

## ส่วนที่ 2

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์  
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2554

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด)77.54

การผลิตเอทานอลและเอนไซม์โดยกระบวนการหมักจากผักตบชวา

Production of Ethanol and Enzyme by Fermentation from Water Hyacinth

อนุสิษฐ์ ธนะพิมพ์เมธา<sup>(1)</sup> เพ็ญจิตร์ ศรีนพคุณ<sup>(2)</sup> ชมพูนุช ล้ออิสระตระกูล<sup>(3)</sup>

Anusith Thanapimmetha<sup>(1)</sup> Penjit Srinophakun<sup>(2)</sup> Chompoonuch Loisaratrakul<sup>(3)</sup>

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผักตบชวาด้วยการหมักกับแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* เพื่อหาสภาวะในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ จากการศึกษาห้วงองค์ประกอบของเยื่อใยก่อนการปรับสภาพของผักตบชวาจะประกอบไปด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เท่ากับ 35.84 27.11 และ 8.33 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และเมื่อนำผักตบชวามาปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริก 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าองค์ประกอบของเยื่อใยมีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เท่ากับ 85.31 0.85 และ 1.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ จากนั้นนำผักตบชวาหลังผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริก และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาทำการศึกษหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยหมักกับแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* ที่มีเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยวัดความขุ่นของแบคทีเรียที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรอยู่ในช่วง 2.0-3.5 ซึ่งในการหาสภาวะของการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์นั้นใช้การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken โดยมีปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณของผักตบชวา 10-50 กรัมต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการหมัก 24-48 ชั่วโมง จากการออกแบบพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ คือ ปริมาณของผักตบชวา 10.16 กรัมต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิ 38.8 องศาเซลเซียส และเวลาในการหมัก 37.59 ชั่วโมง จากสภาวะดังกล่าวจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากสมการที่ได้จากการออกแบบเท่ากับ 9.47 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุหมัก และเมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมนี้ไปทำการทดลองจริงจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่าสมการจากการออกแบบเท่ากับ 4.01 เปอร์เซ็นต์ และวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสได้ 0.12 หน่วยต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มาทำการปรับความเข้มข้นโดยการระเหยน้ำออก จนมีค่าความหวานเป็น 15 องศาบริกซ์ แล้วไปทำการหมักเพื่อผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 จะได้ปริมาณเอทานอล 2.54 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับน้ำตาลกลูโคสที่ความหวานเดียวกันนั้นหมักยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 ได้เอทานอล 14.42 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำตาลที่

ได้จากผักตบชวามีปริมาณที่น้อยกว่ากลูโคสนั้น เนื่องจากน้ำตาลที่ได้จากการหมักผักตบชวาที่มีปริมาณกลูโคสที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคสที่ค่าความหวานเดียวกัน

**คำสำคัญ:** ผักตบชวา น้ำตาลรีดิวิซ์ *Clostridium acetobutylicum*

### ABSTRACT

The reducing sugar production from the submerged fermentation of water hyacinth with *Clostridium acetobutylicum* was studied for the optimal conditions. The components of water hyacinth by dry weight are cellulose 35.84%, hemicellulose 27.11% and lignin 8.33%. Water hyacinth was pretreated with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5% (w/w) and NaOH 10% (w/v). The results showed that, after the pretreatment, the compositions of water hyacinth were induced to cellulose 85.31%, hemicellulose 0.85% and lignin 1.01%. After that, the optimal condition for the reducing sugar production from water hyacinth using *clostridium acetobutylicum* was examined with inoculum size 10% by volume, in which the absorbance at 600 nm ranged between 2.0-3.5. This study employed the response surface Box-Behnken designs to optimize the conditions for reducing sugar production. The conditions were the content of pretreated water hyacinth (10-50 g/l of the medium), temperature (30-50 °C) and incubation time (24-48 hours). The optimal condition for reducing sugar production suggested by minitab program was the content of water hyacinth 10.16 g/l of the medium at 38.8 °C for 37.59 hours. The reducing sugar yield predicted from the statistical equation was 9.47% (g/g dry weight). The deviation value between the predicted model and the experimental results was 4.01%. Cellulase activity was found at 0.12 U/ml. Finally, the reducing sugar obtained from water hyacinth was concentrated to 15°Brix prior to fermented by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339. The result showed that the ethanol from fermentation of water hyacinth was 2.54 g/l, whereas those of directly glucose fermentation were 14.42 g/l. As a result, ethanol obtained from reducing sugar was less than glucose because the content of glucose from reducing sugar was lower than directly glucose fermentation at 15 °Brix.

**Keywords:** Water hyacinth, Reducing sugar, *Clostridium acetobutylicum*

<sup>(1)</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

Assistant Professor Anusith Thanapimmetha, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University.

<sup>(2)</sup> รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

Associate Professor Penjit Srinophakun, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University.

<sup>(3)</sup> นิสิตปริญญาโท สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

Miss Chompoonuch Loisaratrakul, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University