การย่อยกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกเพื่อการเพาะเลี้ยงและการผลิตบิวทานอลของ *Clostridium* sp.

Hydrolysis of Defatted Soybean Meal for Cultivation and Butanol Production of *Clostridium* sp.

จิราพรรณ นามวงษ์

ฉัตรชัย อรรถบัญชา

ชวัลรัตน์ เชื้อวงษ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

HYDROLYSIS OF DEFATTED SOYBEAN MEAL FOR CULTIVATION AND BUTANOL PRODUCTION OF *Clostridium* sp.

JIRAPAN NAMWONG
CHATCHAI ATTHABANCHA
CHAWANRAT CHUEAWONG

A SPECIAL PROJECT REPORT SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BECHELOR OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
DEPRATMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การย่อยกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกเพื่อการเพาะเลี้ยงและการผลิตบิวทานอลของ *Clostridium* sp. Hydrolysis of Defatted Soybean Meal for Cultivation and Butanol Production of *Clostridium* sp.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจิราพรรณ นามวงษ์ รหัสนักศึกษา 58050725 นายฉัตรชัย อรรถบัญชา รหัสนักศึกษา 58050728 นางสาวชวัลรัตน์ เชื้อวงษ์ รหัสนักศึกษา 58050737
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ลินจง สุขลำภู ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ	
ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การย่อยกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกเพื่อการเพาะเลี้ยงและการผลิตบิวทานอลของ *Clostridium* sp. Hydrolysis of Defatted Soybean Meal for Cultivation and Butanol Production of *Clostridium* sp.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจิราพรรณ นามวงษ์ รหัสนักศึกษา 58050725 นายฉัตรชัย อรรถบัญชา รหัสนักศึกษา 58050728 นางสาวชวัลรัตน์ เชื้อวงษ์ รหัสนักศึกษา 58050737
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันได้ประสบปัญหาเกี่ยวกับปริมาณน้ำมันสำรองที่ลดลง จากการใช้น้ำมันที่เพิ่มขึ้นและจากการขาดแคลนพลังงานฟอสซิลในอนาคต จึงทำให้การผลิตบิวทานอล จากกระบวนการเพาะเลี้ยงอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล (Acetone–Butanol–Ethanol Fermentation, ABE) กลับมาได้รับความสนใจอีกครั้ง ในงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการนำกากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออก ซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือจากกระบวนการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองของโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในการผลิตตัวทำละลายอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยได้ทำการศึกษาองค์ประกอบของกากถั่วเหลือง ตลอดจนหาสภาวะในการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 0.073 ±0.000 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงขึ้นและนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงและการผลิต ABE ของ *Clostridium* G10 ได้ทำการศึกษาการหาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมแต่ละชนิด พบว่าเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 12 ยูนิตต่อกรัมถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมถั่วเหลือง เพคติเนสที่ความเข้มข้น 76 ยูนิตต่อกรัมถั่วเหลือง และเซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 0.183 ±0.001 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง โดยนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยมีการปรับความเข้มของน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 50 กรัมต่อลิตรด้วยน้ำตาลกลูโคส และอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร จากผลการเพาะเลี้ยงในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยมีการปรับความเข้มของน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 50 กรัมต่อลิตรด้วยน้ำตาลกลูโคส พบว่ามีปริมาณบิวทานอลและเอทานอลสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 1.64 ±0.38 และ 0.23 ±0.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการศึกษานี้ทำให้ทราบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ในการผลิตตัวทำละลายบิวทานอลและเอทานอลได้

คำสำคัญ : กากถั่วเหลือง, การย่อยด้วยเอนไซม์, กระบวนการเพาะเลี้ยง อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล, สภาวะไร้ออกซิเจน, *Clostridium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Hydrolysis of Defatted Soybean Meal for Cultivation and Butanol Production of *Clostridium* sp.			
Students	Miss.Jirapan	Namwong	Student ID	58050725
	Mr.Chatchai	Atthabancha	Student ID	58050728
	Miss.Chawanrat	Chueawong	Student ID	58050737
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)			
Department	Biology			
Faculty	Science			
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)			
Academic Year	2018			
Advisor	Asst. Prof. Vorapat Sanguanchaipaiwong, Ph.D.			

Abstract

Currently, there are problems regarding decreasing petroleum oil reserves due to increased oil consumption and the shortage of fossil energy. Butanol from acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation was earned great attention again. In this research, defatted dehull soybean meal, a byproduct from the industrial production process of soybean oil, has been used for the production of acetone, butanol and ethanol. To overcome the selection of enzyme selection, the composition of soybean meal was investigated. Thereafter, the selection of alpha-amylase, amyloglucosidase, pectinase and cellulase was studied with the optimal temperature (50 and 60 °C) for the maximum reducing sugar concentration. With alpha-amylase, amyloglucosidase, pectinase and cellulase at 50 °C, the concentration of 0.073 ±0.000 g/g soybean meal reducing sugar was achieved. Subsequently, to obtain higher reducing sugar concentration and be utilized as a carbon source in the cultivation and ABE production of *Clostridium* G10, the optimization of each enzyme concentration was investigated. As a result, the maximum reducing sugar amount of 0.183 ± 0.001 g/g soybean meal was obtained with alpha-amylase (12 U/g soybean meal) at 90 °C for 2 h and amyloglucosidase (0.4 U/g soybean meal), pectinase (76 U/g soybean meal) and cellulase (8 %v/v) at 50 °C for 48 h. Finally, the study of using reducing sugar from soybean meal as a carbon source in T6 medium was carried out. T6 medium with the addition of 50 g/L glucose was utilized as a control experiment, compared with T6 medium prepared 50 g/L reducing sugar-equivalent soybean meal hydrolyte and T6 medium composed of 50 g/L reducing sugar-equivalent from glucose combined with soybean meal hydrolyte. It was found that the highest amount of butanol and ethanol was 1.64 ± 0.38 and 0.23 ± 0.00 g/L., respectively, resulted from T6 medium with the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

mixture of glucose and soybean meal hydrolyte. In conclusion, soybean meal could be probably used for the production of biobutanol.

Keyword: Soybean meal, Enzyme hydrolysis, Acetone-butanol-ethanol fermentation, anaerobic condition, *Clostridium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ถ่ายทอดความรู้ให้คำปรึกษาในด้านวิชาการ ถ่ายทอดประสบการณ์ ตลอดจนให้คำแนะนำในด้านการแปลเอกสาร เอื้อเฟื้อเวลาและสถานที่ในการร่วมแลกเปลี่ยนความคิดเห็นระหว่างการทำโครงงานพิเศษ ใส่ใจเป็นอย่างดีในทุกขั้นตอน ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องในเล่มโครงงานมาโดยตลอด จนรายงานเล่มนี้กลายเป็นเล่มโครงงานที่เสร็จสมบูรณ์ คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผศ.ลินจง สุขลำภู และ ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่กรุณาให้เกียรติเป็นคณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษและให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณพี่นักวิทยาศาสตร์ที่คอยให้คำแนะนำ สอนเทคนิคการทำการทดลอง เป็นที่ปรึกษาในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีในการทดลองทางวิทยาศาสตร์ รวมถึงอำนวยความสะดวกในการทดลองเป็นอย่างดี ขอขอบคุณคุณพ่อคุณแม่และครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา ส่งเสริมสนับสนุนและให้โอกาสในการศึกษา ขอบคุณเพื่อนทุกคนที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำและกำลังใจที่ดี และขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยให้สามารถค้นหาเอกสารงานวิจัยต่างๆ

ขอขอบคุณ บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด พระสมุทรเจดีย์ สมุทรปราการ ที่ให้ความอนุเคราะห์กากถั่วเหลือง

สุดท้ายนี้ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ หากมีข้อผิดพลาดประการใดต้องขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

จิราพรรณ นามวงษ์
ฉัตรยชัย อรรถบัญชา
ชวัลรัตน์ เชื้อวงษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญรูป ..... ด
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 บิวทานอล 3
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของบิวทานอล 3
2.1.2 คุณสมบัติการเป็นสารเชื้อเพลิง 3
2.1.3 การประยุกต์ใช้ 4
2.2 กระบวนการผลิตตัวทำละลายอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล 4
2.2.1 ประวัติและที่มาของกระบวนการอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล 4
2.2.2 รูปแบบของกระบวนการเพาะเลี้ยง 5
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล 5
2.3.1 จุลินทรีย์ 5
2.3.2 วัตถุดิบ 6
2.3.3 อุณหภูมิ 6
2.3.4 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6
2.3.5 แหล่งของสารตั้งต้นและความเข้มข้น 7
2.3.6 ออกซิเจน 7
2.4 *Clostridium* sp. 8
2.4.1 สัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา 8
2.5 กากถั่วเหลือง 9
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน 13
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 13
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ 13
3.1.2 วัสดุ 13
3.1.3 สารเคมี 13
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ 13
3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ 14
3.1.5.1 อาหาร Reinforced Clostridial (DifcoTM) 14
3.1.5.2 อาหาร T6 14
3.2 การเตรียมกากถั่วเหลือง 15
3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ 15
3.3.1 ชนิดของเอนไซม์และอุณหภูมิที่เหมาะสม 15
3.3.2 ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม 16
3.4 กระบวนการผลิตบิวทานอล 17
3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ 17
3.4.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 18
3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง 18
3.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากถั่วเหลือง 18
3.5.1.1 การวิเคราะห์ความชื้น 18
3.5.1.2 การวิเคราะห์โปรตีน 18
3.5.1.3 การวิเคราะห์ไขมัน 20
3.5.1.4 การวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ 20
3.5.1.5 การวิเคราะห์เถ้า 21
3.5.1.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 21
3.5.1.7 การวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส 21
3.5.2 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง 23
3.5.3 การวิเคราะห์ทางเคมี 23
3.5.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid 23
3.5.3.2 การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลหลังการย่อย 24
3.5.3.3 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ 24
3.6 การวิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติ 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผลการทดลอง 25
4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากถั่วเหลือง 25
4.2 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ 26
4.2.1 ผลการศึกษาชนิดของเอนไซม์และอุณหภูมิที่เหมาะสม 26
4.2.2 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ 28
4.3 ชนิดของน้ำตาลหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ 34
4.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. 35
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 46
5.1 สรุปผลการวิจัย 46
5.2 ข้อเสนอแนะ 47
เอกสารอ้างอิง 48
ภาคผนวก 51
ภาคผนวก ก 52
ภาคผนวก ข 71
ภาคผนวก ค 74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

2.1 คุณลักษณะของกากถั่วเหลือง 11
3.1 เอนไซม์ที่ใช้ย่อยต่อจากเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของแต่ละชุดการทดลอง 16
3.2 ค่า conversion factor สำหรับอาหารชนิดต่างๆ 19
4.1 องค์ประกอบของกากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออก 25
4.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 6 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง 27
4.3 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 6 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง 27
4.4 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง โดยบ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 29
4.5 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยแอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมอะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

4.6 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยแอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิต ต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จากนั้นเติม เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 32

4.7 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยแอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิต ต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จากนั้นเติม เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 34

4.8 ชนิดของน้ำตาลจากกากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส 34

4.9 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 36

4.10 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อย ด้วยเอนไซม์ความเข้มข้นรวม 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 38

4.11 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรที่ได้จากการย่อย ด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 40

4.12 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มี น้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

4.13 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองรวม 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 43

4.14 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 44

4.15 การเปรียบเทียบความเข้มข้นสูงสุดของบิวทานอลและเอทานอล ระหว่างชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ และชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 44

ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) 53

ก.2 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายอะซิติกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส 55

ก.3 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายกรดบิวทิริกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส 57

ก.4 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายอะซิโตนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ก.5 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายบิวทานอลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส 61

ก.6 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายเอทานอลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส 63

ก.7 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส 65

ก.8 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส..... 66

ก.9 พื้นที่ใต้กราฟของสารละน้ำตาลมอลโตสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส..... 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ก.10 พื้นที่ใต้กราฟของสารละน้ำตาลไซโลสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส 69

ข.1 ความเข้มข้นกับปริมาตรของสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 71

ข.2 ความเข้มข้นกับปริมาตรของของสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 72

ข.3 ความเข้มข้นกับปริมาตรของของสารละลายเอนไซม์เพคติเนส 73

ข.4 ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์เซลลูเลสกับปริมาตรของสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ 73

ค.1 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 74

ค.2 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 74

ค.3 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 75

ค.4 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 76

ค.5 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 76

ค.6 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 77

ค.7 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 78

ค.8 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ค.9 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 79

ค.10 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง ด้วยเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 80

ค.11 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 81

ค.12 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 82

ค.13 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 83

ค.14 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 84

ค.15 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 85

ค.16 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 86

ค.17 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 87

ค.18 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ค.19 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 89
ค.20 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง..... 90
ค.21 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง..... 91
ค.22 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง..... 92
ค.23 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 93
ค.24 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 94
ค.25 การวิเคราะห์ทางสถิติของอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 95
ค.26 การวิเคราะห์ทางสถิติของบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 96
ค.27 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 97
ค.28 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 98
ค.29 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ค.30 การวิเคราะห์ทางสถิติของอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 100
ค.31 การวิเคราะห์ทางสถิติของบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 101
ค.32 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 102
ค.33 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 103
ค.34 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง เป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 104
ค.35 การวิเคราะห์ทางสถิติของอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง เป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 105
ค.36 การวิเคราะห์ทางสถิติของบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง เป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 106
ค.37 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง เป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง 107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

2.1 สูตรโครงสร้างของบิวทานอล 3
2.2 รูปร่างและลักษณะทางสัณฐานของเชื้อ *Clostridium beijerinckii* 8
2.3 วิถีทางชีวเคมีของแบคทีเรีย *C. aetobutylicum* โดยปฏิกิริยาที่แสดงด้วยลูกศรชนิดหนาเกิดในระยะของการสร้างกรดอินทรีย์ (Acidogenic phase) และปฏิกิริยาที่แสดงด้วยลูกศรชนิดบางเกิดในระยะของการสร้างตัวทำละลายอินทรีย์ (Solventogenic phase) 10
4.1 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 28
4.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 29
4.3 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 30
4.4 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 32
4.5 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

4.6 ข้อมูลจากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง
(ก) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์
(ข) ความหนาแน่นของเซลล์โดยวัดความขุ่นและค่าความเป็นกรด-ด่าง
(ค) น้ำหนักเซลล์แห้ง 37

4.7 ข้อมูลจากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้นรวม 50 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง
(ก) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์
(ข) ความหนาแน่นของเซลล์โดยวัดความขุ่นและค่าความเป็นกรด-ด่าง
(ค) น้ำหนักเซลล์แห้ง 39

4.8 ข้อมูลจากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง
(ก) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์
(ข) ความหนาแน่นของเซลล์โดยวัดความขุ่นและค่าความเป็นกรด-ด่าง
(ค) น้ำหนักเซลล์แห้ง 41

4.9 ข้อมูลปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง
(ก) ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน
(ข) ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน
(ค) ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน 45

ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) 53

ก.2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดอะซิติก ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC..... 55

ก.3 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดบิวทิริก ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC..... 57

ก.4 กราฟมาตรฐานของสารละลายอะซิโตน ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC..... 59

ก.5 กราฟมาตรฐานของสารละลายบิวทานอล ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC 61

ก.6 กราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอล ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC 63

ก.7 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC..... 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น รวมทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

ก.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอส
ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC..... 66
ก.9 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลมอลโตส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC..... 68
ก.10 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลไซโลส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC..... 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

ในอดีตการผลิตบิวทานอล จากกระบวนการเพาะเลี้ยงอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล (Acetone–Butanol–Ethanol, ABE, Fermentation) โดยเชื้อ *Clostriduim* sp. เคยเป็นอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงทางเทคโนโลยีชีวภาพขนาดใหญ่ที่สุด อย่างไรก็ตามในทศวรรษที่ 1980 การผลิตบิวทานอลจากกระบวนการเพาะเลี้ยงไม่สามารถแข่งขันกับการผลิตบิวทานอลจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมีที่พัฒนาอย่างรวดเร็วในขณะนั้นได้ ในปัจจุบันมีความกังวลเกี่ยวกับปริมาณน้ำมันสำรองที่ลดลงจากการใช้น้ำมันที่เพิ่มขึ้นและจากการขาดแคลนพลังงานฟอสซิลในอนาคต จึงทำให้การผลิตบิวทานอลจากกระบวนการเพาะเลี้ยงกลับมาได้รับความสนใจอีกครั้ง

การผลิตบิวทานอลจากกระบวนการเพาะเลี้ยง ABE นิยมใช้เชื้อแบคทีเรียสกุล *Clostriduim* ในการผลิต ซึ่งเชื้อสกุลนี้พบได้ทั่วไปในน้ำเสีย ดิน และระบบย่อยอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จัดเป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน แกรมบวก รูปร่างแท่ง ซึ่งแบคทีเรียนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้ตั้งแต่น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจนถึงน้ำตาลหลายโมเลกุลเป็นสารตั้งต้น และสามารถผลิตสารละลายได้หลายชนิด เช่น อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยอัตราส่วนในการผลิตจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ พบว่า *C. acetobutylicum* และ *C. beijerinckii* มีอัตราส่วนในการผลิต ABE เป็น 3:6:1 (Di และคณะ, 2015)

วัสดุทางชีวภาพที่ไม่มีมูลค่าและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมหากมีการกำจัดที่ไม่มีประสิทธิภาพ เช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ สามารถนำมาใช้ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้ กากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงถึงร้อยละ 28.62

โครงงานพิเศษนี้จึงมีแนวคิดในการนำกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือจากบริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด มาทำการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดจากนั้นนำไปทำการเพาะเลี้ยงและศึกษาการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* G10

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. วิเคราะห์หาองค์ประกอบของกากถั่วเหลือง เพื่อนำไปเลือกเอนไซม์ที่ย่อยองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต
2. หาสภาวะในการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* G10
3. ศึกษาการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* G10 จากการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

นำกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือจากกระบวนการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองของบริษัท ธนากร ผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด มาทำการวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ความชื้น ไขมัน เยื่อใยหยาบ เถ้า เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน จากนั้นทำการศึกษาหาสภาวะในการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยซึ่งประกอบด้วย เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส รวมถึงอุณหภูมิและเวลาในการการย่อยที่ให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ทำการวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ได้ เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* G10 นำน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นสูงสุดที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ไปใช้ในการผลิตบิวทานอลโดยเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* G10 และทำการวิเคราะห์การผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

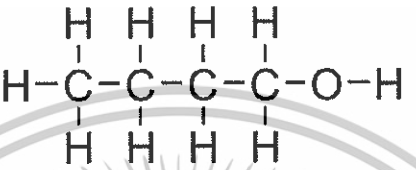
1. ทราบองค์ประกอบของกากถั่วเหลืองเพื่อนำไปเลือกเอนไซม์ที่ย่อยองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต
2. ทราบสภาวะในการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* G10
3. ทราบถึงการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* G10 จากการเพาะเลี้ยงด้วยกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยเอนไซม์ผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บิวทานอล

บิวทานอล (1-butanol) หรือที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อของ Butyl alcohol, n-butanol หรือ Methylolpropane เป็นแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอน 4 อะตอม (Primary alcohol) มีสูตรโมเลกุล C_4H_9OH มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 74.12 กรัมต่อโมล



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของบิวทานอล

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/File:Butanol_flat_structure.png (วันที่สืบค้น 7 มิถุนายน 2562)

2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของบิวทานอล

บิวทานอลเป็นสารที่ไม่มีสี ไวไฟ ละลายน้ำได้เล็กน้อย มีกลิ่นเฉพาะตัวซึ่งคล้ายกลิ่นของกล้วย แต่มีกลิ่นแอลกอฮอล์ที่ชัดเจน อย่างไรก็ตามบิวทานอลสามารถทำให้เกิดการระคายเคืองเมื่อสัมผัสโดยตรง โดยเฉพาะบริเวณดวงตาและผิวหนัง ไอระเหยของบิวทานอลก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อบุโพรงจมูกได้ ทั้งนี้อาจก่อให้เกิดการเสพติดได้เมื่อสูดดมที่ความเข้มข้นสูงๆ บิวทานอลสามารถละลายเข้ากับตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆได้ดี แต่ละลายในน้ำได้ค่อนข้างต่ำ (Lee และคณะ, 2008 และ Dürre, 2008) นอกจากนี้ ยังมีสารเคมีชนิดอื่นที่อยู่ในตระกูลแอลกอฮอล์ เช่นเดียวกับบิวทานอล ได้แก่ เมทานอล (1 คาร์บอน) เอทานอล (2 คาร์บอน) และโพรพานอล (3 คาร์บอน) (Kristin, 2007)

2.1.2 คุณสมบัติการเป็นสารเชื้อเพลิง

จุดเด่นหนึ่งของบิวทานอลที่ผลิตได้ทางชีวภาพที่เหนือกว่าเอทานอล คือสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ได้โดยตรงในขณะที่เอทานอลจะต้องมีการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติบางประการเพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิง (Hansen และคณะ, 2005 และ Niven, 2005) ทั้งนี้ บิวทานอลสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงกับเครื่องยนต์ได้โดยตรงโดยไม่ต้องผ่านการดัดแปลงใดๆ รวมถึงมีคุณสมบัติเฉพาะทางกายภาพและเคมีรวมทั้งให้ค่าพลังงานที่ดีกว่าเอทานอลอย่างมาก Huber และคณะ (2006) ได้เปรียบเทียบค่าพลังงานระหว่างบิวทานอลกับเอทานอล พบว่าบิวทานอลมีค่าพลังงานใกล้เคียงกับแก๊สโซลีนบริสุทธ์ ในขณะที่สารผสมของเอทานอลกับแก๊สโซลีน ต้องใช้ปริมาณมากกว่าจึงจะให้ค่าพลังงานที่เท่ากัน นอกจากนี้ บิวทานอลยังสามารถผสมกับแก๊สโซลีนในอัตราส่วนต่างๆ ได้ (Lee และคณะ, 2008) ในทางตรงกันข้ามเอทานอลสามารถนำไปผสมกับแก๊สโซลีนได้บางส่วนเท่านั้น ยิ่งไปกว่านั้นบิวทานอลสามารถนำไปใช้กับเครื่องยนต์โดยไม่ต้องมีการดัดแปลงเครื่องยนต์และไม่ส่งผลใดๆต่อเครื่องยนต์เลย รวมทั้งให้สมรรถนะในการขับเคลื่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่นเดียวกับการใช้แก๊สโซลีนอีกด้วย นอกจากนี้การเผาไหม้ของเครื่องยนต์ที่มีบิวทานอลเป็นส่วนผสม พบว่าไอเสียที่ออกมาปลอดจากแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ ไฮโดรคาร์บอนและอนุพันธ์ของไนตรัสออกไซด์ที่เป็นพิษกับสภาพแวดล้อมเมื่อเทียบกับการใช้เอทานอล (Wackett, 2008)

