ลดลงจาก 4.46 ในวันที่ 0 ไปเป็น 4.39 ในวันที่ 1) จากนั้นมีค่า pH มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและคงที่ตลอดจนถึงวันที่ 7

ส่วนค่า pH ที่ได้จากน้ำหมักเมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น $1x10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 คือ จาก 4.25 ไปเป็น 4.63 ในวันที่ 1 และค่าจึงคงที่ตลอดช่วงของการหมักเช่นเดียวกับที่พบเมื่อเลี้ยงที่ 40 องศาเซลเซียสโดยใช้ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นเดียวกัน ดังภาพที่ 27



ภาพที่ 26 กราฟแสดงจำนวนเซลล์ในน้ำหมัก เมื่อใช้ยีสต์ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร YMB กลูโคส 5% (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส
(แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)



ภาพที่ 27 กราฟแสดงค่า pH ของน้ำหมัก เมื่อใช้ยีสต์ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร YMB กลูโคส 5% (w/v) ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส
(แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)

11. การหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

11.1 <u>การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส</u>

ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในระดับฟลาสก์ 1 ลิตร สำหรับใช้ในการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องในระดับฟลาสก์ สายพันธุ์ที่เลือกนำมาผลิตเซลลูเลส คือ *Acrophialophora* sp. UV10-2 เนื่องจากมีค่าแอคติวิตีที่ดีของ exoglucanase endoglucanase และ β-glucosidase seed culture ที่ใช้เป็นหัวเชื้อมีอายุ 2 วัน ซึ่งอยู่ในช่วง log phase และมีการเจริญเติบโตสูงสุด เวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์ คือ 15 วัน ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ได้แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าแอคติวิตีของเซลลูเลสที่ใช้ในการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง

เอนไซม์	แอคติวิตี	
	U/ml	U/mg protein
Exoglucanase	0.293 - 0.358	0.057 – 0.069
Endoglucanase	2.324 - 2.420	0.449 - 0.465
β-glucosidase	0.035 – 0.050	0.006 – 0.010

นอกจากนี้ยังพบว่า crude enzyme ที่ผลิตได้มีแอคติวิตีของไซแลนเนสด้วย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.423-0.494 U/ml หรือคิดเป็นค่า specific activity เท่ากับ 0.082-0.091 U/mg protein

11.2 <u>การปรับสภาพพืช (Pretreatment)</u>

ผลการปรับสภาพพืชด้วยวิธีทางกายภาพและทางเคมี มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบของชีวมวลที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการปรับสภาพซึ่งได้แก่ ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (เทียบต่อหน่วยน้ำหนักแห้งของพืช) ดังในตารางที่ 7 ถึง 9

ปริมาณเซลลูโลสในวัชพืชทั้ง 10 ชนิดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการปรับสภาพด้วยการตัด บด และแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10% (w/v) วัชพืชที่มีค่าความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลสก่อนและหลังการปรับสภาพมากที่สุดคือ *P. purpureum* โดยที่ก่อนปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 34.60% และหลังปรับสภาพมีค่าเท่ากับ 67.71% (เพิ่มขึ้น 95.69%) รองลงมาคือ *C. aquatica* โดยที่ก่อนปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลส

เท่ากับ 33.16% และหลังปรับสภาพมีค่าเท่ากับ 64.53% (เพิ่มขึ้น 94.60%) ส่วนวัชพืชที่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเซลลูโลสน้อยที่สุดคือ *T. maxima* โดยที่ก่อนปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 39.81% และหลังปรับสภาพมีค่าเท่ากับ 60.48% (เพิ่มขึ้น 51.92%)

ในทางตรงกันข้าม ปริมาณเฮมิเซลลูโลสในวัชพืชทั้ง 10 ชนิดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการปรับสภาพ วัชพืชที่มีค่าความแตกต่างของปริมาณเฮมิเซลลูโลสก่อนและหลังการปรับสภาพมากที่สุดคือ *P. polystachyon* โดยที่ก่อนปรับสภาพมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสเท่ากับ 27.46% และหลังปรับสภาพมีค่าเท่ากับ 10.10% (ลดลง 63.22%) รองลงมาคือ *C. aquatica* โดยที่ก่อนปรับสภาพมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสเท่ากับ 34.21% และหลังปรับสภาพมีค่าเท่ากับ 13.85% (ลดลง 59.21%) ในขณะที่วัชพืชที่มีการลดลงของปริมาณเฮมิเซลลูโลสหลังการปรับสภาพน้อยที่สุดคือ *T. maxima* โดยที่ก่อนปรับสภาพมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสเท่ากับ 26.72% และหลังปรับสภาพมีค่าเท่ากับ 17.38% (ลดลง 34.96%)

