

## บทคัดย่อ

การขาดแคลนพลังงานเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยและโลกปัจจุบัน เนื่องจากน้ำมันจะหมดไปและส่งผลให้ราคาแพงขึ้น ไบโอดีเอทานอลเป็นพลังงานทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเนื่องจาก ไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมและยังสามารถผลิตได้จากวัสดุทางการเกษตร เซลลูโลสไลติกเอนไซม์เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส จึงได้มีการพัฒนานำมาใช้ประโยชน์ทางด้านผลิตไบโอดีเอทานอล จากคัดเลือกยีสต์และราที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์ โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างไปไม้ ดอกไม้ ผลไม้ และดิน รวมทั้งหมด 48 ตัวอย่าง จากจังหวัดชัยภูมิ คัดแยกยีสต์สายพันธุ์ *Pichia fabianii* 204-1 สามารถผลิตเอนไซม์คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูเลส และยีสต์ *Candida glabrata* S1-1 สามารถผลิตเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสได้สูง ส่วนเชื้อราสายพันธุ์ *Penicillium oxalicum* HS1-3 สามารถผลิตเอนไซม์เอนไซม์คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูเลส และเบต้ากลูโคซิเดสได้สูง เมื่อศึกษาความสามารถในการผลิตเซลลูโลสไลติกเอนไซม์จาก *P. fabianii* 204-1, *C. glabrata* S1-1 และ *P. oxalicum* HS1-3 โดยใช้ขานอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า *P. fabianii* 204-1 สามารถผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส ได้สูงสุดคือ 32.55 ยูนิตต่อมิลลิลิตร *Candida glabrata* S1-1 สามารถผลิตเอนไซม์บีต้ากลูโคซิเดสสูงสุดที่สุด คือ 17.98 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ *P. oxalicum* HS1-3 ผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสสูงสุด เบต้ากลูโคซิเดสได้ 217.59 U/ml และ 23.64 U/ml ตามลำดับ จากปรับสภาพขานอ้อยวิธีทางเคมีโดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับความร้อน 121°C เป็นเวลา 60 นาที ได้น้ำตาล 28.01 กรัมต่อลิตร เมื่อนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยวิธีทางเคมีมาแล้ว มาย่อยสลายด้วยเซลลูโลสไลติกเอนไซม์จากยีสต์และรา ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.513 กรัมต่อกรัมขานอ้อย หลังจากนั้นหมักร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* ได้เอทานอลสูงสุด คือ 0.290 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) เมื่อเลี้ยงยีสต์เป็นเวลานาน 10 วัน ดังนั้นการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ประเภทขานอ้อย เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับนำมาใช้ในการผลิตพลังงานทดแทนประเภทไบโอดีเอทานอลได้

**คำสำคัญ:** คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส บีต้ากลูโคซิเดส ขานอ้อย ไบโอดีเอทานอล

## Abstract

Insufficient energy is a major problem of Thailand and almost country in the world. Energy source is decline that result to high market price. Bioethanol is an environmentally friendly and renewable energy that can be produced from agricultural feed stocks. Cellulosic material is hydrolyzed to glucose by synergistically of carboxymethyl cellulase and  $\beta$ -glucosidase. Cellulolytic enzymes are industrially important hydrolytic enzyme and production economic of bioethanol. In this study, *Pichia fabianii* 204-1 which produced high carboxymethylcellulase, *Candida glabrata* S1-1 which high  $\beta$ -glucosidase and *Penicillium oxalicum* HS1-3 which high both carboxymethylcellulase and  $\beta$ -glucosidase were isolated from leaf, flower, fruit and soil samples. The cellulolytic enzyme productions were studied by using bagasse as substrate, carboxymethyl cellulase and  $\beta$ -glucosidase production from *P. fabianii* 204-1 and *C. glabrata* S1-1 was 32.55 and 17.98 units/ml, respectively. Both carboxymethyl cellulase and  $\beta$ -glucosidase production from *P. oxalicum* HS1-3 was 217.59 and 23.64 units/ml, respectively. After pretreatment of bagasse with 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 121°C, 60 min, reducing sugar was found 28.01 g/L. After cellulosic pretreatment, cellulolytic enzymes were added and incubated at 50°C for 72 h and then reducing sugar was found 0.513 g/g bagasse. The reducing sugar was fermented by *Saccharomyces cerevisiae* and bioethanol was detected 0.290 % (v/v) after 10 days of fermentation. Therefore, bioethanol could be produce as alternative energy from bagasse.

**Key words:** carboxymethyl cellulase,  $\beta$ -glucosidase, bagasse, bioethanol