คุณสมบัติด้านอื่นของบิวทานอลที่เหนือกว่าเอทานอล ได้แก่ บิวทานอลระเหยกลายเป็นไอได้ต่ำกว่า โดยมีค่า Reid value ต่ำกว่าเอทานอลถึง 7 เท่า และบิวทานอลยังมีความสามารถในการกัดกร่อนต่ำ จึงทำให้ปลอดภัยต่อการขนส่งลำเลียง ยิ่งไปกว่านั้นบิวทานอลมีความดันไอต่ำ มีค่าออกเทนที่สูงจึงสามารถนำไปผสมเข้ากับแก๊สโซลีนและน้ำมันดีเซลได้อย่างสมบูรณ์ ด้วยเหตุดังกล่าวนี้จึงทำให้บิวทานอลสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงที่มีความปลอดภัยสูง และสามารถส่งลำเลียงด้วยระบบท่อไปยังสถานีจ่ายได้ (Lee และคณะ, 2008) ในขณะที่เอทานอลไม่สามารถเก็บไว้เป็นเวลานานได้ เนื่องจากมีค่าความดันไอสูง นอกจากนี้บิวทานอลยังมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่สามารถผสมเข้ากับแก๊สโซลีนได้ดีกว่าเชื้อเพลิงชนิดอื่นๆ อย่างไรก็ตามบิวทานอลมีความหนืดเป็น 2 เท่าของเอทานอลและประมาณ 5-7 เท่า ของแก๊สโซลีน (Wackett, 2008)

2.1.3 การประยุกต์ใช้

นอกเหนือจากการใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์แล้ว บิวทานอลยังเป็นสารเคมีที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย โดยอนุพันธ์ของบิวทานอลส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ Butyl acrylate และ Methacrylate esters ซึ่งใช้ในกระบวนการผลิตกาว สารเคลือบผิว (Enamels) สารยึดเกาะ (Adhesives) วัสดุสิ่งทอ (Textile) วัสดุเส้นใย (Fiber) และพลาสติก เป็นต้น อนุพันธ์ของบิวทานอลชนิดอื่นๆ ที่สำคัญได้แก่ Butyl glycol ether, Butyl acetate และ Plasticizer เป็นต้น ทั้งนี้บิวทานอลและสารอนุพันธ์สามารถใช้เป็นตัวทำละลายที่ดีเยี่ยมในอุตสาหกรรมสีทา อุตสาหกรรมยานยนต์ และอุตสาหกรรมการขึ้นรูป รวมทั้งใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมการผลิตยาปฏิชีวนะ วิตามิน และฮอร์โมนได้อีกด้วย นอกเหนือจากที่ได้กล่าวไปแล้ว บิวทานอลยังถูกใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ อีก เช่น อุตสาหกรรมการผลิตแก้ว ผงซักฟอก เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด รวมไปถึงสามารถใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมกลิ่นรสได้อีกด้วย (Lee และคณะ, 2008 และ Dürre, 2008)

2.2 กระบวนการผลิตตัวทำละลายอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล

2.2.1 ประวัติและที่มาของกระบวนการอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล

การผลิตบิวทานอลโดยเชื้อจุลินทรีย์ได้ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1861 โดยหลุยส์ พาสเตอร์ (Jones และ Woods, 1986) ต่อมา Schardinger ได้ค้นพบอะซิโตนจากกระบวนการเดียวกันกับหลุยส์ พาสเตอร์ในปี ค.ศ. 1905 กระบวนการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์อันได้แก่ อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยกระบวนการเพาะเลี้ยงนี้ได้ถูกพัฒนาขึ้นเนื่องมาจากปัญหาการขาดแคลนยางธรรมชาติ โดยบิวทานอลเป็นสารตั้งต้นของการผลิตบีตาไดอีน ซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักของการผลิตยางสังเคราะห์ ส่วนอะซิโตนนั้นมีความสำคัญในการนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตวัตถุระเบิดในสงครามโลกครั้งที่ 1 ภายหลังสงครามยุติ ความต้องการอะซิโตนจึงลดน้อยลง แต่กลับมีความต้องการอะซิโตนมากขึ้นในอุตสาหกรรมผลิตรถยนต์และอุตสาหกรรมสีทา (Jones และ Woods, 1986) ความสำคัญของกระบวนการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าว โดยกระบวนการเพาะเลี้ยงเริ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลดลงภายหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 แต่กลับมาเริ่มได้รับความสนใจมากขึ้นในปี ค.ศ. 1973 และปี ค.ศ. 1979 เป็นต้นมา เนื่องจากราคาน้ำมันดิบของโลกเริ่มมีราคาสูงขึ้น แต่ถึงอย่างไรก็ตามกระบวนการหมักดังกล่าวก็ยังมีต้นทุนในการผลิตที่ค่อนข้างสูงอยู่เมื่อเทียบกับกระบวนการสังเคราะห์จากปิโตรเลียม (Jones และ Woods, 1986)

2.2.2 รูปแบบของกระบวนการเพาะเลี้ยง

รูปแบบกระบวนการเพาะเลี้ยงแบบกะโดยแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* ได้ถูกบันทึกไว้ ในหลายๆ ตำรำ และเผยแพร่จนเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งประกอบไปด้วย 2 ระยะที่แตกต่างกัน โดยสอดคล้องกันกับกลไกการสร้างผลิตภัณฑ์ 2 ลักษณะด้วย (Jones และ Woods, 1986; Schuster และคณะ, 1998; Badr และคณะ, 2001) กล่าวคือ ในระยะแรก จะมีการผลิตกรดอินทรีย์ อันได้แก่ กรดบิวทิริกและกรดอะซิติก ในช่วง 7-18 ชั่วโมงแรก ซึ่งเป็นเหตุให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำหมักลดลง ช่วงนี้นิยมเรียกว่า ช่วงของการผลิตกรดอินทรีย์ (Acidogenesis) หลังจากนั้นระยะที่สอง ซึ่งเป็นช่วงของการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์อันได้แก่ อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ซึ่งปกติจะเกิดขึ้นภายหลังจากเริ่มการเพาะเลี้ยงไปแล้ว 18 ชั่วโมงจนถึง 36 หรือ 60 ชั่วโมง ในช่วงนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และจะมีการนำกรดอินทรีย์ที่ผลิตได้ในช่วงแรกนำมาใช้เป็นบางส่วน ระยะที่สองนี้นิยมเรียกว่าระยะของการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ (Solventogenesis) นอกจากนี้ในระหว่างกระบวนการเพาะเลี้ยง ยังมีการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาตลอดกระบวนการด้วย

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล

2.3.1 จุลินทรีย์

แบคทีเรีย *Clostridium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ เจริญภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน และมีความสามารถในการเคลื่อนที่ได้ ทั้งนี้บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ (Exotoxin) ซึ่งเป็นสำเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ได้ เช่น *C. tetanus* และ *C. botulum* เป็นต้น อย่างไรก็ในช่วงศตวรรษที่ 20 แบคทีเรีย Clostridia ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีความสามารถในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ โดยเฉพาะสายพันธุ์ *C. acetobutylicum* และ *C. beijerinckii* ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวนี้ สามารถใช้น้ำตาลได้หลายชนิด เช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอย่างเฮกโซสและเพนโตส (Qureshi และคณะ, 2007; Sun และ Liu, 2010; Survasec และคณะ, 2011) และน้ำตาลหลายโมเลกุล อย่างแป้ง (Madihah และคณะ, 2001) ให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ด้วยกระบวนการเพาะเลี้ยงอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยในสภาวะที่เหมาะสมแบคทีเรียกลุ่มนี้จะผลิตผลิตภัณฑ์หลักเป็นบิวทานอลและอะซิโตน แต่ถ้าสภาวะที่ไม่เหมาะสมแบคทีเรียในกลุ่มนี้ จะผลิตอะซิโตนและเอทานอลเป็นผลผลิตหลัก ต่อมาแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์นี้ ถูกนำไปพัฒนาเพื่อการปรับปรุงประสิทธิภาพในการผลิตตัวทำละลายอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวสามารถผลิตตัวทำละลายบิวทานอล อะซิโตน และเอทานอล จากแป้งและน้ำตาลเฮกโซสที่มีคาร์บอน 6 อะตอม หรือน้ำตาลเพนโตสที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ได้ในอัตราส่วน 6:3:1 ตามลำดับ (Qureshi, 2001 และ Lee และคณะ, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 วัตถุดิบ

เนื่องจากคลอสทริเดียมเป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่หลากหลาย สามารถใช้สารตั้งต้นได้หลายประเภทตั้งแต่น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ทั้งน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทส จนถึงน้ำตาลหลายโมเลกุล เช่น แป้ง เป็นแหล่งคาร์บอน สำหรับน้ำตาลหลายโมเลกุลประเภทเซลลูโลส มีคลอสทริเดียมจำนวนไม่มากที่สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ ซึ่งมักเป็นกลุ่มที่ไม่สามารถผลิตบิวทานอลได้ เช่น *C. thermocellum C. celulolyticum* และ *C. celluloVorans* แต่คลอสทริเดียมในกลุ่มที่ผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล เช่น *C. acetobutylicum* พบว่าไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลหลายโมเลกุลประเภทเซลลูโลสได้ การใช้วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส จึงต้องมีการผ่านกระบวนการย่อยก่อน ทำการเพาะเลี้ยง งานวิจัยที่ใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทเซลลูโลสจึงนิยมใช้กรดหรือเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเหล่านี้ให้เป็นน้ำตาลก่อนแล้วจึงหมักด้วยคลอสทริเดียม หรือใช้คลอสทริเดียมในกลุ่มที่สามารถย่อยเซลลูโลส โดยเลี้ยงร่วมกับจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นโดยเฉพาะ *C. thermocellum* เนื่องจากมีผลิตภัณฑ์หลักเป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งทำให้สามารถหมักต่อด้วยจุลินทรีย์ที่ใช้น้ำตาลเป็นสารตั้งต้นในการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ เนื่องจากร้อยละ 60-70 ของต้นทุนในกระบวนการผลิตไบโอบิวทานอลคือ สารตั้งต้น ดังนั้นงานวิจัยในปัจจุบันจึงมีจุดประสงค์เพื่อลดต้นทุนการผลิต โดยการใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือเซลลูโลสหรือแป้ง (วรวุฒิ, 2558)

2.3.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงมีผลต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งอัตราการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงโดยใช้น้ำตาลเป็นวัตถุดิบนั้นจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ระหว่าง 30 และ 33 องศาเซลเซียส แต่จะลดลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ผลที่คล้ายกันนี้ถูกพบในการเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารสังเคราะห์ (Synthetic medium) Mcnei และ Kristiansen (1985) ได้ทำการทดลองการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงของ *C. acetobutylicum* พบว่าตัวทำละลายอินทรีย์รวม (Total solvent yield) มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการผลิตอะซิโตนลดลง และพบว่าบิวทานอลไม่ได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิ ในรูปของอัตราผลผลิตตัวทำละลายอินทรีย์รวม ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์คือ 35 องศาเซลเซียส (สุนทร, 2555 และ Jones และ Woods, 1986)

2.3.4 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

น้ำหมักจะใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นตัวกำหนดการย่อยสลายของน้ำตาล มีหลายงานวิจัยรายงานว่าถ้ารักษาค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักไว้ที่ค่าสูง จะทำให้ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ของการเพาะเลี้ยงเป็นกรดอินทรีย์ ในทางตรงกันข้ามถ้ารักษาค่าความเป็นกรด-ด่างไว้ที่ค่าต่ำ ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นจะเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ช่วงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่จะส่งผลให้มีการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์จะอยู่ในช่วงกว้าง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์และสภาวะของการเพาะเลี้ยง ช่วงของการเพาะเลี้ยงที่มีการสร้างตัวทำละลายอินทรีย์มักอยู่ในช่วง 3.8 ถึง 5.5 แต่แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมอย่าง *C. acetobutylicum* P262 สามารถผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีในช่วง 6.5 กรดอินทรีย์อย่างอ่อน (Weak organic acid) เช่น กรดอะซิติกและกรดบิวทิริกถูกสร้างเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (End-product) ของปฏิกิริยา โดยธรรมชาติแล้วจะเป็นพิษต่อเซลล์และสามารถแพร่ผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ในรูปที่ไม่แตกตัวที่ความเข้มข้นของกรด

เอกสารนี้เป็นกรรมสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

สูงๆ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ผิวของเยื่อหุ้มเซลล์จะลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุในการยับยั้งปฏิกิริยาเมแทบอลิซึมทั้งหมดของเซลล์ภายในตัวเซลล์ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าจะมีการสะสมของกรดและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง จึงทำให้อัตราการเจริญลดลงจนกระทั่งหยุดชะงักในที่สุด ถึงแม้ว่าการใช้วัตถุดิบและเมแทบอลิซึมของเซลล์ยังดำเนินต่อไป ดังนั้นจึงมีข้อเสนอว่าจุดที่เปลี่ยนเป็นการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ (Solventogenesis) ก็คือกลไกกำจัดสารพิษ (Detoxification) ของเซลล์ เพื่อกำจัดผลที่จะเกิดขึ้นเนื่องจากการยับยั้งเมื่อกรดในขั้นตอนสุดท้ายมาถึงระดับช่วงที่มีพิษ โดยทั่วไปการเริ่มต้นของการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ (Solventogenesis) จะเกิดขึ้นร่วมกันขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารมีค่าต่ำและมีกรดในรูปที่ไม่แตกตัวอยู่ในช่วงวิกฤต ดังนั้นความเข้มข้นของบิวไทเรตจะต่ำที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายว่าผลของความเป็นกรด-ด่าง เป็นผลจากความเข้มข้นของกรดบิวทิริกที่ไม่แตกตัวและสิ่งนี้เป็นปัจจัยควบคุมการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ (สุนทร, 2555)

2.3.5 แหล่งของสารตั้งต้นและความเข้มข้น

ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลเป็นสิ่งที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลกว่า 20 กรัมต่อลิตร การเพาะเลี้ยงจะมุ่งไปสู่การผลิตกรดอินทรีย์ (Acidogenesis) จะผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้เพียงเล็กน้อย ถ้าความเข้มข้นน้ำตาลกว่า 60 กรัมต่อลิตร กระบวนการจะผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากกว่า และที่ความเข้มข้นสูงกว่า 80 กรัมต่อลิตร น้ำตาลจะไม่ถูกหมักซึ่งเป็นผลมาจากการยับยั้งของผลิตภัณฑ์ (Product inhibition) ขณะที่ความเข้มข้นสูงถึง 120 กรัมต่อลิตร การเพาะเลี้ยงจะเกิดขึ้นได้เพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นเพราะการยับยั้งของวัตถุดิบ (Substrate inhibition) (Jones และ Woods, 1986)

2.3.6 ออกซิเจน

C. acetobutylicum ดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาวะไร้ออกซิเจน (Obligate anaerobe) การเจริญที่เหมาะสมเกิดขึ้นในน้ำหมักที่มีความต่างศักย์ของรีดอกซ์ในช่วงระหว่าง 250-400 mV การสัมผัสกับออกซิเจน ในการเพาะเลี้ยงแบบไร้ออกซิเจนไม่เป็นอันตรายถ้าเกิดขึ้นเพียงระยะสั้นๆ แต่ถ้าน้ำหมักสัมผัสกับออกซิเจนในปริมาณมากๆ (40-60 µM) การใช้น้ำตาลกลูโคสของจุลินทรีย์จะลดลง การเจริญ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) และโปรตีน (Protein) จะหยุดชะงักภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic condition) จุลินทรีย์จะมีการผลิตบิวไทเรต (Butylate) แต่ไม่ผลิตอะซิเตท (Acetate) หรือมีการผลิตลดลง รวมถึงมีการลดลงของ ATP ในเซลล์ ซึ่งผลของออกซิเจนคือมีการย้อนกลับของปฏิกิริยาทั้งหมด การเจริญและเมแทบอลิซึม (Metabolism) จะกลับคืนสู่สภาพเดิมเมื่อเข้าสู่สภาวะไร้ออกซิเจนอีกครั้ง (สุนทร, 2555 และ Jones และ Woods, 1986)

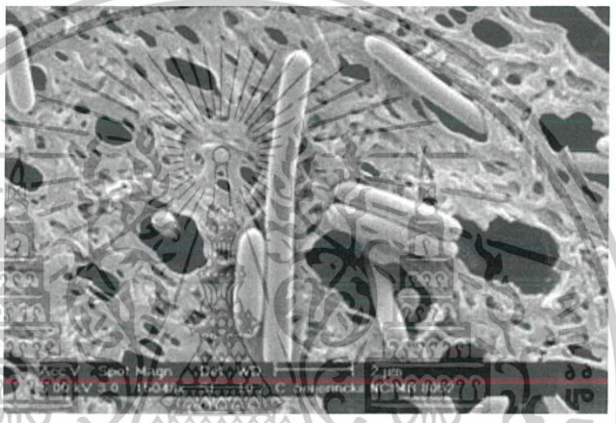
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 *Clostridium* sp.

Clostridium sp. เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ พบทั่วไปในธรรมชาติ น้ำ ดิน บางสปีชีส์เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและมีเพียง 2 สปีชีส์ ที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวนี้ สามารถเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตหลายชนิดให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย เช่น อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยในสภาวะที่เหมาะสมแบคทีเรียกลุ่มนี้จะผลิตผลิตภัณฑ์หลักเป็นบิวทานอลและอะซิโตน แต่ถ้าสภาวะที่ไม่เหมาะสมแบคทีเรียในกลุ่มนี้จะผลิตอะซิโตนและเอทานอลเป็นผลผลิตหลัก (สุนทร, 2555)

2.4.1 สัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา

รูปร่างและลักษณะทางสัณฐานของเชื้อ *Clostridium* sp. ดังรูป 2.2



รูปที่ 2.2 รูปร่างและลักษณะทางสัณฐานของเชื้อ *Clostridium beijerinckii*
ที่มา https://genome.jgi.doe.gov/portal/clobe/clobe.home.htmL (วันที่สืบค้น 11 มิถุนายน 2562)

อนุกรมวิธานของเชื้อ *Clostridium* มีดังนี้

Kingdom: Bacteria

Division: Firmicutes

Class: Clostridia

Order: Clostridiale

Family: Clostridiaceae

Genus: *Clostridium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรีย *Clostridium* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อน เซลล์มีความยาวตั้งแต่ 3-8 mm และกว้าง 0.4-1.2 mm (ชนิกาและคณะ, 2555) ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงจะมีการเรียงตัวกันของเซลล์เป็นสายสั้นๆ มีปลายแหลมและปลายกลม มีสปอร์อยู่ภายในเซลล์ โดยสปอร์มีรูปร่างได้ทั้งกลมและรี เป็นพวก obligate anaerobes หรือมีบางชนิดเท่านั้นเป็น aerotolerant ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนสปอร์จะไม่งอก ถ้าขาดสภาวะที่เหมาะสม สปอร์ทนความร้อนได้ดี สามารถทนอุณหภูมิถึง 120 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 10-15 นาที แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมของการเจริญคือ 10-65 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบตัว ในการเพาะเลี้ยงเชื้อทำได้ในสภาพไร้ออกซิเจน โดยส่วนใหญ่ใช้การเลี้ยงใน blood agar และ egg yolk agar ในสภาพไม่มีออกซิเจนเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง โคโลนีจาก blood agar สามารถนำมาตรวจดูปฏิกริยาการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ตรวจลักษณะโคโลนี ส่วนเชื้อที่เจริญใน egg yolk agar สามารถตรวจหาการทำงานของเอนไซม์ lecithinase โดยดูจากลักษณะการตกตะกอนขุ่นขาวในเนื้อวุ้น และตรวจหาการทำงานของเอนไซม์ lipase โดยดูจากความเป็นเงา (ridescent sheen) ที่ผิวหน้าเชื้อ

ลักษณะสำคัญของ *Clostridium* แต่ละสปีชีส์ คือความสามารถในการเพาะเลี้ยงน้ำตาลต่างชนิดกันได้ นอกจากนี้ *Clostridium* บางชนิดยังสามารถให้ก๊าซมากพอที่จะนำมาใช้ในการจำแนกเชื้อได้ *Clostridium* มีคุณสมบัติในการเพาะเลี้ยงเซลลูโลส แป้ง และน้ำตาล ให้เป็นแอลกอฮอล์ โดยเฉพาะบิวทานอล การคัดเลือกและคัดแยกสายพันธุ์ใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในการผลิตบิวทานอลจึงเป็นที่สนใจเพิ่มขึ้น โดย *Clostridium* จัดเป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการผลิตบิวทานอลในภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobe) ซึ่งส่งผลดีต่อกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื่องจากช่วยลดต้นทุนในการใช้ใบพัดในกระบวนการเพาะเลี้ยงด้วยถังหมัก (Jones และ Woods, 1986)

2.5 กากถั่วเหลือง

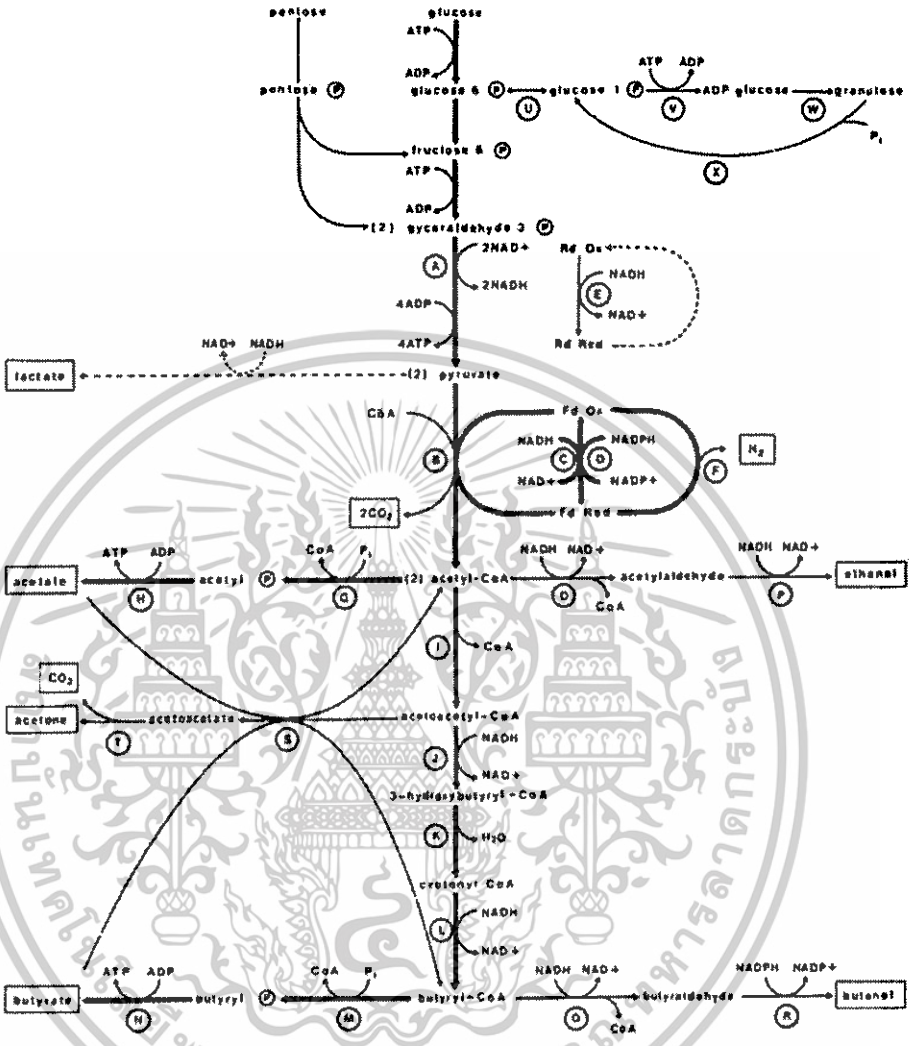
แต่เดิมนั้นชื่อวิทยาศาสตร์ของถั่วเหลืองรู้จักกันดีในชื่อ *Glycine Soja* และ *Soja max* ในปี พ.ศ. 2491 Ricker และ Morse ได้เสนอหลักฐานทางอนุกรมวิธานว่า ถั่วเหลืองน่าจะได้รับการตั้งชื่อเป็น *Glycine max* (L.) *Merr.* ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไป (วิมลพร และคณะ, 2558)