สำหรับปริมาณลิกนินต่อหน่วยน้ำหนักแห้งในวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ก่อนและหลังการปรับสภาพส่วนใหญ่มีค่าคงที่ บางชนิดมีค่าเพิ่มขึ้น และในบางชนิดมีค่าลดลง วัชพืชที่มีปริมาณลิกนินคงที่คือ *I. cylindrica* *P. maximum* *P. polystachyon* *P. purpureum* และ *S. spontaneum* วัชพืชที่มีปริมาณลิกนินเพิ่มขึ้นมี 2 ชนิด คือ *P. karka* ที่มีปริมาณลิกนินก่อนปรับสภาพเท่ากับ 11.03% และหลังปรับสภาพเท่ากับ 12.39% โดยมีค่าเพิ่มขึ้น 12.33% และ *T. angustifolia* ที่มีปริมาณ ลิกนินก่อนปรับสภาพเท่ากับ 10.22% และหลังปรับสภาพเท่ากับ 11.82% โดยมีค่าเพิ่มขึ้น 15.66%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ปริมาณเซลลูโลส (%) ก่อนและหลังการปรับสภาพ

ชนิดวัชพืช	ปริมาณเซลลูโลส* (%)		% ความแตกต่าง
	ก่อนปรับสภาพ	หลังปรับสภาพ	
Coix aquatica	33.16	64.53	94.60
Imperata cylindrica	37.21	67.79	82.18
Panicum maximum	39.39	68.27	73.32
Pennisetum polystachyon	38.69	71.17	83.95
Pennisetum purpureum	34.6	67.71	95.69
Phragmites karka	37.83	64.48	70.45
Saccharum spontaneum	42.23	67.33	59.44
Sorghum propinquum	33.8	65.48	93.73
Thysanolaena maxima	39.81	60.48	51.92
Typha angustifolia	32.03	55.29	72.62

ตารางที่ 8 ปริมาณเฮมิเซลลูโลส (%) ก่อนและหลังการปรับสภาพ

ชนิดวัชพืช	ปริมาณเฮมิเซลลูโลส* (%)		% ความแตกต่าง
	ก่อนปรับสภาพ	หลังปรับสภาพ	
Coix aquatica	34.21	13.85	59.51
Imperata cylindrica	32.23	15.89	50.70
Panicum maximum	28.31	11.98	57.68
Pennisetum polystachyon	27.46	10.1	63.22
Pennisetum purpureum	28.44	15.84	44.30
Phragmites karka	30.52	13.13	56.98
Saccharum spontaneum	31.91	15.24	52.24
Sorghum propinquum	30.8	14.11	54.19
Thysanolaena maxima	26.72	17.38	34.96
Typha angustifolia	27.66	14.09	49.06

ตารางที่ 9 ปริมาณลิกนิน (%) ก่อนและหลังการปรับสภาพ

ชนิดวัชพืช	ปริมาณลิกนิน* (%)		% ความแตกต่าง
	ก่อนปรับสภาพ	หลังปรับสภาพ	
Coix aquatica	6	4.32	28.00
Imperata cylindrica	8.21	8.1	1.34
Panicum maximum	10.65	10.43	2.07
Pennisetum polystachyon	10.56	9.73	7.86
Pennisetum purpureum	6.84	8.09	-18.27
Phragmites karka	11.03	12.39	-12.33
Saccharum spontaneum	8.3	8.29	0.12
Sorghum propinquum	8.15	6.49	20.37
Thysanolaena maxima	14.44	12.43	13.92
Typha angustifolia	10.22	11.82	-15.66

*เทียบต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง

11.3 <u>การเตรียมหัวเชื้อยีสต์</u>

จากผลการเจริญเติบโตของยีสต์ *K. marxianus* NRRL Y-1109 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YMB พบว่ามีการเจริญเติบโตสูงสุดภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมงหลังการบ่มเชื้อ จึงใช้เป็นเวลาที่เก็บเชื้อสำหรับนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการหมัก หัวเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักวัชพืชทั้ง 10 ชนิด มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง $3.5x10^9$ ถึง $4.0x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

11.4 <u>การหมักในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร</u>

ผลการหมักวัชพืช 10 ชนิด ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร แสดงอยู่ในค่าของผลผลิตเอทานอลที่ได้ ปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ในน้ำหมักทั้งน้ำตาลรีดิวซ์ กลูโคส เซลโลไบโอส และไซโลส จำนวนเซลล์ยีสต์ ค่า pH ของน้ำหมัก รวมถึงปริมาณกากพืชที่เหลือจากการย่อยสลาย

วัชพืชที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดคือ *C. aquatica* โดยมีผลผลิตเอทานอลสูงสุดที่เวลา 7 วันของการหมัก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.9 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 0.16 กรัมต่อกรัม สับสเตรท (%conversion = 48.48%) รองลงมาคือ *S. spontaneum* *P. polystachyon* และ