วิทยาการด้านการใช้ประโยชน์ของถั่วเหลืองเพื่อเป็นอาหารมนุษย์ อาหารสัตว์ ตลอดจนวัตถุดิบของการอุตสาหกรรมต่างๆ ก็ได้เจริญก้าวหน้าเป็นอย่างมาก ทำให้บุคคลทุกระดับของสังคมต่างๆ ได้ใช้ประโยชน์ของถั่วเหลืองอย่างเต็มที่ ทั้งกับอุตสาหกรรมเกษตรในด้านการพาณิชย์ที่เกี่ยวข้องกับการรับซื้อเมล็ดถั่วเหลืองไปจนกระทั่งการขาย ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองต่างๆ ตลอดจนการบริโภคในประเทศต่างๆ ของโลกที่ถั่วเหลืองมีบทบาทเป็นอย่างยิ่ง ได้แก่ บราซิล โคลัมเบีย ในแถบลาตินอเมริกา อินเดีย อินโดนีเซีย ไทย จีน ไต้หวัน และศรีลังกา ในเอเชีย ประเทศไนจีเรีย และแซมเบียในแอฟริกา เป็นต้น (วิมลพร และคณะ, 2558)

กากถั่วเหลืองเป็นสินค้าทางเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดของไทย เนื่องจากกากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ การผลิตและการนำเข้ากากถั่วเหลืองที่มีคุณภาพและปลอดภัยจึงมีความสำคัญที่ผ่านมากระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ประกาศมาตรฐานสินค้าเกษตรที่เกี่ยวข้องกับถั่วเหลืองไว้แล้ว 1 ฉบับ คือ มกษ. 4701-2556 เรื่องถั่วเหลืองเมล็ดแห้ง คณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรจึงเห็นสมควรกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่องกากถั่วเหลือง เพื่อยกระดับคุณภาพของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สินค้ากากถั่วเหลืองให้เหมาะสมและมีความปลอดภัยสำหรับนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ เพื่อเป็นการสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้ใช้กากถั่วเหลืองและเพื่อให้การกำหนดมาตรฐานครอบคลุมตลอดวงจรการผลิตของสินค้าและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (วิมลพร และคณะ, 2558)



รูปที่ 2.3 วิถีทางชีวเคมีของแบคทีเรีย *C. aetobutylicum* โดยปฏิกิริยาที่แสดงด้วยลูกศรชนิดหนาเกิดในระยะของการสร้างกรดอินทรีย์ (Acidogenic phase) และปฏิกิริยาที่แสดงด้วยลูกศรชนิดบางเกิดในระยะของการสร้างตัวทำละลายอินทรีย์ (Solventogenic phase)
ที่มา: Jones และ Woods (1986) (วันที่สืบค้น 11 มิถุนายน 2562)

กากถั่วเหลือง (soybean meal) หมายถึงผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ได้จากการนำน้ำมันออกจากเมล็ด ซึ่งอาจนำเปลือกกลับเข้าไปรวมกับกาก เรียกว่ากากถั่วเหลืองรวมเปลือก (non-dehulled soybean meal) หรือไม่นำเปลือกกลับไปรวมกับกาก เรียกว่ากากถั่วเหลืองไม่รวมเปลือก(dehulled soybean meal) แล้วนำไปผ่านกระบวนการลดขนาด (วิมลพร และคณะ, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณภาพและคุณลักษณะของกากถั่วเหลืองต้องเป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร ดังนี้ ไม่จับตัวเป็นก้อนแข็ง มีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสีผิดปกติ ไม่มีกลิ่นผิดปกติ ไม่พบเชื้อราที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และไม่มีสิ่งปลอมปน ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 คุณลักษณะของกากถั่วเหลือง

คุณลักษณะ	ประเภท	
	กากถั่วเหลืองรวมเปลือก	กากถั่วเหลืองไม่รวมเปลือก
ปริมาณความชื้น (moisture content)	≤12.5 %	≤12.5 %
ปริมาณโปรตีน (crude protein content)	≥42.0 %	≥45.0 %
ปริมาณไขมัน (crude fat content)	≤2.5 %	≤2.5 %
ปริมาณกาก (crude fiber content)	≤8.0 %	≤4.5 %
ปริมาณเถ้า (ash content)	≤8.0 %	≤8.0 %
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (sand/silica content)	≤2.5 %	≤2.5 %
ค่ายูริเอส แอกติวิตี้ (Urease activity value)	0.01-0.30	0.01-0.30

หมายเหตุ คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเปียก (wet basis)
ที่มา : วิมลพร และคณะ (2558)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Qureshi และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษากระบวนการบรูณาการร่วมกันของกระบวนการย่อย การเพาะเลี้ยงและการเก็บเกี่ยวผลผลิต (simultaneous saccharification, fermentation and recovery) ในการผลิตบิวทานอลจากซังข้าวโพดโดย *Clostridium beijerinckii* P260 โดยซังข้าวโพด 86 กรัมต่อลิตร ย่อยได้น้ำตาลสูงถึงร้อยละ 97 ให้อัตราผลผลิตของอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล 0.35 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และค่าผลได้ 0.39 เมื่อใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น ให้อัตราผลผลิตสูงกว่า 0.31 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าอะซิโตนและบิวทานอลสามารถผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลส กรดอะซิติกที่ถูกปล่อยออกมาจากชีวมวลในระหว่างการปรับสภาพและย่อยก็ถูกนำมาใช้ในการผลิตอะซิโตนและบิวทานอล อัตราการผลิตน้ำตาลเฉลี่ยในช่วงการย่อยสลายซังข้าวโพดอยู่ที่ 0.98 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

มีการศึกษาการใช้รำข้าวสาลีที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการโม่ข้าวสาลีมาหมักด้วย *C. beijerinckii* ATCC 55025 (Qureshi และคณะ, 2010) ในงานวิจัยนี้ รำข้าวสาลีที่ผ่านกระบวนการไฮโดรลิซิส 53.1 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์แล้วประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวซ์หลัก 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส 21.3 กรัมต่อลิตร น้ำตาลไซโลส 17.4 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลอะราบิโนส 10.6 กรัมต่อลิตร เมื่อผ่านกระบวนการเพาะเลี้ยง พบว่าได้ความเข้มข้นบิวทานอลถึง 8.8 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กากรำข้าวถูกนำมาศึกษาเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตบิวทานอล (Liu และคณะ, 2010) โดยใช้ *C. saccharoperbutylacetonicum* N1–4 พบว่าสามารถหมักให้เอทานอลและบิวทานอลที่ความเข้มข้น 1.23 และ 7.72 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ของการผลิตเอทานอลและบิวทานอล คือ 0.04 และ 0.27 กรัมต่อกรัมกากรำข้าว และอัตราการผลิตเอทานอลและบิวทานอล 0.009 และ 0.06 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ผลวิจัยยังแสดงให้เห็นว่าโดยมากแล้ว เอทานอลและบิวทานอลจะผลิตมากที่สุดเมื่อใช้แหล่งอาหารเป็นน้ำตาลและแป้ง

Qureshi และคณะ (2008) ศึกษาการผลิตบิวทานอลจากเส้นใยข้าวโพดด้วย *Clostridium beijerinckii* โดยการใช้กรดและเอนไซม์ในการย่อย พบว่าการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตบิวทานอล ได้อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลเพียง 1.7 ±0.2 กรัมต่อลิตร ทำการกำจัดสารยับยั้งบางตัวออกด้วยเรซิน XAD-4 ส่งผลให้การผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลเป็น 9.3 ±0.5 กรัมต่อลิตร ส่วนการย่อยด้วยเอนไซม์ ไม่แสดงถึงการยับยั้งเซลล์ใดๆ และส่งผลให้มีการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลสูงถึง 8.6 ±1.0 กรัมต่อลิตร การผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลเพียง 9.3 ±0.5 กรัมต่อลิตร จากกระบวนหมักที่ใช้กรดซัลฟิวริกโดยทำการกำจัดสารยับยั้งบางตัวออกด้วยเรซิน XAD-4 ชี้ให้เห็นว่าอาจยังคงมีสารยับยั้งการเพาะเลี้ยงอยู่

จากรายงานของ Madinah และคณะ (2001) ได้มีการประยุกต์ใช้แป้งสาคูเป็นสารตั้งต้นเพื่อผลิตบิวทานอลด้วยเชื้อ *C. acetobutylicum* พบว่าสามารถผลิตเอทานอลและบิวทานอลได้ความเข้มข้น 0.5 และ 16 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ของการผลิตเอทานอลและบิวทานอล (yield) 0.01 และ 0.27 กรัมต่อกรัมแป้งสาคู อัตราการผลิต (productivity) เอทานอลและบิวทานอล 0.006 และ 0.207 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อย่างไรก็ตาม เมื่อนำผลนี้มาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแป้งสาคูกับแป้งจากมันฝรั่ง แป้งสาลี และแป้งข้าวโพด พบว่าความเข้มข้นของบิวทานอลที่ได้จากสารตั้งต้นเหล่านี้ มีค่าใกล้เคียงกันกับการใช้สารตั้งต้นที่เป็นน้ำตาล และไม่ว่าจะเป็นแป้งชนิดใดก็ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันมาก เมื่อใช้แบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเป็น *C. acetobutylicum*

ต่อมา Marchal (1985) ศึกษาการผลิตบิวทานอลจากชีวมวล โดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแก่นตะวัน (Jerusalem artichoke หรือ Sunchoke) และใช้ *C. acetobutylicum* พบว่าเมื่อหมักในสภาวะที่เหมาะสม แบคทีเรียสามารถผลิตบิวทานอลได้ที่ความเข้มข้น 13.6 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ของการผลิตบิวทานอล 0.23 กรัมต่อกรัมแก่นตะวัน โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 33 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อแบคทีเรีย *Clostriduim* G10 ที่คัดแยกได้ในห้องปฏิบัติการ (บุษบา, 2560) ถูกเก็บรักษาไว้ในกลีเซอรอลที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในสภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

3.1.2 วัสดุ

กากถั่วเหลืองแยกเปลือก เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด ถนนพระสมุทรเจดีย์ ตำบลปากคลองบางปลากด อำเภอพระสมุทรเจดีย์ จังหวัดสมุทรปราการ ในช่วงเดือนตุลาคม ปีพ.ศ. 2561

3.1.3 สารเคมี

Kjeldahl catalyst tablets	กรด 3, 5 ไดนาโตรซาลิก
กรดซัลฟิวริก	กรดบอริก
กรดอะซิติก	กรดไฮโดรคลอริก
กลูโคส	เซลโลไบโอส
โซเดียมซัลไฟต์	โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต
โซเดียมอะซิเตรต	โซเดียมไฮดรอกไซด์
โซเดียมไฮดรอกไซด์ไตรไฮเดรต	ไซโลส
บิวทานอล	ปิโตเลียมอีเทอร์
กรดบิวทิริก	ฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์
มอลโตส	อะซิโตน
เอทานอล	เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส
เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส	เอนไซม์เพคติเนส
เอนไซม์เซลลูเลส	

3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ

โถบ่มไร้ออกซิเจน (Anaerobic jar)	เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
Micropipette	ช้อนตักสาร (Spatula)
เครื่องผสมสาร (Vortex)	ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)	เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์
คิวเวตต์ (Cuvette)	จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
อุปกรณ์การย่อย (Digestion Unit)	ตู้เย็น (Refrigerator)
อ่างส่งคลื่นความถี่สูง (Sonicator bath)	ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Rack)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet extraction)
ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
เตาเผา (Muffle furnace)
โถดูดความชื้น (Desiccator)
แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)
บีกเกอร์ (Beaker)
ขวดก้นกลม (Round Bottom Flask)
ไมโครเวฟ (Microwave)
ลูกยางดูดสาร (Rubber Bulb)
หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
หลอดแก้ว (tube)
อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
อุปกรณ์การไตเตรท (Titration Unit)
อุปกรณ์การกลั่น (Distillation Unit)
เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลว
สมรรถนะสูง (HPLC)
ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask)
ทิมเบิล (Thimble)
ตู้บ่ม (Incubator)
กระบอกตวง (Cylinder)
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
ครูซิเบิล (Crucible)
ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
คีมคีบ (Forceps)
ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture cans)
ปิเปตแก้ว (Pipette)
ตู้ปลอดเชื้อ (Larminar air flow)
หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube)
เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
กระเบื้องที่มีรูพรุน (Boiling chip)
อุปกรณ์การย่อย (Digestion Unit)

3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.5.1 อาหาร Reinforced Clostridial (Difco™)

เป็นอาหารที่ใช้เก็บรักษาหัวเชื้อ *Clostridium* G10 ซึ่งในส่วนผสมของอาหาร 38 กรัมต่ออาหารปริมาตร 1 ลิตร ประกอบด้วย เปบโตน (Peptone) 10 กรัม เนื้อสัตว์สกัด (Beef Extract) 10 กรัม ยีสต์สกัด (Yeast Extract) 3 กรัม เดกซ์โทรส (Dextrose) 5 กรัม โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride) 5 กรัม แป้งที่ละลายน้ำ (Soluble Starch) 1 กรัม ซิสเทอีนไฮโดรคลอไรด์ (Cysteine hydrochloride) 0.5 กรัม โซเดียมอะซิเตรต (Sodium Acetate) 3 กรัม และวุ้น (Agar) 0.5 กรัม ชั่งอาหาร Reinforced Clostridial 38 กรัม ละลายด้วยน้ำบริสุทธิ์ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.1.5.2 อาหาร T6

ดัดแปลงจากอาหาร TYA ของ Ogata และคณะ (1973) ในอาหารปริมาตร 1 ลิตร ประกอบด้วยกลูโคส (Glucose) 50 กรัม ทริปโตน (Tryptone) 6 กรัม แอมโมเนียมอะซิเตต (Ammonium acetate) 3 กรัม ยีสต์สกัด (Yeast extract) 2 กรัม ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dipotassium hydrogen phosphate) 0.50 กรัม ซิสเทอีนไฮโดรคลอไรด์ (Cysteine hydrochloride) 0.50 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟตเตตตระไฮเดรต (Magnesium Sulphate Tetrahydrate) 0.30 กรัม เฟอรัสซัลเฟตเพนตะไฮเดรต (Ferrous sulfate Pentahydrate) 0.01 กรัม ชั่งส่วนประกอบต่างๆ ดังข้างต้น ละลายด้วยน้ำบริสุทธิ์ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร และปรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ให้เป็น 6.5 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2 การเตรียมกากถั่วเหลือง

ชั่งกากถั่วเหลือง 1 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำที่ปราศจากเชื้อและไอออน ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คิดเป็นอัตราส่วน 1 : 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์

3.3.1 ชนิดของเอนไซม์และอุณหภูมิที่เหมาะสม

เอนไซม์ที่นำมาใช้ในการหาสภาวะประกอบด้วย เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการหาสภาวะคือที่ 50 และ 60 องศาเซลเซียส

การทดลองแบ่งออกเป็น ชุดควบคุม คือน้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากเชื้อ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 ชุดการทดลองที่ 1 คือเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เซลลูเลส และเพคติเนส ชุดการทดลองที่ 2 คือเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส และชุดการทดลองที่ 3 คือเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส ซึ่งอัตราส่วนที่ใช้ในการย่อยเป็นกรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร เท่ากับ 1 : 10

โดยนำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ที่ได้จากหัวข้อ 3.2 เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 6 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ลงในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ส่วนชุดควบคุมเติมด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากเชื้อและไอออน ที่ปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 แทนการเติมเอนไซม์ ทำการเก็บตัวอย่างก่อนและหลังการบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งไว้ให้เย็นที่อุณภูมิห้อง แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส เซลลูเลส และเพคติเนส ดังแสดงในตารางที่ 3.1

จากนั้นนำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 50 หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่เก็บในแต่ละชั่วโมงใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้ส่วนที่เป็นส่วนใสและส่วนที่เป็นตะกอน นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) เพื่อเปรียบเทียบหาสภาวะที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เพื่อนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* G10 โดยแต่ละชุดจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 เอนไซม์ที่ใช้ย่อยต่อจากเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของแต่ละชุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	อะไมโลกลูโคซิเดส (0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง)	เซลลูเลส (2% โดยปริมาตร)	เพคติเนส (19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง)
ชุดควบคุม	-	-	-
ชุดการทดลองที่ 1	/	/	/
ชุดการทดลองที่ 2	/	-	/
ชุดการทดลองที่ 3	/	/	-

หมายเหตุ – ไม่เติมเอนไซม์ และ / เติมเอนไซม์

3.3.2 ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม

ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอนไซม์ โดยใช้ชนิดของเอนไซม์และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดจากหัวข้อที่ 3.3.1

ทำการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยนำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ที่ได้จากหัวข้อ 3.2 มาย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง (คำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในหน่วยยูนิตต่อกรัมได้จาก ภาคผนวก ข) นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่ได้จากหัวข้อที่ 3.3.1 นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) จะทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จากนั้นทำการหาความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสต่อ

ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส นำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ที่ได้จากหัวข้อ 3.2 มาย่อยด้วยความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมเลสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง (คำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสในหน่วยยูนิตได้จาก ภาคผนวก ข) เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่ได้จากหัวข้อที่ 3.3.1 นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) เมื่อทราบความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จากนั้นทำการหาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสต่อ

ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลส นำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ที่ได้จากหัวข้อ 3.2 มาย่อยด้วยความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร (คำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสในหน่วยยูนิตได้จาก ภาคผนวก ข) และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่ได้จากหัวข้อที่ 3.3.1 นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) เมื่อทราบความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จากนั้นทำการหาความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนสต่อ

ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์เพคติเนส นำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ที่ได้จากหัวข้อ 3.2 มาย่อยด้วยความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสและเอนไซม์เซลลูเลสที่สามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง (คำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนสในหน่วยยูนิตได้จาก ภาคผนวก ข) ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่ได้จากหัวข้อที่ 3.3.1 นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) โดยแต่ละชุดจะทำการทดลองทั้งหมดชุดละ 3 ซ้ำ

3.4 กระบวนการผลิตบิวทานอล

3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ

ทำการถ่ายเชื้อ *Clostridium* G10 ที่เก็บรักษาไว้ในกลีเซอรอล อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จำนวน 2 ลูป ลงในอาหาร Reinforced Clostridial (Difco™) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในตู้ปลอดเชื้อ นำไป Heat shock ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วในน้ำที่เย็นจัด แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Reinforced Clostridial (Difco™) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อที่อยู่ในอาหาร Reinforced Clostridial (Difco™) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหาร T6 ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร 90 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จะมีปริมาตรรวมในขวดรูปชมพู่เป็น 100 มิลลิลิตร และนำไปบ่มในตู้บ่มภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

ทำการถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ในหัวข้อ 3.4.1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ให้ได้ปริมาตรรวมเท่ากับ 350 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด โดยมีการปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ให้ได้ 50 กรัมต่อลิตร ด้วยน้ำตาลกลูโคส และอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร (น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด โดยนำไปทำให้น้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นขึ้นเป็น 50 กรัมต่อลิตร) แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยทำการเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 72 หลังจากนั้นทำการเก็บทุก 24 ชั่วโมงจนถึงชั่วโมงที่ 120 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณความน้ำตาลรีดิวซ์ และความเข้มข้นของอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล

3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากถั่วเหลือง (Proximate analysis)

3.5.1.1 การวิเคราะห์ความชื้น (ดัดแปลงจาก AOAC, 2004)

นำถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งกากถั่วเหลือง 1 กรัม ใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกว่าได้น้ำหนักที่แน่นอนหรือคงที่ แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักของกากถั่วเหลืองหลังอบด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

คำนวณหาปริมาณความชื้นดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น(\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักของกากถั่วเหลืองที่แน่นอนก่อนอบ} - \text{น้ำหนักของกากถั่วเหลืองที่แน่นอนหลังอบ})}{\text{น้ำหนักของกากถั่วเหลืองที่แน่นอนก่อนอบ}} \times 100$$

3.5.1.2 การวิเคราะห์โปรตีน (ดัดแปลงจาก AOAC, 2004)

ชั่งกากถั่วเหลือง 1 กรัม ลงในหลอดย่อย (digestion tube) ที่มี Kjeldahl catalyst tablets เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร วางหลอดย่อยลงใน tube rack วาง heat shields แล้วครอบ exhaust manifold บนปากของหลอดย่อยให้ปิดพอดี ยก rack วางบน digestion block มีที่อุณหภูมิประมาณ 180-230 องศาเซลเซียส เปิดระบบดูดควัน ย่อยจนกระทั่งเกิดควันสีขาว จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิของ digestion block เป็น 410-430 องศาเซลเซียส จนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายที่มีสีเขียวใสและย่อยต่ออีกเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง ยก tube rack ออกจากเครื่องย่อย โดยที่ยังสวม exhaust manifold อยู่ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นลงในหยอดย่อย 75 มิลลิลิตร ตั้งระบบการทำงานของเครื่องกลั่น เปิดเครื่องหล่อเย็นและเครื่องกลั่นทำการล้างระบบด้วยน้ำกลั่น ตวงกรดบอริกร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร พร้อมหยดฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1-2 หยด นำขวดรูปชมพู่วางเข้าเครื่องกลั่นทำการกลั่นเป็นเวลา 4 นาที นำสารละลายในขวดรูปชมพู่มาไตเตรตกับสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้จุดยุติซึ่งเป็นสารละลายสีชมพูอ่อน โดยเทียบกับน้ำกลั่นที่เป็นตัวควบคุม (blank) นำปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไตเตรต ไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน จากนั้นนำปริมาณไนโตรเจนที่ได้คูณกับ conversion factor โดยค่า conversion factor สำหรับอาหารชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ค่า conversion factor สำหรับอาหารชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหาร	ค่า conversion factor
จากสัตว์	
ไข่	6.25
เนื้อ	6.25
นม	6.38
จากพืช	
ข้าวบาร์เลย์	5.83
ข้าวโพด	6.25
ข้าวฟ่าง (Millets)	5.83
ข้าวโอ๊ต	5.83
ข้าว	5.95
ข้าวไรย์	5.83
ข้าวฟ่าง (Sorghums)	6.25
ข้าวสาลี : เต็มเมล็ด	5.83
รำข้าว	6.31
เอนโดสเปิร์ม	5.70
ถั่ว : เมล็ดละหุ่ง	5.30
ถั่วพร้า, ถั่วลิมา, ถั่วขาว, ถั่วเขียว	6.25
ถั่วเหลือง	5.71
หมามุ่ย	6.25
ถั่วลิสง	5.46

ที่มา : Merrill และ Watt (1973)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน(\%)} = \frac{(\text{ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง} - \text{ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไตเตรตตัวควบคุม})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 0.1 \times 0.014 \times 100$$

ปริมาณโปรตีน (%) = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน × conversion factor

3.5.1.3 การวิเคราะห์ไขมัน (ดัดแปลงจาก AOAC, 2004)

นำขวดก้นกลมไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของขวดก้นกลมด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งกากถั่วเหลือง 2 กรัมห่อด้วยกระดาษกรองใส่ลงในทิมเบิล นำทิมเบิลที่มีตัวอย่างวางลงในที่ใส่ทิมเบิล เปิดเครื่องสกัดและเครื่องทำความเย็น เติมสารละลายปิโตเลียมอีเทอร์ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมเพื่อสกัดไขมัน เปิดเครื่องทำความร้อนทำการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกให้เหลือแต่ไขมันแล้วนำขวดก้นกลมไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งและบันทึกน้ำหนัก

คำนวณหาปริมาณไขมันดังนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของขวดก้นกลมที่มีไขมัน} - \text{น้ำหนักของขวดก้นกลม}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3.5.1.4 การวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ (ดัดแปลงจาก AOAC, 2004)

ได้ทำการส่งตัวอย่างกากถั่วเหลืองไปวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ ที่ฝ่ายปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

นำถ้วยครูซิเบิลอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของครูซิเบิลด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง จากนั้นชั่งกากถั่วเหลืองที่ผ่านการวิเคราะห์ความชื้นและไขมันแล้ว 1 กรัมพร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน วางครูซิเบิลบนเครื่องสกัดเส้นใย เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.01 นอร์มอล ที่ผ่านการทำให้ร้อนประมาณ 150 มิลลิลิตรลงในคอนเดนเซอร์แก้ว ต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที กรองเอาสารละลายออกล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ร้อน 3 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.23 นอร์มอล ที่ผ่านการทำให้ร้อนประมาณ 150 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที กรองเอาสารละลายด่างออก ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ร้อน 3 ครั้งและน้ำกลั่นที่เย็น 1 ครั้ง แล้วล้างด้วยสารละลายอะซิโตนอีก 3 ครั้ง ครั้งละ 225 มิลลิลิตร นำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง จากนั้นไปเผาต่อในเตาเผาอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณหาปริมาณเยื่อใยหยาบดังนี้

$$\text{ปริมาณเยื่อใยหยาบ(\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างก่อนเผา} - \text{น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างหลังเผา})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3.5.1.5 การวิเคราะห์เถ้า (ดัดแปลงจาก AOAC, 2004)

นำครูซิเบิลไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของครูซิเบิลด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งกากถั่วเหลือง 2 กรัม ใส่ลงในครูซิเบิลนำไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลารอให้อุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส นำครูซิเบิลทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วจึงนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งและบันทึกน้ำหนัก

คำนวณปริมาณเถ้าดังนี้

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักที่แน่นอนของครูซิเบิลพร้อมตัวอย่างหลังเผา} - \text{น้ำหนักที่แน่นอนของครูซิเบิล})}{\text{น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง}} \times 100$$

3.5.1.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ดัดแปลงจาก นิธิยา, 2554)

โดยวิธีการคำนวณจากสูตร เมื่อทราบร้อยละของความชื้น, โปรตีน, ไขมัน และเถ้า นำค่าดังกล่าวมาคำนวณดังนี้

คาร์โบไฮเดรต (%) = 100% - (% ความชื้น + % ไขมัน + % โปรตีน + % เถ้า)

3.5.1.7 การวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส

ได้ทำการส่งตัวอย่างกากถั่วเหลืองไปวิเคราะห์ที่ฝ่ายปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยมีรายละเอียดดังนี้

(1) การหา Acid Detergent Fiber (ADF)

นำครูซิเบิลขนาด 50 มิลลิลิตร อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นแล้วทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก จากนั้นชั่งตัวอย่างกากถั่วเหลืองใส่ในบีกเกอร์ แล้วนำสารละลาย Acid Detergent ไปต้มให้ร้อน ตวงใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร นำไปทำการย่อยหรือ reflux นาน 1 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย หลังจากนั้นทำการกรองโดยเทสารละลายในบีกเกอร์ลงครูซิเบิลที่ชั่งน้ำหนักแล้วที่ติดกับเครื่องสุญญากาศ ล้างตัวอย่างที่อยู่ในบีกเกอร์ด้วยขวดฉีดน้ำร้อน จนกระทั่งตัวอย่างส่วนที่เหลือทั้งหมดลงในครูซิเบิลจนหมด ล้างตัวอย่างที่อยู่ในครูซิเบิลจนหมดฟอง จากนั้นล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างครูซิเบิลด้วยน้ำร้อนอีก 1 - 2 ครั้ง โดยใช้ขวดฉีดน้ำร้อน จากนั้นดูดน้ำออกด้วย vacuum pump ล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง หรือจนกระทั่งสารละลายที่ไหลออกจากครูซิเบิลไม่มีสี นำครูซิเบิลที่มีตัวอย่างไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง นำครูซิเบิลที่มีตัวอย่างออกจากตู้อบใส่ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โถดูดความชื้นจากนั้นปล่อยให้เย็นแล้ว นำมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำครูซิเบิลที่มีตัวอย่างเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้นแล้วปล่อยให้เย็น ชั่งและบันทึกน้ำหนักเถ้า นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของ ADF

คำนวณหาค่า ADF ดังนี้

$$\text{ADF (\%)} = \frac{[(\text{น้ำหนักครูซิเบิลที่มีตัวอย่าง} - \text{น้ำหนักครูซิเบิล}) \times 100]}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} - \text{\%Acid Insoluble Ash}$$

(2) การหา Acid Detergent Lignin (ADL)

นำครูซิเบิลที่มีตัวอย่างที่หาค่า ADF แล้ว มาเติมสารละลายซัลฟิวลิกร้อยละ 72 ที่เย็น (20 องศาเซลเซียส) ลงไปประมาณครึ่งครูซิเบิล จากนั้นนำไปวางลงในถาดสแตนเลสใช้แท่งแก้วคนให้ทั่ว เพื่อให้ตัวอย่างแยกออกจากกันไม่จับตัวเป็นก้อน โดยมีน้ำกลั่นที่อยู่ในถาดสแตนเลสระดับต่ำกว่าระดับของแผ่น Fritted glass รักษาอุณหภูมิของครูซิเบิลในถาดสแตนเลสที่ 20-30 องศาเซลเซียส คอยเติมสารละลายซัลฟิวลิกร้อยละ 72 เมื่อสารละลายในครูซิเบิลแห้ง คนเป็นระยะๆ ย่อยนาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปดูดเพื่อล้างสารละลายกรดออกแล้วล้างด้วยน้ำร้อน จากนั้นใช้ขวดฉีดน้ำไล่ตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างครูซิเบิลจนหมด แล้วฉีดล้างครูซิเบิลอีกหนึ่งครั้ง นำครูซิเบิลพร้อมตัวอย่างที่ย่อยแล้วนำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาใส่โถดูดความชื้นแล้วปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก เพื่อคำนวณหาปริมาณเซลลูโลสจากสูตร

การคำนวณหาปริมาณเซลลูโลส

$$\text{ปริมาณเซลลูโลส (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของครูซิเบิลรวมกับน้ำหนัก ADF-น้ำหนักของครูซิเบิลรวมกับน้ำหนักเยื่อใยหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

(3) การหา Neutral Detergent Fiber (NDF)

นำครูซิเบิลขนาด 50 มิลลิลิตร อบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนักน้ำหนัก จากนั้นชั่งตัวอย่างกากถั่วเหลืองใส่ในบีกเกอร์ (ใส่โซเดียมซัลไฟต์ 0.5 กรัมในตัวอย่างที่มีคิวตินสูง) แล้วนำสารละลาย Neutral Detergent Fiber ต้มให้ร้อนประมาณ 5 นาที เขย่าบีกเกอร์ แล้วยกลงทำการกรองโดยเทสารละลายในบีกเกอร์ลงครูซิเบิลที่ชั่งน้ำหนักแล้วที่ติดกับเครื่องสุญญากาศ ล้างตัวอย่างที่อยู่ในบีกเกอร์ด้วยขวดฉีดน้ำร้อน จนกระทั่งตัวอย่างส่วนที่เหลือทั้งหมดลงในครูซิเบิลจนหมด ล้างตัวอย่างที่อยู่ในครูซิเบิลจนหมดฟอง จากนั้นล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างครูซิเบิลด้วยน้ำร้อนอีก 1-2 ครั้ง โดยใช้ขวดฉีดน้ำร้อน จากนั้นดูดน้ำออกด้วยปั๊มสุญญากาศ ล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง หรือจนกระทั่งสารละลายที่ไหลออกจากครูซิเบิลไม่มีสี นำครูซิเบิลที่มีตัวอย่าง ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำครูซิเบิลออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาค่า NDF จากนั้นนำครูซิเบิลที่มีตัวอย่างเผาในเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้นแล้วปล่อยให้เย็น ชั่งและบันทึกน้ำหนัก นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของ NDF

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณหาค่า NDF ดังนี้

$$\text{NDF (\%)} = \frac{[(\text{น้ำหนักครูซิเบิลที่มีตัวอย่าง} - \text{น้ำหนักครูซิเบิล}) \times 100]}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} - \text{\%Acid Insoluble Ash}$$

ร้อยละของเฮมิเซลลูโลส = ร้อยละของ NDF – ร้อยละของ ADF

(4) การหาปริมาณลิกนิน

นำครูซิเบิลที่มีตัวอย่างที่วิเคราะห์หาเซลลูโลสแล้ว นำไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกใส่ในโถดูดความชื้น และทิ้งให้เย็นชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก หาลิกนินจากได้จากสูตรต่อไปนี้

การคำนวณหาปริมาณลิกนิน

$$\text{ปริมาณลิกนิน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของครูซิเบิลรวมกับน้ำหนักเยื่อใยหลังอบ} - \text{น้ำหนักของครูซิเบิลรวมกับน้ำหนักเยื่อใยหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3.5.2 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

นำหลอดปั่นเหวี่ยงไปอบในตู้อบลมร้อนอุณภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกว่ามีน้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักของหลอดปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งพร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน และนำตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง นำหลอดปั่นเหวี่ยงไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักของหลอดปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งพร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

คำนวณน้ำหนักเซลล์แห้งดังนี้

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักหลอดปั่นเหวี่ยงพร้อมเซลล์แห้ง} - \text{น้ำหนักหลอดปั่นเหวี่ยง}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่าง}} \times 1000$$

3.5.3 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.5.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller และคณะ, 1959)

เจือจางตัวอย่างในแต่ละชั่วโมงให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากนั้นนำตัวอย่างที่ทำการเจือจางแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DNS ลงไปปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ทำการคำนวณความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของ Dinitrosalicylic acid (DNS) (ภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3.2 การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลหลังการย่อย

ทำการแยกกากถั่วเหลืองออกจากสารละลายตัวอย่าง โดยการกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำส่วนใสของตัวอย่างและกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ใช้สำหรับทำเป็น Internal standard ไปกรองด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมโครอน และทำการผสมตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เข้ากับสายละลายกลีเซอรอลปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาตรรวม 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ Aminex® HPX-87H ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร มีเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส วัดค่าRefractive Index ด้วยเครื่อง RID-20A วัดการหักเหของแสง และฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลที่มี Retention time เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ไว้ล่วงหน้า หาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส มอลโตส กลูโคส เซลโลไบโอส และไซโลส ได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ก)

3.5.3.3 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์

กรองส่วนใสของตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง และสารละลายกรดซิตริกร้อยละ 2 ที่ใช้สำหรับทำเป็น Internal standard ด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.22 ไมครอน และทำการผสมตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เข้ากับสายละลายกรดซิตริกปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาตรรวม 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ Aminex® HPX-87H ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร มีเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วัดค่า Refractive Index ด้วยเครื่อง RID-20A วัดการหักเหของแสง และฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายที่มี Retention time เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ไว้ล่วงหน้า หาความเข้มข้นของสารละลายอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล กรดอะซิติก และกรดบิวริก ได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ก)

3.6 การวิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติ

ในทุกการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นอยู่ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS (IBM SPSS Statistics เวอร์ชั่น 22)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้นำกากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออก ซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือจากกระบวนการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองของโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในการผลิตตัวทำละลายอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยได้ทำการศึกษาองค์ประกอบของกากถั่วเหลือง ตลอดจนหาสภาวะในการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จากนั้นทำการศึกษาการหาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมแต่ละชนิด เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงขึ้นและนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงและการผลิต ABE ของ *Clostridium* G10

4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากถั่วเหลือง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากถั่วเหลือง ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่ากากถั่วเหลืองมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต เท่ากับร้อยละ 28.62 เฮมิเซลลูโลส เท่ากับร้อยละ 8.43 และเซลลูโลส เท่ากับร้อยละ 3.93 จะเห็นได้ว่ากากถั่วเหลืองสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตบิวทานอลได้

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบของกากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออก

องค์ประกอบ	ร้อยละ
โปรตีน	48.24
คาร์โบไฮเดรต	28.62
ความชื้น	11.84
ไขมัน	1.04
เยื่อใยหยาบ	3.47
เถ้า	6.79
เฮมิเซลลูโลส	8.43
เซลลูโลส	3.93
ลิกนิน	1.74

จากการศึกษางานวิจัยของ Banaszkiewicz (2011) เกี่ยวกับองค์ประกอบของกากถั่วเหลือง พบว่ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 43.8-49.9 ปริมาณเถ้าร้อยละ 5.6-7.2 ปริมาณไขมันร้อยละ 0.55-3.00 และปริมาณเยื่อใยหยาบร้อยละ 4.3-7.2 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับตารางที่ 4.1 คือมีร้อยละของปริมาณโปรตีน 46.12 ร้อยละของปริมาณเถ้า 6.79 ร้อยละของปริมาณไขมัน 1.04 และร้อยละของปริมาณเยื่อใยหยาบ 3.47 นอกจากนี้ยังพบว่าในถั่วเหลืองนั้นมีปริมาณของแป้งอยู่ร้อยละ 4.66-7.0 ถือเป็นปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของเฮมิเซลลูโลส 50% และปริมาณแพคติน 30% ของเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใยทั้งหมด ซึ่งองค์ประกอบของถั่วเหลืองยังรวมไปถึงกรดอะมิโนจำเป็นที่มีปริมาณมากหลายชนิด เช่น อะดีนีน ชิสเทอีน ไลซีน ลิวซีน วาลีน ทริปโตแฟน เป็นต้น

4.2 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์

4.2.1 ผลการศึกษาชนิดของเอนไซม์และอุณหภูมิที่เหมาะสม

จากการศึกษางานวิจัยของณัฐพงษ์ และเศรษฐวัชร (2015) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์ เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส การศึกษาแบ่งเป็นการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก และการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส ผลการทดลองพบว่าสามารถย่อยกากมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ 79.17 กรัมต่อลิตร โดยการใช้กรดซัลฟิวริก และการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้เท่ากับ 82.37 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าน้ำตาลกลูโคสที่ได้การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก

จากผลการทดลองหัวข้อ 4.1 ทำให้ทราบว่ากากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออกสามารถนำมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตบิวทานอล โดยเชื้อ *Clostridium* G10 ได้ และจากงานวิจัยข้างต้นจึงได้นำกากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออกมาย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* G10 เพื่อผลิตบิวทานอล

จากการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยกากถั่วเหลืองได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.2 4.3 และรูปที่ 4.1 โดยรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าชุดทดลองที่ 1 ซึ่งประกอบด้วยกากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง เป็นกระบวนลิเคอแฟคชั่นจะใช้เอนไซม์มาลดความหนืดของแป้ง โดยการย่อยโมเลกุลของแป้งแบบสุ่มของลูกโซ่กลูโคส ทำให้เป็นสายสั้นลง โมเลกุลเล็กลงและมีความหนืดลดลง (สวลี และคณะ, 2555) และย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส เซลลูเลส และเอนไซม์เพคติเนส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์เพคติเนส เนื่องจากเกิดกิจกรรมได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการย่อยโครงสร้างพืชที่เป็นเพคตินได้ดี จากนั้นเอนไซม์เซลลูเลสจะย่อยโครงสร้างที่เป็นเซลลูโลส ทำให้แป้งที่อยู่ในโครงสร้างพืชละลายออกมา (Collares และคณะ, 2012) เอนไซม์กลูโคอะไมเลสหรืออะไมโลกลูโคซิเดสที่ย่อยเม็ดแป้งที่เกาะอยู่บริเวณนอกเส้นใยให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสส่วนหนึ่ง และการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสได้ย่อยเส้นใยเซลลูโลส ทำให้เม็ดแป้งที่อยู่ด้านในเส้นใยหลุดออกเป็นผลทำให้แป้งถูกเอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยกลายเป็นน้ำตาลได้อีก (ณัฐพงษ์ และเศรษฐวัชร, 2015) และเนื่องจากชุดทดลองที่ 1 ที่เวลา 48 72 และ 96 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 0.073 ±0.000 0.073 ±0.001 และ 0.074 ±0.000 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่ 1 ของอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.3) พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเพียง 0.032 ±0.003 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าชุดการทดลองที่ 1 ของอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 6 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง)		
	ชุดทดลองที่ 1	ชุดทดลองที่ 2	ชุดทดลองที่ 3
0	0.005^{d} ±0.001	0.005^{c} ±0.001	0.006^{e} ±0.000
24	0.057^{c} ±0.000	0.034^{b} ±0.003	0.025^{d} ±0.002
48	0.073^{b} ±0.000	0.041^{a} ±0.002	0.030^{c} ±0.001
72	0.073^{ab} ±0.001	0.041^{a} ±0.002	0.054^{b} ±0.002
96	0.074^{a} ±0.000	0.043^{a} ±0.000	0.064^{a} ±0.002

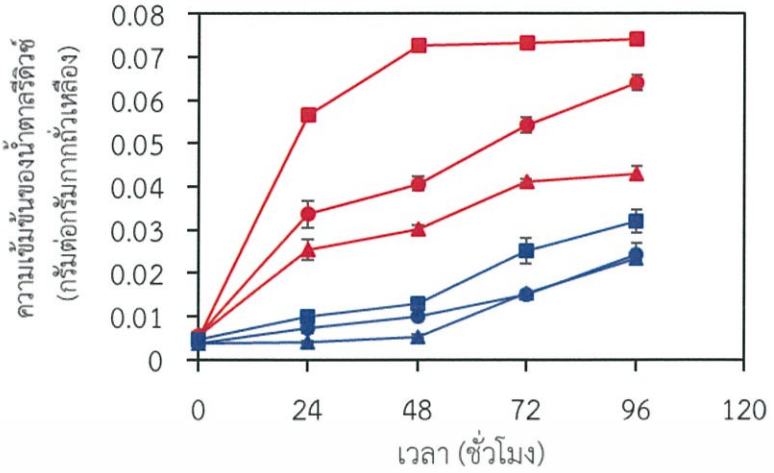
หมายเหตุ a b c d และ e ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ชุดทดลองที่ 1 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เซลลูเลส และเพคติเนส
ชุดทดลองที่ 2 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส
ชุดทดลองที่ 3 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส

ตารางที่ 4.3 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 6 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง)		
	ชุดทดลองที่ 1	ชุดทดลองที่ 2	ชุดทดลองที่ 3
0	0.005^{d} ±0.001	0.004^{d} ±0.000	0.004^{e} ±0.001
24	0.010^{c} ±0.001	0.004^{d} ±0.000	0.007^{d} ±0.001
48	0.013^{c} ±0.001	0.005^{c} ±0.000	0.010^{c} ±0.000
72	0.025^{b} ±0.003	0.015^{b} ±0.001	0.015^{b} ±0.001
96	0.032^{a} ±0.003	0.023^{a} ±0.000	0.024^{a} ±0.002

หมายเหตุ a b c d และ e ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ชุดทดลองที่ 1 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เซลลูเลส และเพคติเนส
ชุดทดลองที่ 2 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส
ชุดทดลองที่ 3 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (■ คือชุดทดลองที่ 1 ● คือชุดทดลองที่ 2 ▲ คือชุดทดลองที่ 3) และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (■ คือชุดทดลองที่ 1, ● คือชุดทดลองที่ 2 และ ▲ คือชุดทดลองที่ 3)
โดย ชุดทดลองที่ 1 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เซลลูเลส และเพคติเนส
ชุดทดลองที่ 2 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส
ชุดทดลองที่ 3 ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส

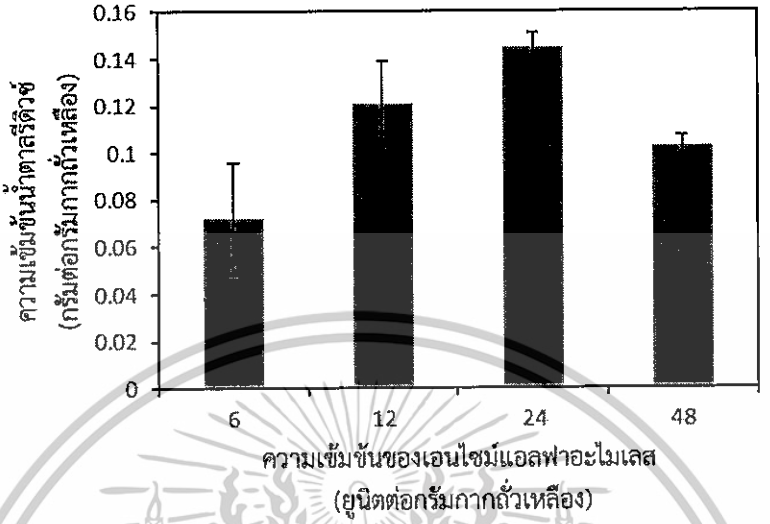
4.2.2 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์

ศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม โดยใช้สภาวะที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อที่ 4.2.1 เพื่อสามารถย่อยกากถั่วเหลืองให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ในการทดลองกากถั่วเหลืองจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลืองในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

ผลการทดลองปรากฏดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงที่สุดคือ 0.145 ±0.006 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง รองลงมาคือความเข้มข้น 12 48 และ 6 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 0.121 ±0.018 0.103 ±0.004 และ 0.072 ±0.024 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้น 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และยังพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ แต่เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้นต้องใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสม เนื่องจากหากใช้ความเข้มข้นน้อยเกินไป จะไม่เพียงพอต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรตเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาล ถ้าหากใช้ความเข้มข้นมากเกินไป จะย่อยได้น้ำตาลปริมาณมากซึ่งส่งผลให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (วรลักษณ์, 2556) สรุปได้ว่าความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะที่เหมาะสมต่อการย่อยคือ 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง



รูปที่ 4.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง โดยบ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

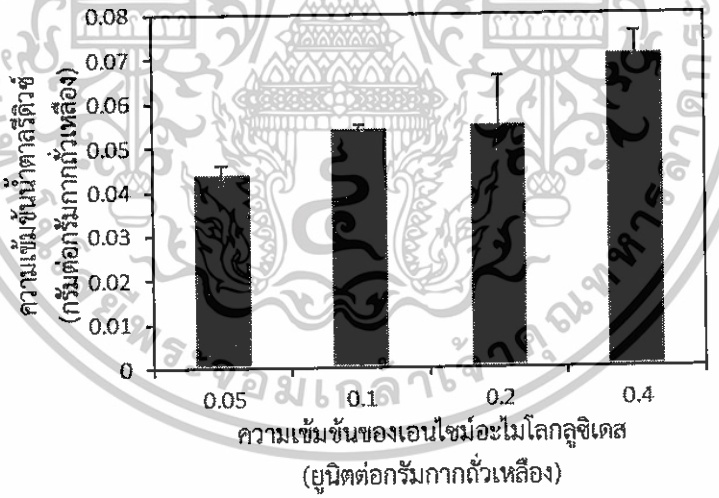
ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง)	ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง)
6	$0.072^{c} \pm 0.024$
12	$0.121^{b} \pm 0.018$
24	$0.145^{ab} \pm 0.006$
48	$0.103^{a} \pm 0.004$

หมายเหตุ a b c และ d ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส โดยนำกากถั่วเหลืองย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

ผลการทดลองปรากฏดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น คือ 0.071 ±0.005 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง รองลงมาคือความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 0.044 ±0.002 0.054 ±0.001 และ 0.055 ±0.011 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และจากผลการทดลองเห็นได้ชัดว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดจากการทดลอง คือ 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง



รูปที่ 4.3 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟ่าอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยแอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

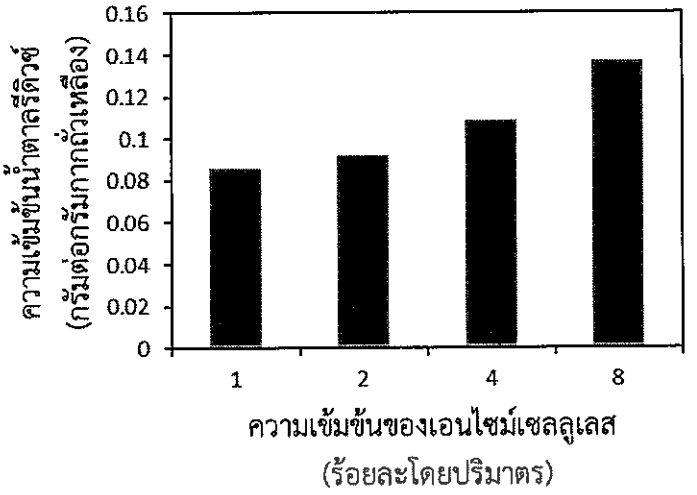
อัตราส่วนของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง)	ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง)
0.05	0.044^{b} ±0.002
0.1	0.054^{b} ±0.001
0.2	0.055^{b} ±0.011
0.4	0.071^{a} ±0.005

หมายเหตุ a และ b ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลส โดยนำกากถั่วเหลืองย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

ผลการทดลองปรากฏดังตารางที่ 4.6 และ รูปที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตรให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงสุดคือ 0.137 ±0.008 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 1 2 และ 4 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 0.086 ±0.004 0.092 ±0.005 และ 0.109 ±0.009 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 และ 4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ ยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเอนไซม์ และความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลส คือร้อยละ 8 โดยปริมาตร จึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าวไปศึกษาผลของความเข้มข้นเอนไซม์เพคติเนสต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.6 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยแอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

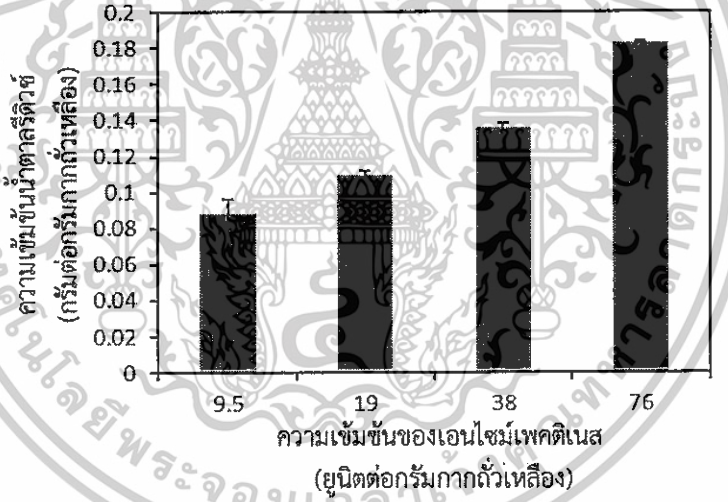
ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลส (ร้อยละโดยปริมาตร)	ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง)
1	0.086^{c} ±0.004
2	0.092^{c} ±0.005
4	0.109^{b} ±0.009
8	0.137^{a} ±0.008

หมายเหตุ a b และ c ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนส โดยนำกากถั่วเหลืองย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตรและเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

ผลการทดลองปรากฏดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงที่สุด คือ 0.183 ±0.001 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 9.5 19 และ 38 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 0.088 ±0.008 0.110 ±0.002 และ 0.136 ±0.002 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้นเอนไซม์แพคติเนสมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์เพคติเนสคือ 38 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง



รูปที่ 4.5 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนสต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยแอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนส (ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง)	ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง)
9.5	$0.088^{d} \pm 0.008$
19	$0.110^{c} \pm 0.002$
38	$0.136^{b} \pm 0.002$
76	$0.183^{a} \pm 0.001$

4.3 ชนิดของน้ำตาลหลังการย่อยด้วยเอนไซม์

จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ชนิดและปริมาณของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส ด้วยสภาวะที่เหมาะสม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าชนิดของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 0.085 ±0.000 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง ซึ่งได้มาจากการย่อยคาร์โบไฮเดรต เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส น้ำตาลมอลโตส 0.019 ±0.000 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง ซึ่งได้มาจากการย่อยคาร์โบไฮเดรต น้ำตาลไซโลส 0.051 ±0.000 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง ซึ่งได้มาจากการย่อยเฮมิเซลลูโลส และน้ำตาลเซลโลไบโอส 0.028 ±0.000 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง ซึ่งได้มาจากการย่อยเซลลูโลส (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.8 ชนิดของน้ำตาลจากกากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส

ชนิดของน้ำตาล	ความเข้มข้นของน้ำตาล (กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง)
กลูโคส	0.085 ±0.000
มอลโตส	0.019 ±0.000
ไซโลส	0.051 ±0.000
เซลโลไบโอส	0.028 ±0.000

เนื่องจากกากถั่วเหลืองมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรต พบว่าคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์มีองค์ประกอบหลักคือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลส ที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งน้ำตาลกลูโคสเกิดจากการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบของกากถั่วเหลือง (Aguilar และคณะ, 2007) ซึ่งเซลลูโลสมีโครงสร้างเป็นน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1, 4-glycosidic ในการย่อยเซลลูโลสจึงจำเป็นต้องใช้เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเมื่อเกิดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย่อยที่สมบูรณ์เอนไซม์เซลลูเลสจะทำหน้าที่ตัดพันธะไกลโคซิดิก ทำให้เกิดการสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส แต่ถ้าเกิดการย่อยที่ไม่สมบูรณ์จะทำให้ได้น้ำตาลเซลโลไบโอสและโอลิโกแซคคาไรด์จากการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส โดยน้ำตาลเซลโลไบโอสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 2 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะ β-1, 4-glycosidic (ธนพร และวรรัตน์, 2554) น้ำตาลไซโลสเกิดจากปฏิกิริยาการย่อยไซแลนที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างเฮมิเซลลูโลส และน้ำตาลมอลโตสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ เกิดจากกลูโคส 2 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันด้วย α-1,4-glycosidic linkage โดยจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะ α -1,4 glycosidic และพันธะ α -1,6 glycosidic (ณัฐพงษ์ และเศรษฐวัชร, 2558) จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์และการผลิตสารละลายอินทรีย์ เมื่อเทียบกับการย่อยด้วยกรดที่จะไปยับยั้งการเจริญของเซลล์และการผลิตสารละลายอินทรีย์ (Qureshi และคณะ, 2008)

4.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp.

หลังจากที่ทำการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 12 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร และเพคติเนสความเข้มข้น 76 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ในอัตราส่วน 1 : 10 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เพื่อนำไปใช้เป็นอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์โดยมีการปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยน้ำตาลกลูโคส และอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว นำไปบ่มในตู้บ่มภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง และทำการเก็บตัวอย่าง โดยตัวอย่างที่เก็บจะถูกนำไปวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter) และหาความหนาแน่นของเซลล์โดยวัดความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS และความเข้มข้นตัวทำละลายอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ส่วนตะกอนนำไปวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.9 รูปที่ 4.6 (ข) พบว่าความหนาแน่นของเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง โดยชั่วโมงที่ 0 มีความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ 0.46 ±0.03 และเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 1.72 ±0.02 จากนั้นคงที่ตลอดการเพาะเลี้ยง ส่วนในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่ามีความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.85 ±0.06 โดยชั่วโมงที่ 0 มีความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ 0.50 ±0.04 ดังแสดงในตารางที่ 4.10 รูปที่ 4.7 (ข) และอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ชั่วโมงที่ 0 มีความหนาแน่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 0.52 ±0.05 และชั่วโมงที่ 72 มีหนาแน่นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 1.41 ±0.19 ดังแสดงในตารางที่ 4.11 รูปที่ 4.8 (ข)

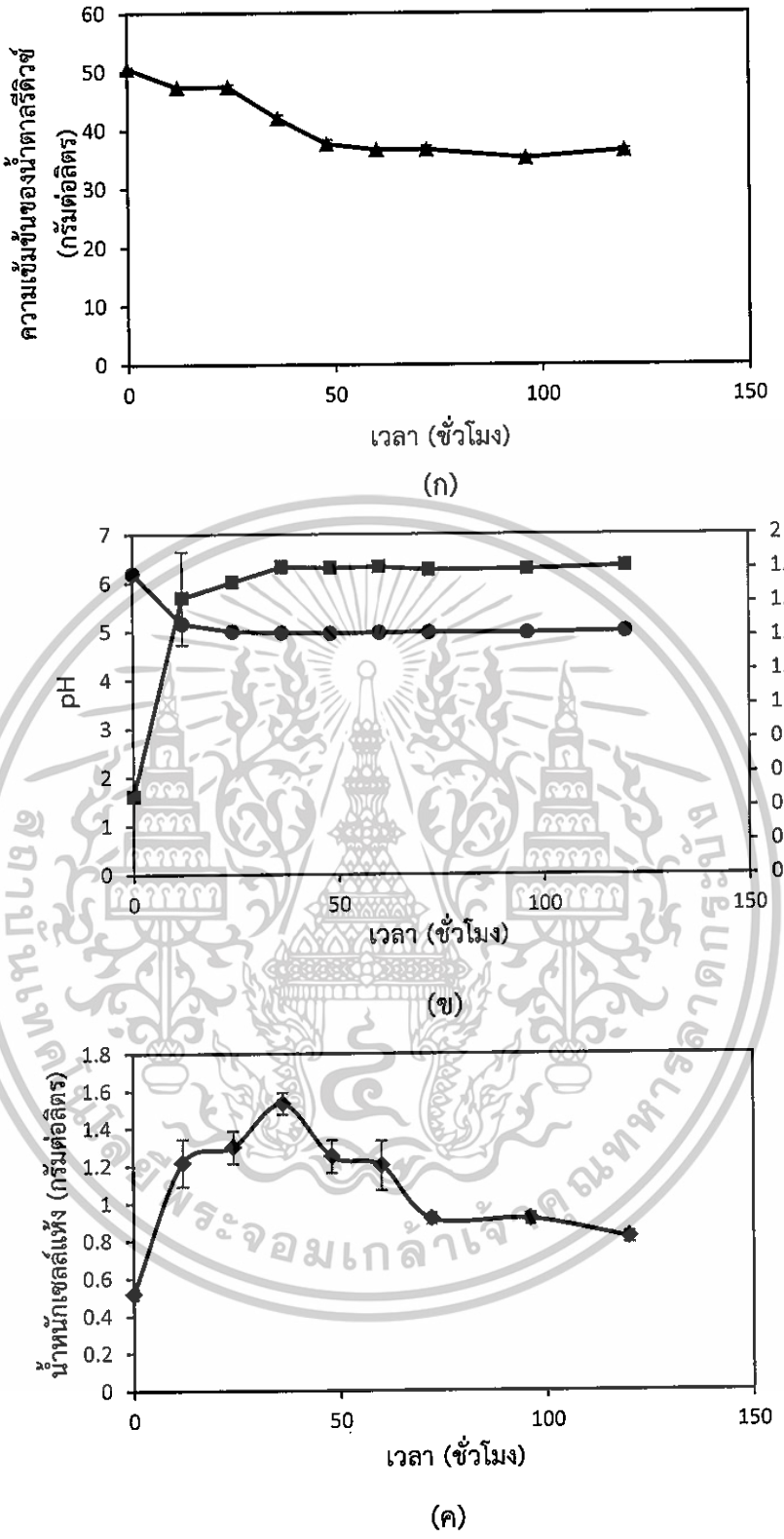
ตารางที่ 4.9 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ค่าความหนาแน่นของเซลล์ (OD 600 nm)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	6.20^{a} ±0.02	0.46^{c} ±0.03	0.52^{d} ±0.03	50.56^{a} ±0.30
12	5.17^{b} ±0.01	1.63^{b} ±0.27	1.22^{b} ±0.13	47.37^{b} ±0.17
24	5.00^{c} ±0.04	1.72^{ab} ±0.02	1.30^{b} ±0.09	47.44^{b} ±0.33
36	4.98^{c} ±0.05	1.81^{ab} ±0.04	1.53^{a} ±0.06	42.04^{c} ±0.56
48	4.96^{c} ±0.03	1.80^{ab} ±0.03	1.25^{b} ±0.09	37.67^{d} ±0.73
60	4.98^{c} ±0.04	1.81^{ab} ±0.02	1.20^{b} ±0.13	36.65^{e} ±0.29
72	4.99^{c} ±0.01	1.79^{ab} ±0.03	0.92^{d} ±0.03	36.69^{e} ±0.59
96	4.97^{c} ±0.02	1.79^{ab} ±0.02	0.92^{d} ±0.03	35.20^{f} ±0.43
120	5.00^{c} ±0.04	1.81^{a} ±0.03	0.82^{d} ±0.03	36.46^{e} ±0.35

หมายเหตุ a b c d e และ f ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารเลี้ยงเชื้อ T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส พบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.53 ±0.06 กรัมต่อลิตร โดยชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.52 ±0.03 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.9 รูปที่ 4.6 (ค) ส่วนในอาหารT6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.98 ±0.20 กรัมต่อลิตร โดยชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.53 ±0.06 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.10 รูปที่ 4.7 (ค) ส่วนอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว พบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 0.55 ±0.05 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 1.87 ±0.51 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.8 (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ข้อมูลจากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ก) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (▲) (ข) ความหนาแน่นของเซลล์โดยวัดความขุ่น (■ OD 600 nm) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (●) (ค) น้ำหนักเซลล์แห้ง (◆)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.6 (ก) แสดงผลหลังจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* G10 ด้วยอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มคงที่ในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 24 และลดลงเหลือน้อยสุดในชั่วโมงที่ 96 ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 35.20 ±0.43 กรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงต่อไปจนถึงชั่วโมงที่ 120 และจากผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ตารางที่ 4.10 รูปที่ 4.7 (ก) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 48.15 ±0.56 กรัมต่อลิตร และลดลงต่ำสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 26.65 ±0.20 กรัมต่อลิตร และคงที่ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ส่วนผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว พบว่าตารางที่ 4.11 รูปที่ 4.8 (ก) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 53.96 ±3.05 กรัมต่อลิตร และลดลงเหลือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุดเท่ากับ 33.95 ±1.40 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการเพาะเลี้ยง

ตารางที่ 4.10 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้นรวม 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

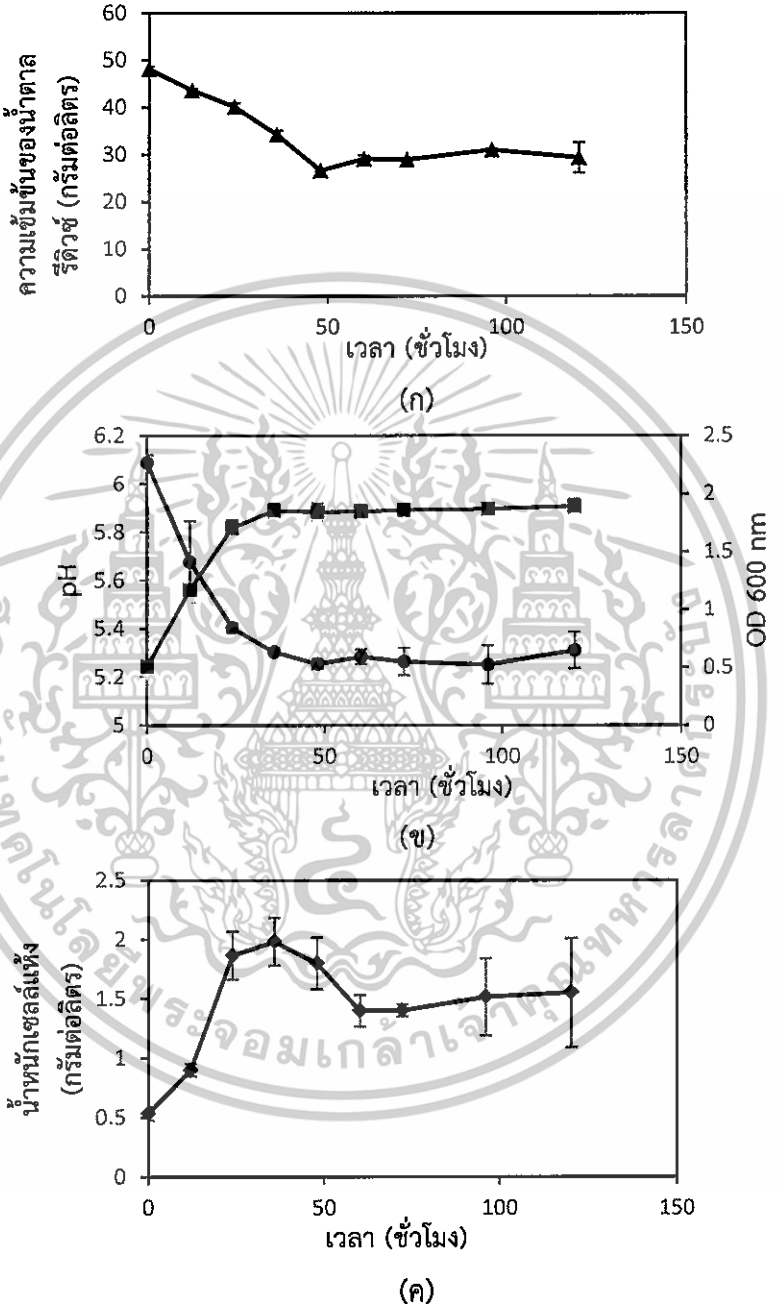
เวลา (ชั่วโมง)	ความเป็นกรด-ด่าง	ความหนาแน่นของเซลล์ (OD 600 nm)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	6.09^{a} ±0.03	0.50^{d} ±0.04	0.53^{d} ±0.06	48.15^{a} ±0.56
12	5.68^{b}±0.17	1.17^{c} ±0.03	0.90^{d} ±0.05	43.70^{b} ±0.32
24	5.40^{c} ±0.02	1.70^{d} ±0.07	1.87^{ab} ±0.20	40.11^{c} ±0.80
36	5.30d^{c} ±0.01	1.85^{a} ±0.06	1.98^{a} ±0.20	34.29^{d} ±0.89
48	5.25^{d} ±0.02	1.84^{a} ±0.07	1.80^{abc} ±0.22	26.65^{f} ±0.20
60	5.28^{cd} ±0.03	1.84^{a} ±0.06	1.40^{c} ±0.13	29.08^{e} ±0.75
72	5.26^{d} ±0.06	1.86^{a} ±0.06	1.40^{c} ±0.05	28.97^{e} ±0.41
96	5.25^{d} ±0.08	1.87^{a} ±0.05	1.52^{bc} ±0.32	30.98^{e} ±0.22
120	5.31^{cd} ±0.07	1.89^{a} ±0.06	1.55^{bc} ±0.46	29.35^{e} ±3.20

หมายเหตุ a b c d e และ f ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่าง ความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหาร T6 ชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่าอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 6.20 ±0.02 และลดลงในที่ชั่วโมง 24 เท่ากับ 5.00 ±0.04 ซึ่งสัมพันธ์กับค่าความหนาแน่นของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 24 เช่นเดียวกัน มีค่าเท่ากับ 1.72 ±0.02 และมีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกับน้ำหนักเซลล์แห้งที่สูงสุดในชั่วโมงที่ 36 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.53 ±0.06 กรัมต่อลิตร โดยสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงอย่างเห็นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชัดในชั่วโมงที่ 36 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 42.04 ±0.56 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีความสัมพันธ์กันกับค่าความเป็นกรด-ด่าง ความหนาแน่นของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงในขณะที่ความหนาแน่นของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการนำน้ำตาลไปใช้ในการเจริญ