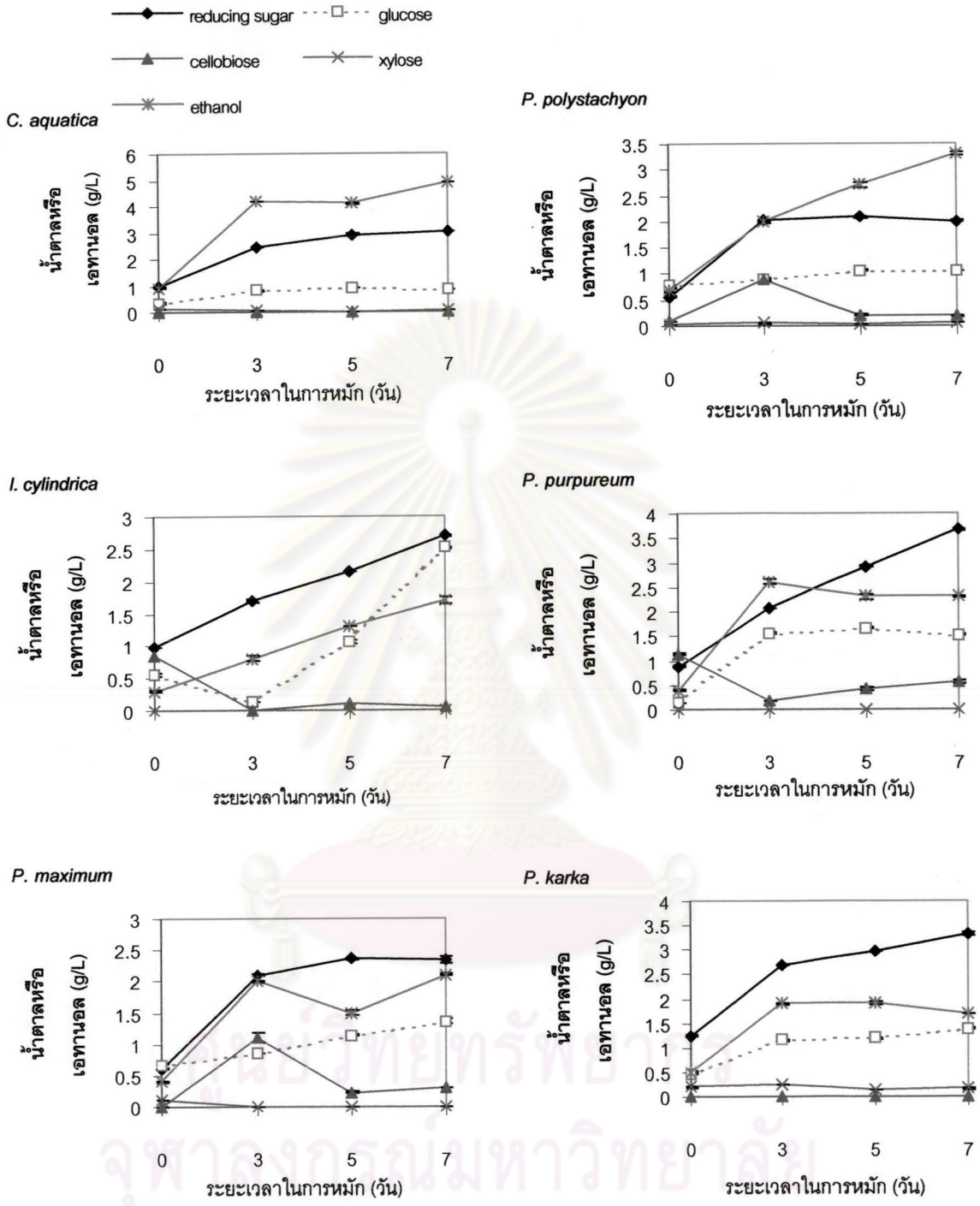
S. propinquum ที่มีผลผลิตเอทาน อลเท่ากับ 3.4 3.3 และ 3.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนวัชพืชที่ให้ผลผลิตเอทานอลต่ำสุดคือ *T. maxima* โดยมีผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 1.7 กรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 0.06 กรัมต่อกรัมสับสเตรท (%conversion = 19.35%)