รูปที่ 4.7 ข้อมูลจากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ความเข้มข้นรวม 50 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ก) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (▲) (ข) ความหนาแน่นของเซลล์โดยวัดความขุ่น (■ OD 600 nm) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (●) (ค) น้ำหนักเซลล์แห้ง (◆)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

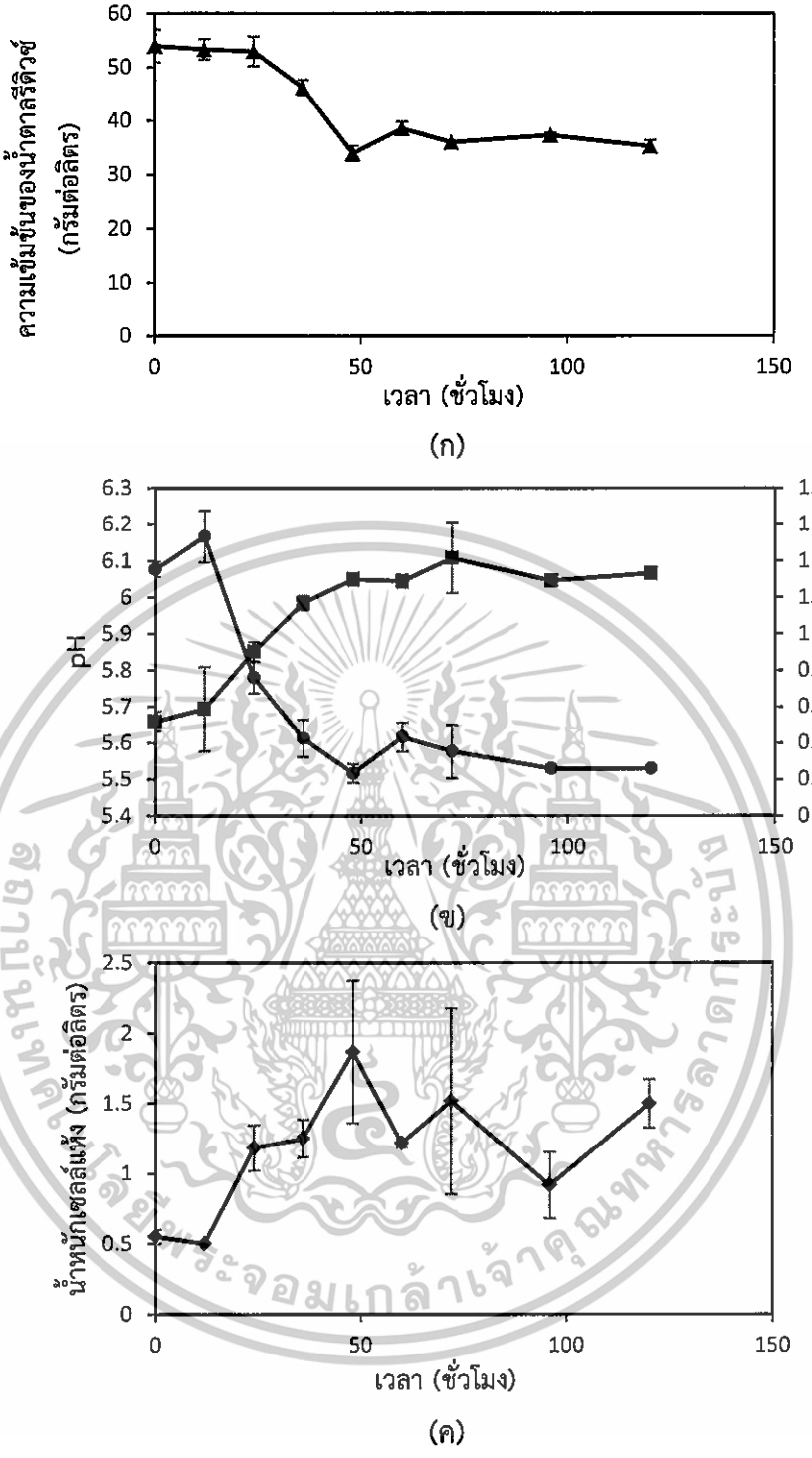
ตารางที่ 4.11 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนาแน่นของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเป็นกรด-ด่าง	ความหนาแน่นของเซลล์ (OD 600 nm)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	6.08^{b} ±0.02	0.52^{d} ±0.05	0.55^{d} ±0.05	53.96^{a} ±3.05
12	6.17^{a} ±0.07	0.59^{d} ±0.23	0.50^{d} ±0.00	53.33^{a} ±1.87
24	5.78^{c} ±0.04	0.90^{c} ±0.05	1.18^{bc} ±0.16	52.96^{a} ±2.73
36	5.61^{d} ±0.05	1.17^{b} ±0.04	1.25^{bc} ±0.13	46.26^{b} ±1.40
48	5.52^{e} ±0.02	1.30^{ab} ±0.03	1.87^{a} ±0.51	33.95^{e} ±1.40
60	5.62^{d} ±0.04	1.29^{ab} ±0.03	1.22^{bc} ±0.03	38.59^{c} ±1.25
72	5.58^{de} ±0.07	1.41^{a} ±0.19	1.52^{ab} ±0.66	36.04^{cde} ±0.18
96	5.53^{e} ±0.01	1.29^{ab} ±0.03	0.92^{cd} ±0.24	37.33^{cd} ±0.44
120	5.53^{e} ±0.00	1.33^{ab} ±0.03	1.50^{ab} ±0.17	35.26^{de} ±1.14

หมายเหตุ a b c d และ e ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* G10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก กรดบิวทิริกอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลดังตารางที่ 4.12, 4.13 และ 4.14 พบว่าตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.9 (ก) คือผลจากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส โดยผลการทดลองไม่พบปริมาณความเข้มข้นอะซิโตนตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อซึ่งอาจเป็นเพราะเชื้อผลิตอะซิโตนได้ในปริมาณน้อยมากจนเครื่อง HPLC ไม่สามารถวิเคราะห์ค่าได้ พบปริมาณบิวทานอลและเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 1.26 ±0.28 และ 0.17 ±0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ความเข้มข้นของกรดอะซิติกในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 3.46 ±0.03 กรัมต่อลิตร จากนั้นค่อยๆ ลดลงเหลือ 2.25 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ส่วนปริมาณกรดบิวทิริกนั้นมีความเข้มข้นสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 3.62 ±0.14 กรัมต่อลิตร จากตารางที่ 4.13 และ รูปที่ 4.9 (ข) คือผลการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งผลการทดลองนั้นไม่พบปริมาณความเข้มข้นอะซิโตนเช่นเดียวกับชุดควบคุม โดยพบปริมาณบิวทานอลและเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 1.64 ±0.38 และ 0.23 ±0.00 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 พบความเข้มข้นกรดอะซิติกสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 เท่ากับ 4.31 ±0.07 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของกรดบิวทิริกสูงสุดเท่ากับ 4.53 ±0.36 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 จากตารางที่ 4.14 และ รูปที่ 4.9 (ค) คือผลการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว จากผลการทดลองไม่พบปริมาณความเข้มข้นอะซิโตนเช่นเดียวกับชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ข้อมูลจากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ก) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (▲) (ข) ความหนาแน่นของเซลล์โดยวัดความขุ่น (■ OD 600 nm) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (●) (ค) น้ำหนักเซลล์แห้ง (◆)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งพบปริมาณบิวทานอลและเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 0.18 ±0.01 และ 0.60 ±0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 0 ความเข้มข้นกรดอะซิติก เท่ากับ 4.32 ±0.01 กรัมต่อลิตร และลดลงจนถึง 3.09 ±0.34 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ส่วนความเข้มข้นของกรดบิวทิริกสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 3.77 ±0.14 กรัมต่อลิตร

เปรียบเทียบการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณความเข้มข้นอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมมีน้ำตาลกลูโคส เปรียบเทียบกับชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ และชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในตารางที่ 4.15 พบว่าจากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ มีปริมาณบิวทานอลและอะซิโตนมากกว่าการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสและชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว แต่ปริมาณเอทานอลพบว่าการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ มีปริมาณเอทานอลมากที่สุดจากผลการวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่าหากเชื้อเจริญเติบโตมาก เชื้อจะผลิตตัวทำละลายอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น แต่หากเชื้อเจริญเติบโตน้อย เชื้อก็จะผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้ในปริมาณน้อย ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่าอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียว ให้ผลผลิตตัวทำละลายอินทรีย์มากกว่าอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์

จากตารางที่ 4.9, 4.10 และ 4.11 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารทั้ง 3 ชนิด โดยพบว่าในอาหาร T6 ชุดควบคุม ชั่วโมงที่ 0 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.20 ±0.02 และเริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 5.00 ±0.04 และลดลงอย่างคงที่จนสิ้นสุดกระบวนการเพาะเลี้ยง ในขณะเดียวกันค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 6.09 ±0.03 และเริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 5.40 ±0.02 และลดลงอย่างคงที่จนสิ้นสุดกระบวนการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับอาหาร T6 ชุดควบคุม ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เพียงอย่างเดียวนั้น ในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 6.08 ±0.02 และเริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 5.78 ±0.04 และลดลงอย่างคงที่จนสิ้นสุดกระบวนการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับอาหาร T6 ชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อันเนื่องมาจากเมแทบอลิซึมของเชื้อ *Clostridium* G10 โดยในระยะแรกเชื้อจะสร้างกรดบิวทิริกก่อนจึงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงและเมื่อเชื้อผลิตทำละลายจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (สุนทร, 2555) อย่างไรก็ตามผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำหนักเซลล์แห้งมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งความหนาแน่นของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำหนักเซลล์แห้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง จึงส่งผลให้การผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	กรดอะซิติก (กรัมต่อลิตร)	กรดบิวทิริก (กรัมต่อลิตร)	อะซิโตน (กรัมต่อลิตร)	บิวทานอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)
0	$3.46^{a} \pm 0.03$	$0.45^{e} \pm 0.13$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$0.17^{d} \pm 0.02$	$0.00^{c} \pm 0.00$
12	$3.54^{a} \pm 0.09$	$2.15^{d} \pm 0.16$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$0.19^{d} \pm 0.02$	$0.09^{b} \pm 0.01$
24	$2.58^{b} \pm 0.26$	$2.59^{cd} \pm 0.48$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$1.26^{a} \pm 0.28$	$0.17^{a} \pm 0.02$
36	$2.56^{b} \pm 0.05$	$3.29^{ab} \pm 0.64$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$0.85^{c} \pm 0.07$	$0.15^{a} \pm 0.03$
48	$2.43^{bc} \pm 0.32$	$2.86^{bc} \pm 0.02$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$1.25^{a} \pm 0.06$	$0.16^{a} \pm 0.03$
60	$2.46^{bc} \pm 0.04$	$3.62^{a} \pm 0.14$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$0.91^{c} \pm 0.08$	$0.00^{c} \pm 0.00$
72	$2.40^{bc} \pm 0.12$	$3.47^{a} \pm 0.27$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$0.84^{c} \pm 0.15$	$0.00^{c} \pm 0.00$
96	$2.26^{bc} \pm 0.22$	$3.29^{ab} \pm 0.08$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$1.17^{ab} \pm 0.04$	$0.00^{c} \pm 0.00$
120	$2.25^{c} \pm 0.11$	$3.15^{ab} \pm 0.25$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$1.00^{bc} \pm 0.15$	$0.00^{c} \pm 0.00$

หมายเหตุ a b c และ d ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 4.13 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองรวม 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	กรดอะซิติก (กรัมต่อลิตร)	กรดบิวทิริก (กรัมต่อลิตร)	อะซิโตน (กรัมต่อลิตร)	บิวทานอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)
0	$3.84^{b} \pm 0.06$	$0.28^{e} \pm 0.11$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$0.11^{b} \pm 0.02$	$0.00^{b} \pm 0.00$
12	$4.31^{a} \pm 0.07$	$1.22^{d} \pm 0.34$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.12^{b} \pm 0.03$	$0.05^{b} \pm 0.02$
24	$2.99^{c} \pm 0.05$	$3.49^{c} \pm 0.48$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.64^{a} \pm 0.38$	$0.23^{a} \pm 0.00$
36	$2.52^{d} \pm 0.03$	$3.84^{abc} \pm 0.30$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.56^{a} \pm 0.35$	$0.26^{a} \pm 0.02$
48	$2.11^{e} \pm 0.40$	$3.69^{bc} \pm 0.52$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.81^{a} \pm 0.63$	$0.26^{a} \pm 0.10$
60	$2.38^{de} \pm 0.07$	$4.40^{ab} \pm 0.14$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.66^{a} \pm 0.40$	$0.00^{b} \pm 0.00$
72	$2.36^{de} \pm 0.08$	$4.53^{a} \pm 0.36$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.96^{a} \pm 0.31$	$0.00^{b} \pm 0.00$
96	$2.42^{de} \pm 0.15$	$4.32^{ab} \pm 0.27$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.93^{a} \pm 0.44$	$0.26^{a} \pm 0.03$
120	$3.84^{de} \pm 0.30$	$4.36^{ab} \pm 0.84$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.73^{a} \pm 0.54$	$0.00^{b} \pm 0.00$

หมายเหตุ a b c d และ e ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่วิเคราะห์ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	กรดอะซิติก (กรัมต่อลิตร)	กรดบิวทิริก (กรัมต่อลิตร)	อะซิโตน (กรัมต่อลิตร)	บิวทานอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)
0	$4.32^{a} \pm 0.05$	$0.17^{g} \pm 0.02$	$0.00^{a} \pm 0.00$	$0.05^{e} \pm 0.01$	$0.00^{c} \pm 0.00$
12	$4.38^{a} \pm 0.07$	$0.37^{f} \pm 0.00$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.05^{e} \pm 0.00$	$0.05^{c} \pm 0.00$
24	$4.47^{a} \pm 0.38$	$0.90^{e} \pm 0.02$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.09^{d} \pm 0.01$	$0.37^{b} \pm 0.10$
36	$3.75^{b} \pm 0.01$	$2.73^{d} \pm 0.21$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.12^{bcd} \pm 0.01$	$0.42^{b} \pm 0.02$
48	$3.09^{d} \pm 0.34$	$3.36^{c} \pm 0.11$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.13^{bcd} \pm 0.01$	$0.29^{b} \pm 0.01$
60	$3.26^{cd} \pm 0.06$	$3.55^{bc} \pm 0.06$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.11^{cd} \pm 0.02$	$0.32^{b} \pm 0.01$
72	$3.44^{bc} \pm 0.01$	$3.77^{a} \pm 0.14$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.18^{a} \pm 0.01$	$0.60^{a} \pm 0.04$
96	$3.46^{bc} \pm 0.14$	$3.54^{bc} \pm 0.11$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.14^{bc} \pm 0.05$	$0.61^{a} \pm 0.15$
120	$3.73^{b} \pm 0.15$	$3.60^{ab} \pm 0.17$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.15^{ab} \pm 0.02$	$0.64^{a} \pm 0.12$

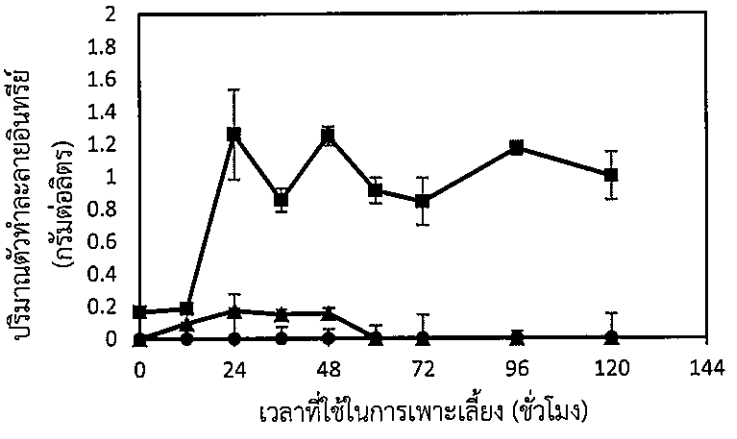
หมายเหตุ a b c d e f และ g ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 4.15 การเปรียบเทียบความเข้มข้นสูงสุดของบิวทานอลและเอทานอล ระหว่างชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ และชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

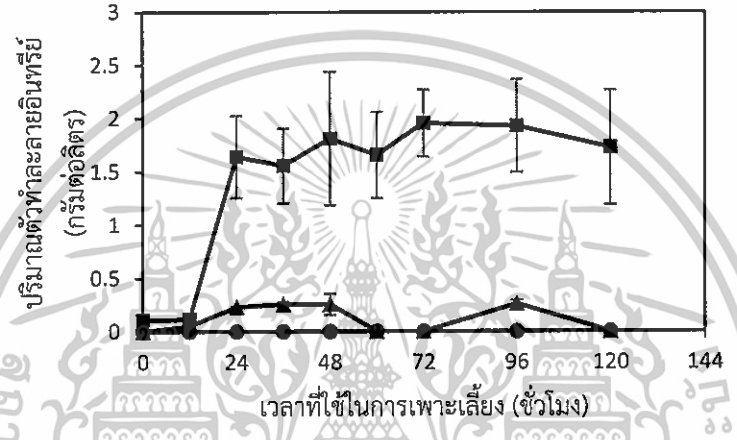
การวิเคราะห์	การทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสูงสุด (กรัมต่อลิตร)
บิวทานอล	ชุดควบคุม	24	$1.26^{a} \pm 0.28$
	ชุดทดลอง 1	24	$1.64^{a} \pm 0.38$
	ชุดทดลอง 2	72	$0.18^{a} \pm 0.01$
เอทานอล	ชุดควบคุม	24	$0.17^{a} \pm 0.02$
	ชุดทดลอง 1	24	$0.23^{a} \pm 0.00$
	ชุดทดลอง 2	72	$0.60^{a} \pm 0.04$

หมายเหตุ a ที่อยู่ในสดมภ์แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ชุดควบคุม คืออาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ชุดทดลองที่ 1 คืออาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ชุดทดลองที่ 2 คืออาหาร T6 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร

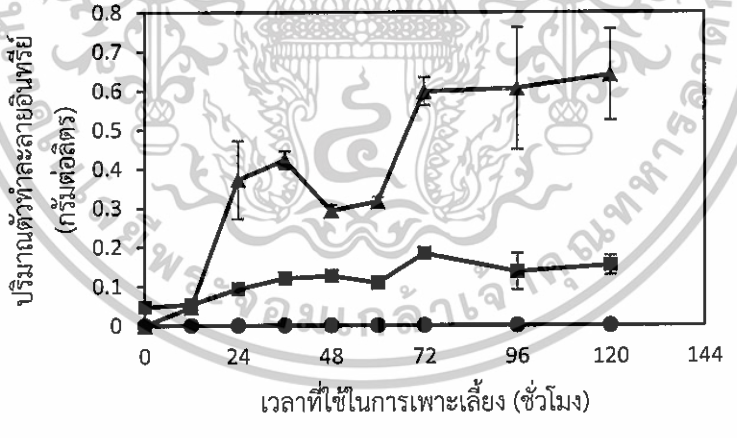
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.9 ข้อมูลปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ก) ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (ข) ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน และ (ค) ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน (● อะซิโตน ■ บิวทานอล ▲เอทานอล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้นำกากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออก ซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือจากกระบวนการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองของโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในการผลิตตัวทำละลายอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยทำการศึกษาองค์ประกอบของกากถั่วเหลืองแยกเปลือกที่สกัดไขมันออก พบว่ามีโปรตีนเป็นองค์ประกอบมากที่สุดคือร้อยละ 48.24 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 28.62 ปริมาณความชื้นร้อยละ 11.84 ปริมาณเยื่อใยหยาบร้อยละ 3.47 ปริมาณเถ้าร้อยละ 6.79 ปริมาณไขมันร้อยละ 1.04 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 8.43 เซลลูโลสร้อยละ 3.93 และลิกนินร้อยละ 1.74

จากนั้นหาสภาวะในการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด โดยย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 6 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 0.05 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง เอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร และเอนไซม์เพคติเนส ความเข้มข้น 19 ยูนิตต่อกรัมกากถั่วเหลือง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าที่อุณภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 0.073 ±0.000 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง ที่ 48 ชั่วโมง และทำการศึกษาการหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลสที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงขึ้นและนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงและการผลิต ABE ของ *Clostridium* G10 โดยพบว่าเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 24 ยูนิตต่อกรัมถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.4 ยูนิตต่อกรัมถั่วเหลือง เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยปริมาตร และเพคติเนสที่ความเข้มข้น 76 ยูนิตต่อกรัมถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 0.183 ±0.001 กรัมต่อกรัมกากถั่วเหลือง นำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ไปวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Hight Performance Liquid Chromatography, HPLC) พบน้ำตาล 4 ชนิด คือน้ำตาลกลูโคส มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.085 ±0.000 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง น้ำตาลไซโลส 0.051 ±0.000 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง น้ำตาลเซลโลไบโอส 0.028±0.000 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง และน้ำตาลมอลโตส 0.019±0.000 กรัมต่อกรัมของกากถั่วเหลือง จากนั้นนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 โดยเปรียบเทียบอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีความเข้มข้นกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน กับอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร และอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ถึง 72 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส มีความหนาแน่นของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 0.46 ±0.03 และมีแนวโน้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มขึ้นถึง 1.81 ±0.03 ในชั่วโมงที่ 120 น้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 1.53 ±0.06 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 36 จากนั้นมีแนวโน้มลดลงจนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มคงที่และลดลงต่ำสุดในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 35.20 ±0.43 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำหนักเซลล์แห้ง เพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 1.85 ±0.06 และ 1.98 ±0.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีแนวโน้มใกล้เคียงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 26.65 ±0.20 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ส่วนอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ มีความแน่นของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงสุดเท่ากับ 1.41 ±0.19 ในชั่วโมงที่ 72 และน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 1.87 ±0.51 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 33.95 ±1.40 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48

จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Hight Performance Liquid Chromatography, HPLC) ผลจากการวิเคราะห์พบว่าในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนไม่พบปริมาณอะซิโตนตลอดการเพาะเลี้ยง พบปริมาณบิวทานอลและเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 1.26 ±0.28 และ 0.17 ±0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่พบปริมาณอะซิโตนเช่นเดียวกันกับชุดควบคุม โดยพบปริมาณบิวทานอลและเอทนอลสูงสุดเท่ากับ 1.64 ±0.38 และ 0.23 ±0.00 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 และอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่พบปริมาณอะซิโตนตลอดการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกันกับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ ซึ่งพบปริมาณบิวทานอลและเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 0.18 ±0.01 และ 0.60 ±0.04 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษานี้ทำให้ทราบว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและการผลิตตัวทำละลายบิวทานอลและเอทานอลได้ ดังนั้นจึงสามารถนำกากถั่วเหลืองมาใช้เพื่อทดแทนและลดต้นทุนในการผลิตบิวทานอลและเอทานอลได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ทดลองเลือกใช้วัสดุที่เหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมอื่นๆ มาใช้ในการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล เพื่อเพิ่มมูลค่าและลดการกำจัดวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้
2. ทดลองเลือกใช้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ มาใช้ในการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล เพื่อให้ได้ผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จันทรัสม์ โคมเวียน และชมภูนุช กลิ่นวงษ์. มกราคม-เมษายน 2559. **"แหล่งคาร์บอนจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อผลิตเอทานอลและบิวทานอลด้วยแบคทีเรียคลอสทริเดียม."** **วรสารวิทยาศาสตร์บรูพา,** 21(1): 64-73.