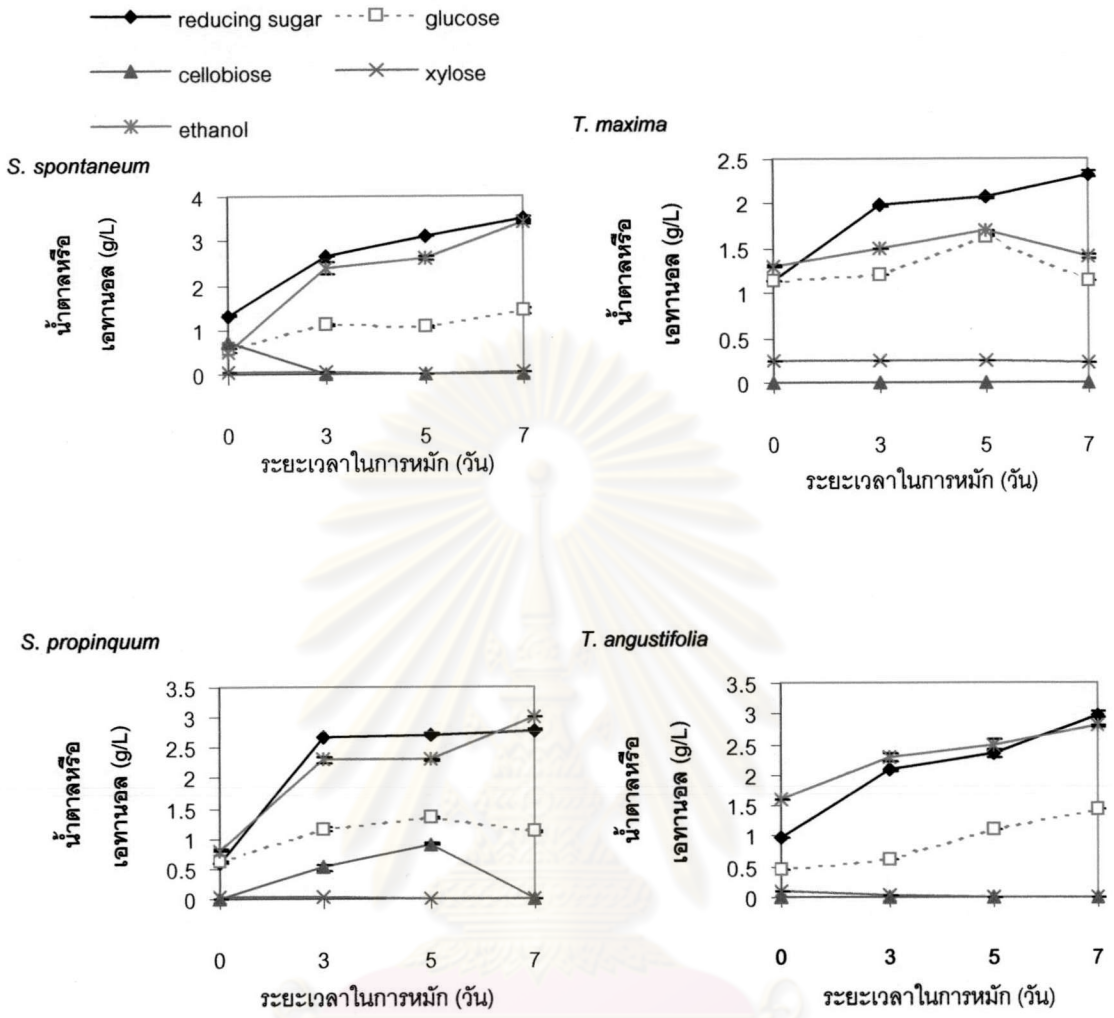
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมักของวัชพืชทุกชนิดจะเพิ่มขึ้นในช่วง 3 วันแรกของการหมัก จากนั้นก็จะคงที่ในวัชพืชบางชนิด ได้แก่ *C. aquatica P. maximum P. polystachyon S. propinquum* แต่ในน้ำหมักของวัชพืชบางชนิด ได้แก่ *I. cylindrica P. purpureum P. karka S. spontaneum T. maxima* และ *T. angustifolia* มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 7 ของการหมัก

สำหรับปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลืออยู่น้อยที่สุดพบได้ใน *C. aquatica* โดยมีปริมาณต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับวัชพืชชนิดอื่น คือ มีปริมาณเท่ากับ 0.82 0.92 0.83 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 3 5 และ 7 วันของการหมัก ตามลำดับ ส่วนวัชพืชที่มีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ในน้ำหมักมากที่สุด *P. purpureum* โดยมีปริมาณเท่ากับ 1.55 1.66 1.52 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 3 5 และ 7 วันของการหมัก ตามลำดับ

สำหรับปริมาณเซลโลไบโอสและไซโลส ในน้ำหมักของวัชพืชบางชนิดไม่พบว่ามีปริมาณเซลโลไบโอส หรือไซโลส ส่วนในน้ำหมักของวัชพืชบางชนิดที่มีน้ำตาลทั้ง 2 อย่างนี้ หรือมีอย่างใดอย่างหนึ่งก็จะพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณเซลโลไบโอสจะลดลง แต่ปริมาณไซโลสจะคงที่ตลอดช่วงของการหมัก โดยปริมาณไซโลสที่ตรวจพบนั้นมีปริมาณต่ำมาก ปริมาณเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ กลูโคส เซลโลไบโอส และไซโลส แสดงในภาพที่ 28

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


reducing sugar
glucose
cellobiose
xylose
ethanol
C. aquatica
P. polystachyon
I. cylindrica
P. purpureum
P. maximum
P. karka
น้ำตาลหรือเอทานอล (g/L)
ระยะเวลาในการหมัก (วัน)



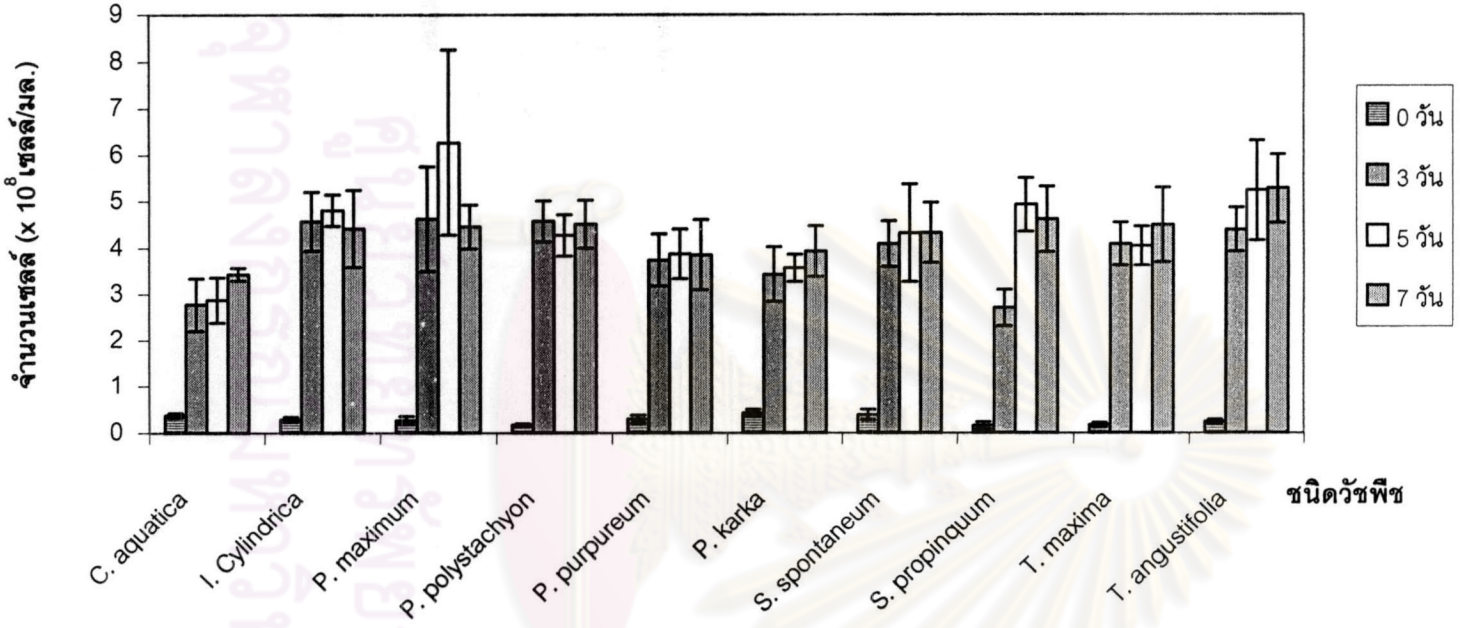
ภาพที่ 28 ปริมาณเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ กลูโคส เซลโลไบโอส และไซโลสที่มีอยู่ในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด (แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)

จากผลจำนวนเซลล์ยีสต์ที่นับได้ในน้ำหมักโดยใช้ haemacytometer ดังภาพที่ 29 พบว่า ในน้ำหมักของวัชพืชทุกชนิดยีสต์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 3 วันแรกของการหมัก น้ำหมักของวัชพืชบางชนิดจะมีจำนวนเซลล์ค่อยๆ เพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 5 และ 7 ของการหมัก ในขณะที่น้ำหมักของ วัชพืชบางชนิดมีจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นอีกจากวันที่ 5 ยกเว้นใน *P. maximum* ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 ของการหมัก ซึ่งพบว่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับวัชพืชชนิดอื่น โดยมีจำนวนเซลล์ยีสต์เท่ากับ 6.27×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการหมัก ส่วนน้ำหมักของวัชพืชที่พบว่ามีจำนวนเซลล์ยีสต์อยู่น้อยที่สุดคือ *C. aquatica* ซึ่งมีจำนวนเซลล์ยีสต์เท่ากับ 3.44×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก

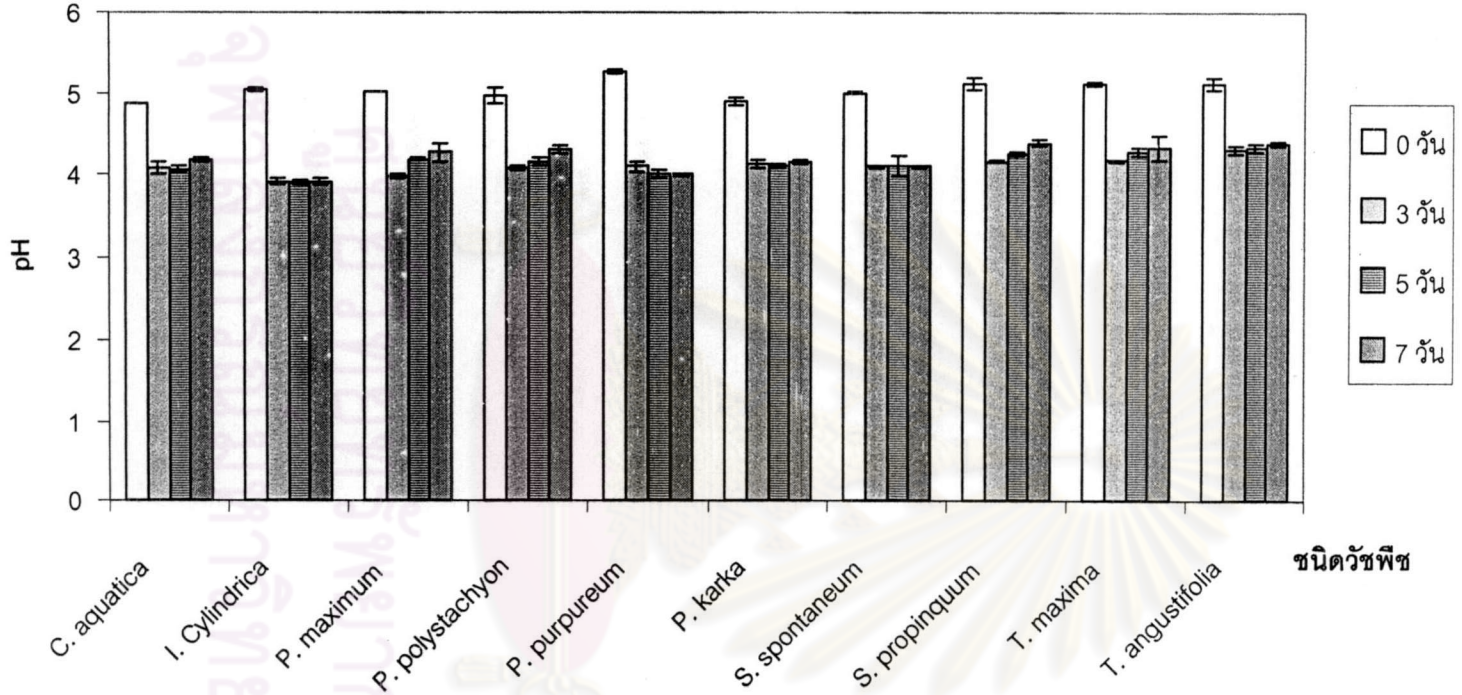
ค่า pH ในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด แสดงในภาพที่ 30 จากผลที่ได้พบว่าค่า pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 3 ของการหมัก โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.91-4.30 จากนั้นก็จะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาที่หมัก วัชพืชที่มีค่า pH ในน้ำหมักต่ำสุดคือ *I. cylindrica* โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.90-3.91 ในวันที่ 3-7 ของการหมัก ส่วนวัชพืชที่มีค่า pH ในน้ำหมักสูงสุดคือ *T. angustifolia* โดยมีค่าอยู่ในช่วง 4.30-4.37 ในวันที่ 3-7 ของการหมัก

สำหรับปริมาณกากพืชที่เหลือจากการย่อยสลายเป็นค่าประมาณที่ได้จากการหักลบน้ำหนักเซลล์ยีสต์ออก จากผลการทดลองที่ได้พบว่า กากของวัชพืชทุกชนิดจะลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 3 วันแรกของการหมัก จากนั้นบางชนิดก็มีค่าคงที่ตั้งแต่วันที่ 3 จนถึงวันที่ 7 ของการหมัก แต่ส่วนใหญ่แล้วจะเริ่มคงที่ในวันที่ 5 ของการหมัก วัชพืชที่มีการลดลงของกากพืชมากที่สุดคือ *C. aquatica* ซึ่งลดลงจาก 3 กรัม (น้ำหนักแห้ง) เหลือ 0.5133 กรัมในวันที่ 3 ของการหมัก หรือลดลงเท่ากับ 82.89% ส่วนวัชพืชที่มีการลดลงของกากพืชน้อยที่สุดคือ *P. karka* โดยลดลงจาก 3 กรัม (น้ำหนักแห้ง) เหลือ 1.7728 กรัมในวันที่ 3 ของการหมัก หรือลดลงเท่ากับ 40.91% (ภาพที่ 31)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

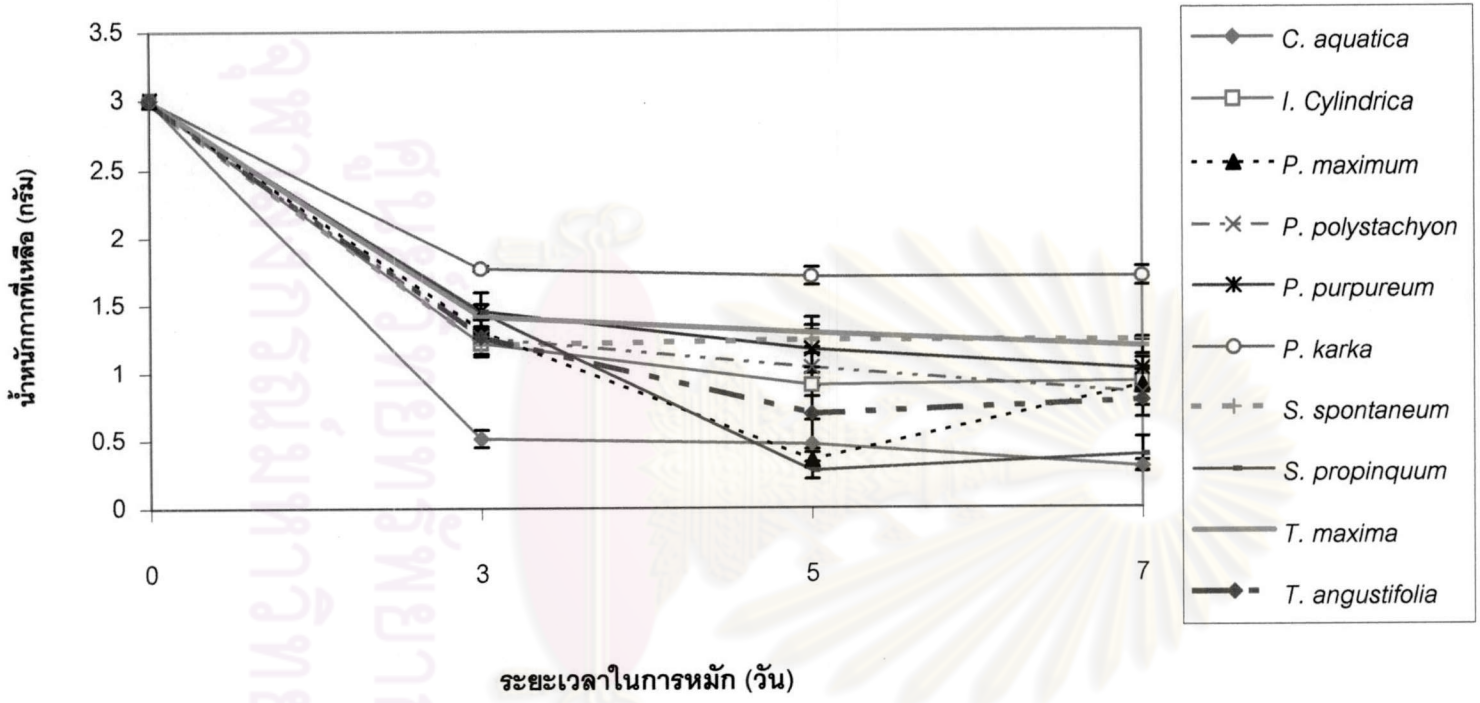


ภาพที่ 29 จำนวนเซลล์ยีสต์ในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ซึ่งได้จากการนับด้วย haemacytometer (แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)



ภาพที่ 30 ค่า pH ในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด

(แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)



ภาพที่ 31 ปริมาณกากพืชที่เหลือโดยประมาณในน้ำหมักของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด
(แถบความผิดพลาด = ค่า Standard Deviation ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05)

11.5 การหมักในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร (batch process)

วัชพืชที่เลือกมาหมักในระดับถังหมักเป็นเวลา 7 วัน คือ *C. aquatica* เนื่องจากให้ผลผลิตเอทานอลในการหมักระดับฟลาสก์สูงสุด การหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องใช้เอนไซม์เซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. UV10-2 ซึ่งมีค่าแอคติวิตีของ exoglucanase เท่ากับ 0.320 U/ml (0.063 U/mg protein) ค่าแอคติวิตีของ endoglucanase เท่ากับ 2.146 U/ml (0.569 U/mg protein) และค่าแอคติวิตีของ β-glucosidase เท่ากับ 0.045 U/ml (0.012 U/mg protein) นอกจากนี้ใน crude enzyme ยังมีค่าแอคติวิตีของไซแลนเนสเท่ากับ 0.464 U/ml (0.086 U/mg protein) หัวเชื้อยีสต์ที่ใช้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 3.5×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 10 โดยเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลที่ได้จากถังหมักกับผลผลิตเอทานอลที่ได้จากระดับฟลาส์กขนาด 250 มิลลิลิตร

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

ผลผลิตเอทานอล (ระดับฟลาสก์)[a]			ผลผลิตเอทานอล (ระดับถังหมัก)[b]		
g/L	g/g	%conversion	g/L	g/g	%conversion
4.9	0.16	48.48	8.8	0.18	54.55

a = สับสเตรท 3% (w/v)

b = สับสเตรท 5% (w/v)

g/L = กรัมต่อลิตร g/g = กรัมต่อกรัมสับสเตรท

%conversion เทียบจากผลผลิตเอทานอลตามทฤษฎี

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือคือ 4.46 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีกลูโคส 2.51 กรัมต่อลิตร เซลโลไบโอส 0.11 กรัมต่อลิตร แต่ไม่พบว่ามีน้ำตาลไซโลส ค่า pH ของน้ำหมักมีค่าเท่ากับ 4.24 และมีจำนวนเซลล์ยีสต์เท่ากับ 5.62×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

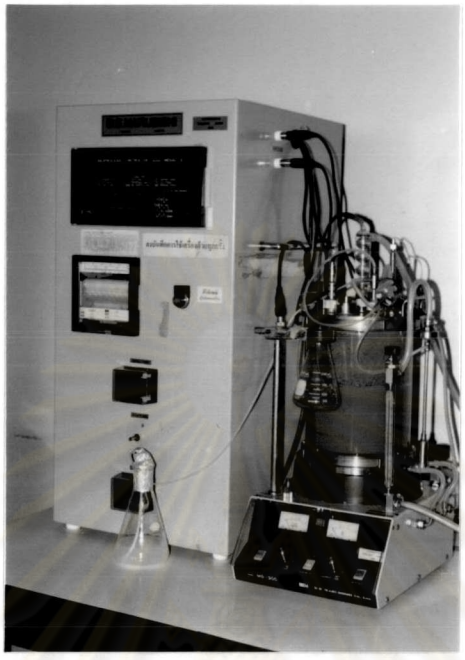
11.6 การกลั่น

น้ำหมักที่นำมากลั่นได้จากการหมักในระดับถังหมัก โดยนำมากลั่นแบบ Simple distillation ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส และเก็บของเหลวที่ได้จากการกลั่นที่เวลา 15 นาที หลังจากเริ่มมีการกลั่นตัว จากการกลั่นพบว่า เมื่อใช้น้ำหมักเริ่มต้นปริมาตร 400 มิลลิลิตร เมื่อกลั่นเป็นเวลา 15 นาที จะได้ของเหลวที่กลั่นได้ประมาณ 10 มิลลิลิตร ปริมาณเอทานอลหลังการกลั่นเพิ่มขึ้นถึง 11.02 เท่า ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 11

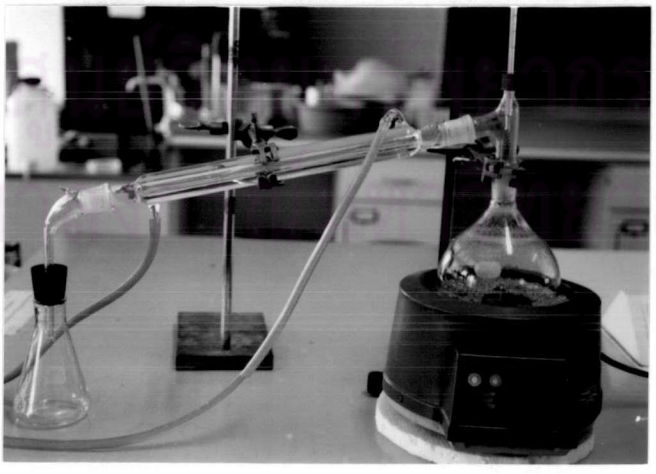
ตารางที่ 11 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลก่อนและหลังการกลั่นแบบ Simple distillation

ปริมาณเอทานอล ก่อนกลั่น (g/L)	ปริมาณเอทานอล หลังกลั่น (g/L)
8.8	96.48

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 32 การหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องในถังหมักขนาด 5 ลิตร (batch process)



ภาพที่ 33 การกลั่นแบบ Simple distillation