ชนิกา ถือพานิช, ชมพูนุช วิรุณานนท์ และวรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2555. **ไบโอบิวทานอล: เชื้อเพลิงเหลวกำลังจะมาทดแทนเอทานอล**. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 22(3): 703-709.

ณัฐพงษ์ ดิฐกุลชัยมงคล และคณะ, 2558. "การศึกษาประสิทธิภาพและต้นทุนในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์." หน้า 249-259. ใน **การประชุมวิชาการและนำเสนอผลการวิจัย ระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 6.** ชลบุรี : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบรูพา

วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2558. **เชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งชีวภาพ.** กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 78-91.

สวลี ดีประเสริฐ และคณะ, 2555. **การใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเป็นน้ำตาล.** วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. 15(3): 39-46.

สุนทร กาญจนทวี และอภิชัย สาวิสิทธิ์. 2555. **การศึกษาการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล (เอบีอี) จากมันสำปะหลังโดยกระบวนการเพาะเลี้ยง**. รายงานการวิจัย: สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

AOAC. 2004. **Official Method of Analysis of AOAC International.** 17th Ed. The Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA.

Badr, H.R., Toledo, R., and Hamdy, M.K. 2001. **Continuous acetone-ethanol-butanol fermentation by immobilized cells of *Clostridium acetobutylicum***. Biomass and Bioenergy 20: 119-132.

Banaszkiewicz, T. 2011. **Nutritional Value of Soybean Meal.** in Soybean and nutrition. El-Shemy, H. A. (ed.). InTech. Rijeka. Croatia. Page 1-20.

Buakhiaw, B., and Sanguanchaipaiwong, V. 2017. **Effect of Media on Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation by Isolated *Clostridium* spp.** Energy Procedia. 138: 864-869.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cai, D., Chang, Z., Gao, L., Chen, C., Niu, Y., Qin, P., Wang, Z., and Tan, T. 2015. **Acetone–butanol–ethanol (ABE) fermentation integrated with simplified gastripping using sweet sorghum bagasse as immobilized carrier.** Chemical Engineering Journal. 277: 176–185.

Collares, R.M., Miklasevicius, L.V.S., Bassaco, M. M., Salau, N.P.G., Mazutti, M.A., Bisognin, D.A., and Terra, L.M. 2012. **Optimization of enzymatic hydrolysis of cassava to obtain fermentable sugars.** Zhejiang University Science. 13 : 579-586.

Dürre, P. 2008. **Fermentative butanol production.** Annals of the New York Academy of Sciences. 1125: 353-362.

Ezeji, T.C., Qureshi, N., and Blaschek, H.P. 2007. **Production of acetone butanol (AB) from liquefied cornstarch, a commercial substrate, using *Clostridium beijerinckii* coupled with product recovery by gas stripping.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 34(12): 771-777.

Hansen, C.A., Zhang, Q., and Lyne, W.L.P. 2005. **Ethanol diesel fuel blends – A review.** Bioresource Technology. 96(3): 277-285.

Huber, G.W., Iborra, S., and Corma, A. 2006. **Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering.** Chemical Reviews. 106: 4044-4098.

Jina, Q., Qureshib, N., Wanga, H., and Huanga, H. 2019. **Acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation of soluble and hydrolyzed sugars in apple pomace by *Clostridium beijerinckii* P260.** Fuel. 244: 536–544.

Jones, D.T., and Woods, D.R. 1986. **Acetone-butanol fermentation revisited.** Microbiological Reviews. 50: 484–524.

Lee, SY., Park, JH., Jang, SH., Nielsen, LK., Kim, J., and Jung, KS. 2008. **Fermentative Butanol Production by Clostridia.** Biotechnology and Bioengineering. 101(2): 209-228.

Liu, Z., Ying, Y., Li, F., Ma, C. and Xu, P. 2010. **Butanol production by *Clostridium beijerinckii* ATCC 55025 from wheat bran.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 37(5): 495-501.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Long, C.C., and Gibbons, W. 2012. **Enzymatic Hydrolysis and Simultaneous Saccharification and Fermentation of Soybean Processing Intermediates for the Productionof Ethanol and Concentration of Protein and Lipids.** International Scholarly Research Network ISRN Microbiology Volume 2012, Article ID 278092, 9 pages. DOI 10.5402/2012/278092

Marchal, R., Blanchet, D. and Vandecasteele, J.P. 1985. **Industrial optimization of acetone-butanol fermentation: a study of the utilization of Jerusalem artichokes.** Applied Microbiology and Biotechnology. 23(2): 92-98.

Miller, G.L. 1959. **Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar.** Analysis Chemistry. 3: 426-428.

Niven, R.K. 2005. **Ethanol in gasoline: environmental impacts and sustainability.** Renewable and Sustainable Energy Reviews. 9: 535-555.

Qureshi, N. and Blaschek, H.P. 2001. **Recent advances in ABE fermentation: hyperbutanol producing *Clostridium beijerinckii* BA101.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 27(5): 287-291.

Qureshi, N., Ezeji, T.C., Ebener, J., Dien, B.S., Cotta, M.A. and Blaschek, H.P. 2008. **Butanol production by *Clostridium beijerinckii*. Part I: Use of acid and enzyme hydrolyzed corn fiber.** Bioresource Technology. 99: 5915–5922.

Qureshi, N., Saha, B., Dien, B., Hector, R.E. and Cotta, M.A. 2010. **Production of butanol (a biofuel) from agricultural residues: Part I - Use of barley straw hydrolysate.** Biomass and Bioenergy. 34(4): 559-565.

Qureshi, N., Singh, V., Liu, S., Ezeji, T.C., Saha, B.C., and Cotta, M.A. 2014. **Process integration for simultaneous saccharification, fermentation, and recovery (SSFR): Production of butanol from corn stover using *Clostridium beijerinckii* P260.** Bioresource Technology. 154: 222–228.

Schuster, K.C., van den Heuvel, R., Gutierrez, N.A., and Maddox, I.S. 1998. **Development of markers for product formation and cell cycle in batch cultivation of *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824.** Applied Microbiology and Biotechnology. 49: 669-676.

Wackett, L.P. 2008. **Biomass to fuels via microbial transformations.** Current Opinion in Chemical Biology. 12: 187-193

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
ข้อมูลการเตรียมสารและกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ (Stoll และ Blanchard, 1990)

สารละลาย ก สารละลายของกรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ทำการละลายกรดอะซิติก 11.55 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

สารละลาย ข สารละลายของโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ทำการละลาย $C_2H_3O_2Na_3$ 16.4 กรัม หรือ $C_2H_3O_2Na.3H_2O$ 27.2 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

เตรียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ โดยใช้ 14.8 มิลลิลิตรของสารละลาย ก ผสมกับ 35.2 มิลลิลิตรของสารละลาย ข และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้อะซิเตตบัฟเฟอร์มีความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5

การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (ดัดแปลงจากวิธีของ Miller และคณะ, 1959)

การเตรียมสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

ละลาย 3,5-dinitrosalicylic 10 กรัม ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร (ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) ที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารโพเทสโซเดียมทาเททลงไปทีละน้อยจนครบ 300 กรัม แล้วเติมน้ำให้ครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

อบกลูโคสด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งกลูโคสที่ผ่านการอบ 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร และทำการปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร จะได้สารละลายกลูโคสที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำเจือจางสารละลายกลูโคสจากความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 100 200 400 600 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

คำนวณได้จากสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(1000\ \mu g/mL) \times V_1 = (100\ \mu g/mL) \times (5\ mL)$$

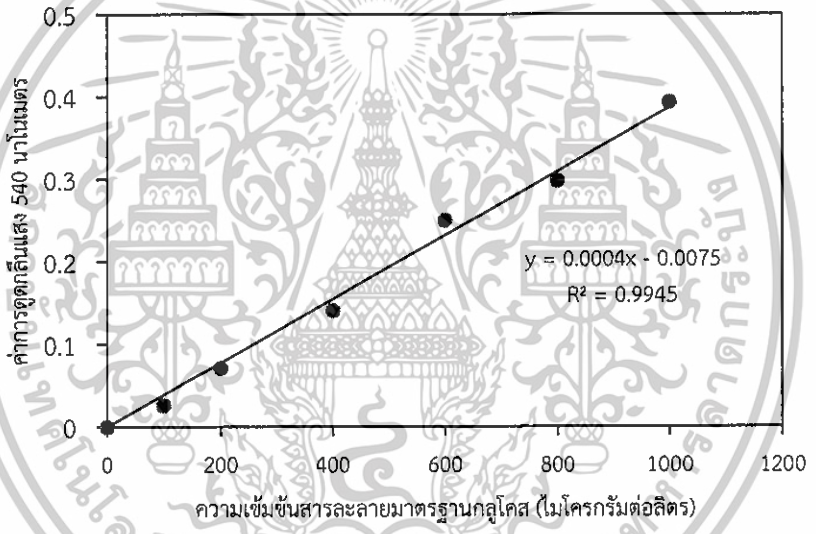
$$V_1 = 0.5\ mL$$

เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
0	0
100	0.026
200	0.071
400	0.141
600	0.250
800	0.298
1000	0.393



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ HPLC

การเตรียมสารละลายกรดอะซิติกมาตรฐาน

ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 100% มวลโมเลกุลคือ 60.65 กรัมต่อโมล ความหนาแน่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 1.05 กรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณความเข้มข้นของกรดอะซิติกจากสูตร

$$C = \frac{(10)(dx)}{MW}$$

เมื่อ C คือความเข้มข้นหน่วยโมลาร์หรือนอร์มอล
D ความหนาแน่น (มีค่าเท่ากับ 1.05)
X คือเปอร์เซ็นของกรด (มีค่าเท่ากับ 100)
MW คือมวลโมเลกุล (มีค่าเท่ากับ 60.05)

$$C = \frac{(10)(1.05)(100)}{60.05}$$

$$C = 17.49 \text{ โมลาร์}$$

เตรียมสต็อกสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

$C_1V_1 = C_2V_2$
$(17.49\ M) \times V_1 = (1\ M)(50\ mL)$
$V_1 = 2.86\ mL$

จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสต็อกสารละลายกรดอะซิติกได้โดยปิเปตสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 17.49 โมลาร์ มาปริมาตร 2.86 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายกรดอะซิติกมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

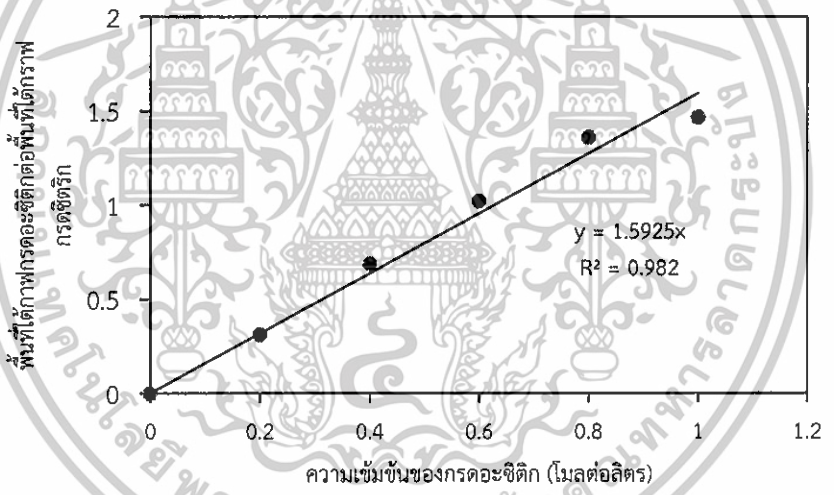
$C_1V_1 = C_2V_2$
$(1\ M) \times V_1 = (0.2\ M)(10\ mL)$
$V_1 = 2\ mL$

ตัวอย่าง จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสารละลายอะซิติกมาตรฐานได้โดยปิเปตสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 โมลาร์ มาปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายอะซิติกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นกรดอะซิติกมาตรฐาน (โมลต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟกรดอะซิติก	พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก	พื้นที่ใต้กราฟกรดอะซิติกต่อพื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก
0	0	0	0
0.2	656884	2106414	0.311849428
0.4	1002292	1457929	0.687476551
0.6	1516898	1484880	1.021562685
0.8	2037192	1498059	1.359887695
1	2383624	1626642	1.465364844



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดอะซิติก ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายกรดบิวทิริกมาตรฐาน

ความเข้มข้นของกรดบิวทิริก 99% มวลโมเลกุลคือ 88.11 กรัมต่อโมล ความหนาแน่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 0.958 กรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณความเข้มข้นของกรดบิวทิริกจากสูตร

$$C = \frac{(10)(dx)}{MW}$$

เมื่อ C คือความเข้มข้นหน่วยโมลาร์หรือนอร์มอล

D ความหนาแน่น (มีค่าเท่ากับ 0.958)

X คือเปอร์เซ็นของกรด (มีค่าเท่ากับ 99)

MW คือมวลโมเลกุล (มีค่าเท่ากับ 88.11)

$$C = \frac{(10)(0.958)(99)}{88.11}$$

$$C = 10.76 \text{ โมลาร์}$$

เตรียมสต็อกสารละลายกรดบิวทิริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(10.76\ M) \times V_1 = (1\ M)(50\ mL)$$

$$V_1 = 4.65\ mL$$

จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสต็อกสารละลายกรดบิวทิริกได้โดยปิเปตสารละลายกรดบิวทิริกความเข้มข้น 10.76 โมลาร์ มาปริมาตร 4.65 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายกรดบิวทิริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(1\ M) \times V_1 = (0.2\ M)(10\ mL)$$

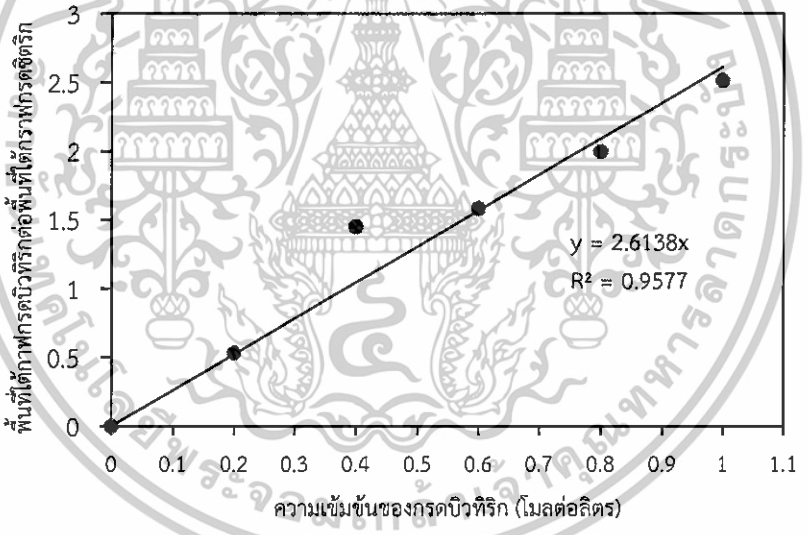
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสารละลายกรดบิวทิริกมาตรฐานได้โดยปิเปตสารละลายกรดบิวทิริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ มาปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายกรดบิวทิริกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นกรดบิวทิริกมาตรฐาน (โมลต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟกรดบิวทิริก	พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก	พื้นที่ใต้กราฟกรดบิวทิริกต่อพื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก
0	0	0	0
0.2	1269105	2374849	0.534393976
0.4	2477177	1707881	1.450438877
0.6	3722922	2350015	1.584212016
0.8	4889879	2449255	1.996476071
1	6003484	2386577	2.515520765



รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดบิวทิริก ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายอะซิโตนมาตรฐาน

ความเข้มข้นของอะซิโตน 99.98% มวลโมเลกุลคือ 58.05 กรัมต่อโมล ความหนาแน่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 0.791 กรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณความเข้มข้นอะซิโตน จากสูตร

$$C = \frac{(10)(dx)}{MW}$$

เมื่อ C คือความเข้มข้นหน่วยโมลาร์หรือนอร์มอล

D ความหนาแน่น (มีค่าเท่ากับ 0.791)

X คือเปอร์เซ็นของอะซิโตน (มีค่าเท่ากับ 99.98)

MW คือมวลโมเลกุล (มีค่าเท่ากับ 58.05)

$$C = \frac{(10)(0.791)(99.98)}{58.05}$$

$$C = 13.62 \text{ โมลาร์}$$

เตรียมสต็อกสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(13.62\ M) \times V_1 = (1\ M)(50\ mL)$$
$$V_1 = 3.67\ mL$$

จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสต็อกสารละลายอะซิโตนได้โดยปิเปตสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 10.76 โมลาร์ มาปริมาตร 4.65 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายอะซิโตน มาตรฐานความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

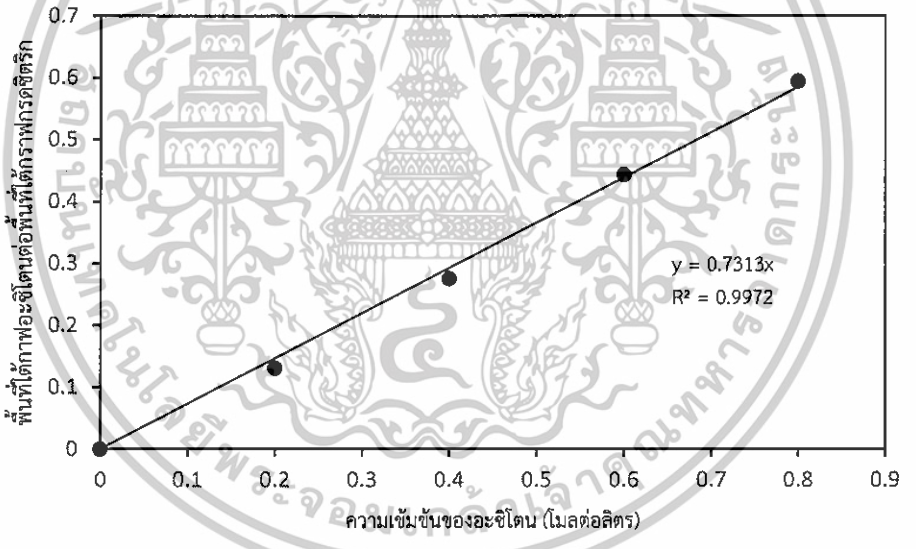
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(1\ M) \times V_1 = (0.2\ M)(10\ mL)$$
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสารละลายอะซิโตนมาตรฐานได้โดยปิเปตสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 1 โมลาร์ มาปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายอะซิโตนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นอะซิโตนมาตรฐาน (โมลต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟอะซิโตน	พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก	พื้นที่ใต้กราฟอะซิโตนต่อพื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก
0	297886	2276282	0.130865156
0.2	675270	2453756	0.275198512
0.4	958121	2160793	0.443411747
0.6	1377627	2319170	0.594017256
0.8	2493642	2161436	1.153696894
1	297886	2276282	0.130865156



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานของสารละลายอะซิโตน ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายบิวทานอลมาตรฐาน

ความเข้มข้นบิวทานอล 99.4% มวลโมเลกุลคือ 74.12 กรัมต่อโมล ความหนาแน่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 0.81 กรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณความเข้มข้นของบิวทานอลจากสูตร

$$C = \frac{(10)(dx)}{MW}$$

เมื่อ C คือความเข้มข้นหน่วยโมลาร์หรือนอร์มอล

D ความหนาแน่น (มีค่าเท่ากับ 0.81)

X คือเปอร์เซ็นของบิวทานอล (มีค่าเท่ากับ 99.4)

MW คือมวลโมเลกุล (มีค่าเท่ากับ 74.12)

$$C = \frac{(10)(0.81)(99.4)}{74.12}$$

$$C = 10.86 \text{ โมลาร์}$$

เตรียมสต็อกสารละลายบิวทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(10.86\ M) \times V_1 = (1\ M)(50\ mL)$$
$$V_1 = 4.6\ mL$$

จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสต็อกสารละลายบิวทานอลได้โดยปิเปตสารละลายบิวทานอลความเข้มข้น 10.76 โมลาร์ มาปริมาตร 4.65 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายบิวทานอลมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

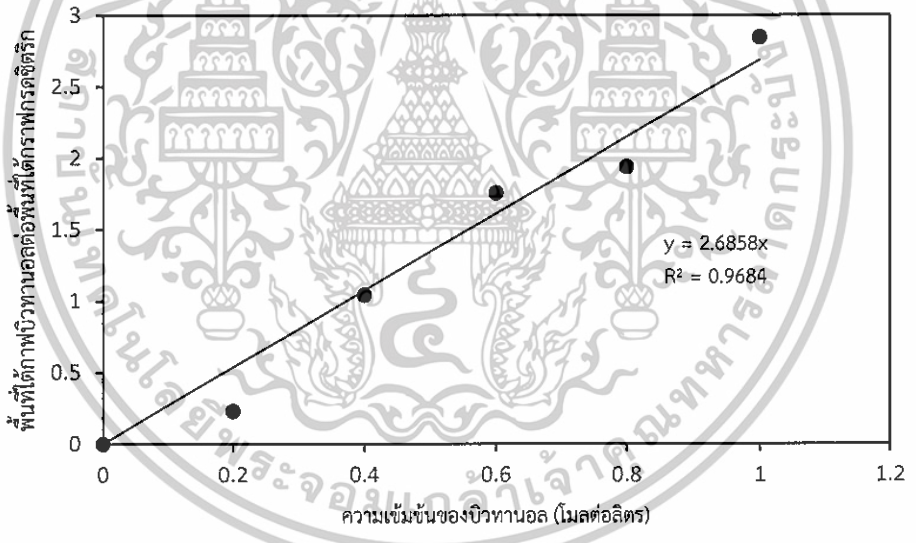
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(1\ M) \times V_1 = (0.2\ M)(10\ mL)$$
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสารละลายบิวทานอลมาตรฐานได้โดยปิเปตสารละลายบิวทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์ มาปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายบิวทานอลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นบิวทานอลมาตรฐาน (โมลต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟบิวทานอล	พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก	พื้นที่ใต้กราฟบิวทานอลต่อพื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก
0	0	0	0
0.2	986350	4302540	0.229248304
0.4	1899229	1822034	1.042367486
0.6	3048912	1736409	1.755872032
0.8	3963063	2046613	1.936400775
1	5014030	1763402	2.843384549



รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของสารละลายบิวทานอล ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายเอทานอลมาตรฐาน

ความเข้มข้นของเอทานอล 99.5% มวลโมเลกุลคือ 46.08 กรัมต่อโมล ความหนาแน่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณความเข้มข้นของเอทานอลจากสูตร

$$C = \frac{(10)(dx)}{MW}$$

เมื่อ C คือความเข้มข้นหน่วยโมลาร์หรือนอร์มอล

D ความหนาแน่น (มีค่าเท่ากับ 0.789)

X คือเปอร์เซ็นของเอทานอล (มีค่าเท่ากับ 99.5)

MW คือมวลโมเลกุล (มีค่าเท่ากับ 46.08)

$$C = \frac{(10)(0.789)(99.5)}{46.08}$$

$$C = 17.04 \text{ โมลาร์}$$

เตรียมสต็อกสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(10.86\ M) \times V_1 = (1\ M)(50\ mL)$$

$$V_1 = 2.94\ mL$$

จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสต็อกสารละลายเอทานอลได้โดยปิเปตสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 10.76 โมลาร์ มาปริมาตร 4.65 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายเอทานอลมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(1\ M) \times V_1 = (0.2\ M)(10\ mL)$$

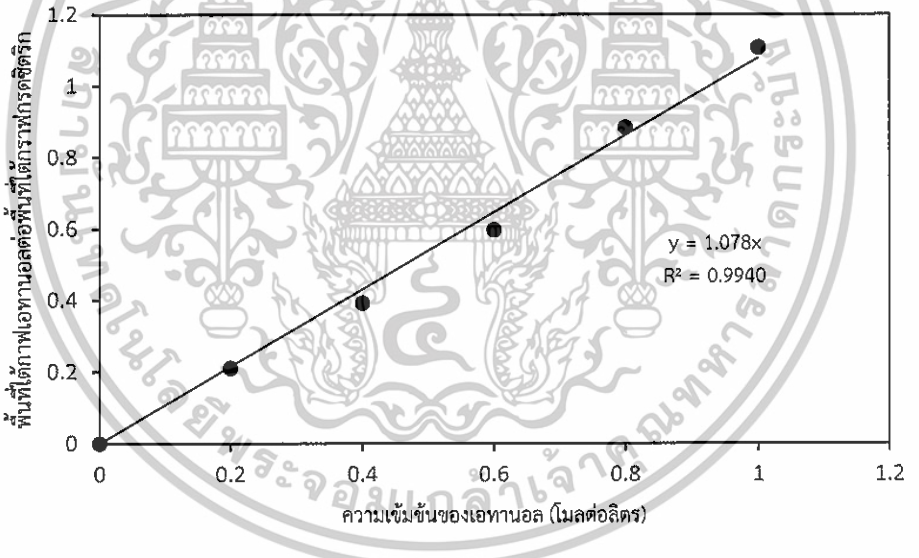
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง จากสมการด้านบนสามารถเตรียมสารละลายเอทานอลมาตรฐานได้โดยปิเปตสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์ มาปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.6 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายเอทานอลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 โมลาร์ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นเอทานอลมาตรฐาน (โมลต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟเอทานอล	พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก	พื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อพื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก
0	0	0	0
0.2	444097	2101906	0.211282997
0.4	837363	2131274	0.392893171
0.6	1296473	2169575	0.597570031
0.8	1727688	1955883	0.883328911
1	2166092	1956942	1.106875932



รูปที่ ก.6 กราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอล ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

เตรียมสต็อกสารละลายน้ำตาลกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม และปรับปริมาตรเป็นด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายน้ำตาลกูลโคสมาตรฐานความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตร

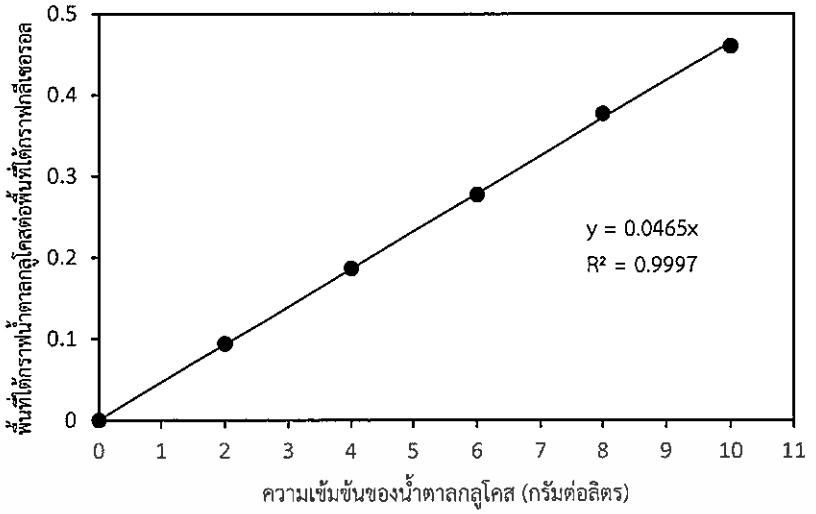
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(10\ g/L) \times V_1 = (2\ g/L)(10\ mL)$$
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง สารละลายน้ำตาลกูลโคสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

ตารางที่ ก.7 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลกลูโคส	พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลกลูโคสต่อพื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล
0	0	0	0
2	199784	2123984	0.094060972
4	398297	2134169	0.186628613
6	593894	2138261	0.277746262
8	801549	2125714	0.377072833
10	991121	2152331	0.460487258

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.7 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

การเตรียมน้ำตาลเซลโลไบโอสมาตรฐาน

เตรียมสต็อกสารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอส 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำตาลเซลโลไบโอส 1 กรัม และปรับปริมาตรเป็นด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอสมาตรฐานความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(10\ g/L) \times V_1 = (2\ g/L)(10\ mL)$$

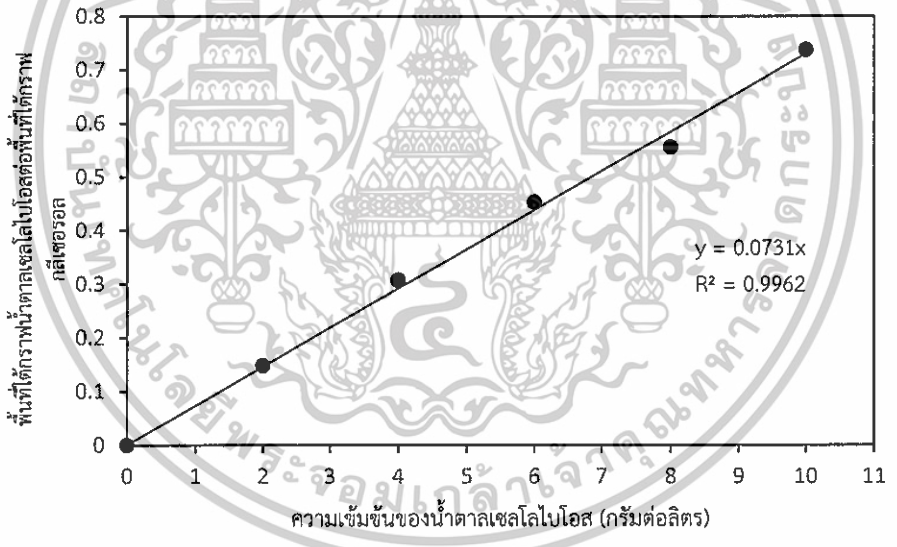
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง สารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.8 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นน้ำตาลเซลโลไบโอสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลเซลโลไบโอส	พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลเซลโลไบโอสต่อพื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล
0	0	0	0
2	315942	2120463	0.148996705
4	655383	2129616	0.30774703
6	964475	2125693	0.453722621
8	1188812	2139629	0.55561595
1	1557452	2109966	0.738140804



รูปที่ ก.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลเซลโลไบโอส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมน้ำตาลมอลโตสมาตรฐาน

เตรียมสต็อกสารละลายน้ำตาลมอลโตส 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำตาลมอลโตส 1 กรัม และปรับปริมาตรเป็นด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายน้ำตาลมอลโตสมาตรฐานความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตร

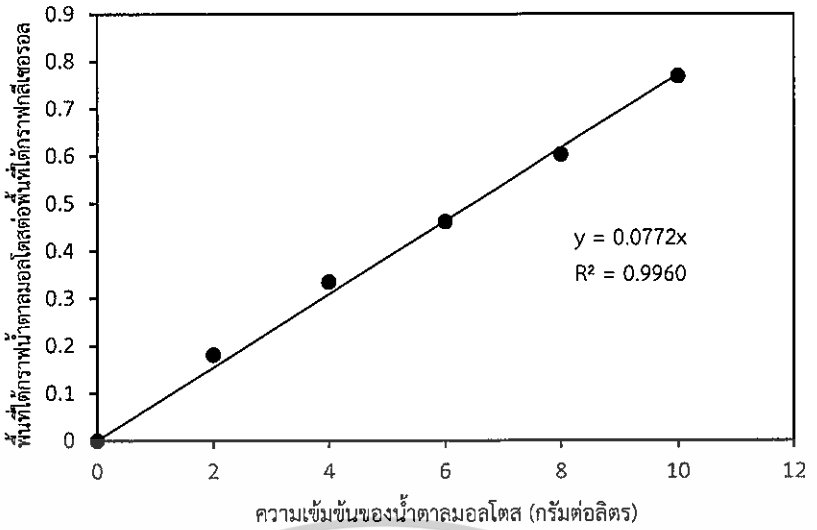
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(10\ g/L) \times V_1 = (2\ g/L)(10\ mL)$$
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง สารละลายน้ำตาลมอลโตสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายน้ำตาลมอลโตสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

ตารางที่ ก.9 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายน้ำตาลมอลโตสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นน้ำตาลมอลโตสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลมอลโตส	พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลมอลโตสต่อพื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล
0	0	0	0
2	386689	2134001	0.181204
4	714318	2138214	0.334072
6	994702	2153977	0.461798
8	1298005	2150342	0.603627
1	1648263	2142858	0.769189

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.9 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลมอลโตส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

การเตรียมน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน

เตรียมสต็อกสารละลายน้ำตาลไซโลส 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำตาลไซโลส 1 กรัม และปรับปริมาตรเป็นด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐานความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(10\ g/L) \times V_1 = (2\ g/L)(10\ mL)$$

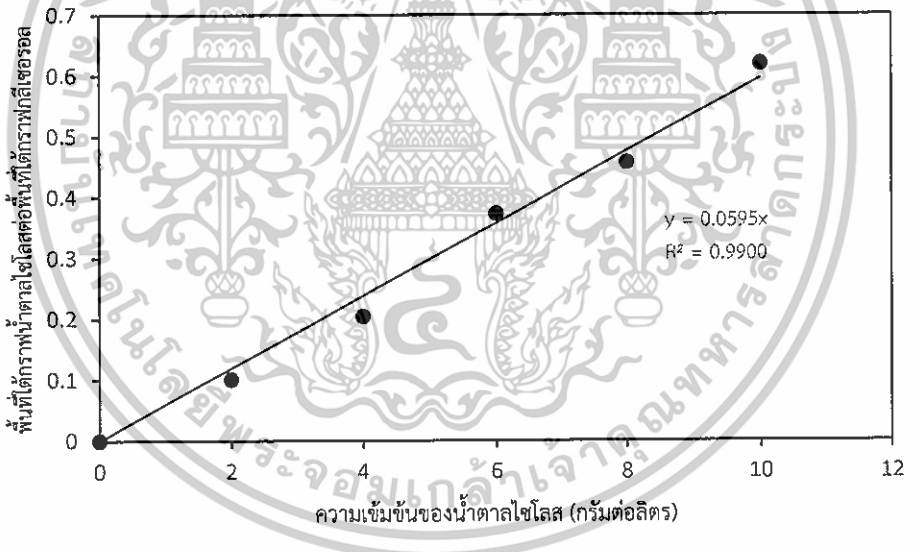
$$V_1 = 2\ mL$$

ตัวอย่าง สารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายน้ำตาลไซโลสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.10 พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines® HPX-87 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลไซโลส	พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล	พื้นที่ใต้กราฟน้ำตาลไซโลสต่อพื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล
0	0	0	0
2	213271	2125134	0.100356
4	434626	2131099	0.203945
6	793380	2129771	0.372519
8	974047	2133623	0.456523
1	1322972	2136805	0.619136



รูปที่ ก.10 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลไซโลส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมสารละลาย Internal standard .

เตรียมสารละลายกรดซิตริก 2% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกรดซิตริก 2 กรัม ละลายด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากไอออนและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร เพื่อใช้เป็น Internal standard ของสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์และสารละลายมาตรฐานอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล แต่ละความเข้มข้น (อัตราส่วน standard 1 มิลลิลิตร : กรดซิตริก 2% 1 มิลลิลิตร)

เตรียมสต็อกสารละลายกลีเซอรอล 2% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตกลีเซอรอลเข้มข้นปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากไอออนให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับ ปริมาตร เพื่อใช้เป็น Internal standard ของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลแต่ละความเข้มข้น (อัตราส่วน standard 1 มิลลิลิตร : กลีเซอรอล 2% 1 มิลลิลิตร)

การเตรียมสารละลาย Mobile phase กรดซัลฟิวริก

เตรียมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ โดยปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 0.272 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากไอออนให้เป็น 1000 มิลลิลิตร และไล่คาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยเครื่อง Ultrasonicator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
กิจกรรมของเอนไซม์

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

α-Amylase from *Bacillus licheniformis* ของบริษัท Sigma กิจกรรมของเอนไซม์ คือ 827 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ที่ความเข้มข้น 22.2 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร

ถ้า 1 มิลลิกรัม มีเอนไซม์ 827 ยูนิต
ดังนั้น 22.2 มิลลิกรัม มีเอนไซม์เท่ากับ 827 x 22.2 = 18359.4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

เตรียมสารละลายเอนไซม์ที่เข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยปิเปตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.05 มิลลิลิตร ลงในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 99.95 มิลลิลิตร

ดังนั้นที่สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 100 มิลลิลิตร จะมีเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสอยู่ 0.05 x 18359.4 = 917.97 ยูนิต

คำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัม จากปริมาตรของสารละลายเอนไซม์ที่เติม ได้ดังนี้

ถ้า 917.97 ยูนิต ในสารละลาย 100 มิลลิลิตร
ดังนั้น 6 ยูนิต ในสารละลาย $\frac{6 \times 100}{917.97} = 6.65$ มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ได้จากการคำนวณ แสดงดังตารางที่ ข.1

ตารางที่ ข.1 ความเข้มข้นกับปริมาตรของสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)	เติมด้วยปริมาตร (มิลลิลิตร)
6	6.65
12	1.31
24	2.61
48	5.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส

Amyloglucosidase from *Aspergillus niger* ของบริษัท Sigma กิจกรรมของเอนไซม์ คือ 260 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส

เตรียมสารละลายเอนไซม์ที่เข้มข้นร้อยละ 0.015 โดยปิเปตเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 0.05 มิลลิลิตร ลงในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 99.98 มิลลิลิตร

ดังนั้นที่สารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 100 มิลลิลิตร จะมีเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสอยู่ 0.015 x 260 = 3.9 ยูนิต

คำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิต่อกรัม จากปริมาตรของสารละลายเอนไซม์ที่เติม ได้ดังนี้

ถ้า 3.9 ยูนิต ในสารละลาย 100 มิลลิลิตร

ดังนั้น 0.05 ยูนิต ในสารละลาย $\frac{0.05 \times 100}{3.9} = 1.28$ มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ที่ได้จากการคำนวณ แสดงดังตารางที่ ข.2

ตารางที่ ข.2 ความเข้มข้นกับปริมาตของของสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)	เติมด้วยปริมาตร (มิลลิลิตร)
0.05	1.28
0.1	2.56
0.2	5.13
0.4	10.26

เอนไซม์เพคติเนส

Pectinase from *Aspergillus aculeatus* ของบริษัท Sigma กิจกรรมของเอนไซม์ คือ 3800 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารละลายเอนไซม์เพคติเนส

เตรียมสารละลายเอนไซม์ที่เข้มข้นร้อยละ 1 โดยปิเปตเอนไซม์เพคติเนส 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 99 มิลลิลิตร

ดังนั้นที่สารละลายเอนไซม์เพคติเนส 100 มิลลิลิตร จะมีเอนไซม์เพคติเนสอยู่ 1 x 3800 = 3800 ยูนิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์เพคติเนส ที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิต่อกรัม จากปริมาตรของสารละลายเอนไซม์ที่เติม ได้ดังนี้

ถ้า 3800 ยูนิต ในสารละลาย 100 มิลลิลิตร

ดังนั้น 9.5 ยูนิต ในสารละลาย $\frac{9.5 \times 100}{3800}$ = 0.25 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์เพคติเนสที่ได้จากการคำนวณ แสดงดังตารางที่ ข.3

ตารางที่ ข.3 ความเข้มข้นกับปริมาตรของของสารละลายเอนไซม์เพคติเนส

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)	เติมด้วยปริมาตร (มิลลิลิตร)
9.5	0.25
19	0.5
38	1
76	2

เอนไซม์เซลลูเลส

Cellulase, enzyme blend ของบริษัท Sigma

เตรียมสารละลายเอนไซม์เซลลูเลส

เตรียมสารละลายเอนไซม์เซลลูเลสที่เข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร ด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 5 ดังตารางที่ ข.4

ตารางที่ ข.4 ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์เซลลูเลสกับปริมาตรของสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ (มิลลิลิตร)
1	99
2	98
4	96
8	92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.011	4	0.003	8281.048	0.000
Within Groups	0.000	10	0.000		
Total	0.011	14			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.0050			
24	3		0.0567		
48	3			0.0728	
72	3			0.0732	0.0732
96	3				0.0741
Sig.		1	1	0.4050	0.0700
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.003	4	0.001	291.321	0
Within Groups	0	10	0		
Total	0.003	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.0054			
24	3		0.0254		
48	3			0.0302	
72	3				0.0413
96	3				0.0430
Sig.		1	1	1	0.1970
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางที่ ค.3 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0060	4	0.0020	401.0360	0
Within Groups	0	10	0		
Total	0.0060	14			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	0				
24	3		0.0337			
48	3			0.0407		
72	3				0.0543	
96	3					0.0641
Sig.		1	1	1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.4 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส เพคติเนส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.002	4	0	109.111	0
Within Groups	0	10	0		
Total	0.002	14			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.0048			
24	3		0.0101		
48	3		0.0129		
72	3			0.0251	
96	3				0.0320
Sig.		1	0.1030	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางที่ ค.5 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเพคติเนส บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.001	4	0	1089.705	0
Within Groups	0	10	0		
Total	0.001	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.0037			
24	3	0.0040			
48	3		0.0054		
72	3			0.0152	
96	3				0.0232
Sig.		0.4360	1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางที่ ค.6 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และเซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.001	4	0	96.56	0
Within Groups	0	10	0		
Total	0.001	14			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	0.0038				
24	3		0.0075			
48	3			0.0100		
72	3				0.0151	
96	3					0.0243
Sig.		1	1	1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.7 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 6 12 24 และ 48 ยูนิตต่อกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.009	3	0.003	12.264	0.002
Within Groups	0.002	8	0		
Total	0.011	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6	3	0.0716		
12	3		0.1030	
24	3		0.1209	0.1209
48	3			0.1451
Sig.		1	0.1900	0.0890
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางที่ ค.8 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 ยูนิตต่อกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.001	3	0	10.163	0.004
Within Groups	0	8	0		
Total	0.001	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.05	3	0.0445	
0.1	3	0.0538	
0.2	3	0.0550	
0.4	3		0.0711
Sig.		0.0730	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางที่ ค.9 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 และ 8 โดยปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.006	3	0.002	42.954	0
Within Groups	0.001	12	0		
Total	0.007	15			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	4	0.0860		
2	4	0.0924		
4	4		0.1086	
8	4			0.1368
Sig.		0.2120	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.10 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เพคติเนสที่ความเข้มข้น 9.5 19 38 และ 76 ยูนิตต่อกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.015	3	0.005	274.616	0
Within Groups	0	8	0		
Total	0.015	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัม)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9.5	3	0.0883			
19	3		0.1098		
38	3			0.1356	
76	3				0.1832
Sig.		1	1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.11 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.675	8	0.584	65.11	0
Within Groups	0.162	18	0.009		
Total	4.837	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
48	3	4.9600		
96	3	4.9700		
60	3	4.9800		
36	3	4.9800		
72	3	4.9900		
24	3	5.0000		
120	3	5.0000		
12	3		5.1700	
0	3			6.2000
Sig.		0.203	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	6.1967	0.0252	0.0145	6.1342	6.2592	6.1700	6.2200
12	3	5.1667	0.0115	0.0067	5.1380	5.1954	5.1600	5.1800
24	3	5.0033	0.0379	0.0219	4.9093	5.0974	4.9600	5.0300
36	3	4.9800	0.0529	0.0306	4.8486	5.1114	4.9200	5.0200
48	3	4.9633	0.0289	0.0167	4.8916	5.0350	4.9300	4.9800
60	3	4.9767	0.0416	0.0240	4.8732	5.0801	4.9300	5.0100
72	3	4.9867	0.0153	0.0088	4.9487	5.0246	4.9700	5.0000
96	3	4.9700	0.0200	0.0115	4.9203	5.0197	4.9500	4.9900
120	3	5.0033	0.0379	0.0219	4.9093	5.0974	4.9600	5.0300
Total	27	5.1385	0.3868	0.0744	4.9855	5.2915	4.9200	6.2200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.12 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.675	8	0.584	65.11	0
Within Groups	0.162	18	0.009		
Total	4.837	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	0.4590		
12	3		1.6260	
24	3		1.7200	1.7200
72	3		1.7920	1.7920
96	3		1.7940	1.7940
48	3		1.8030	1.8030
60	3		1.8080	1.8080
36	3		1.8090	1.8090
120	3			1.8120
Sig.		1	0.0500	0.3090
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.4593	0.0354	0.0205	0.3713	0.5474	0.4350	0.5000
12	3	1.6257	0.2726	0.1574	0.9485	2.3028	1.4250	1.9360
24	3	1.7203	0.0191	0.0111	1.6728	1.7679	1.6990	1.7360
36	3	1.8090	0.0358	0.0206	1.7202	1.8978	1.7710	1.8420
48	3	1.8033	0.0334	0.0193	1.7204	1.8863	1.7650	1.8260
60	3	1.8077	0.0162	0.0093	1.7675	1.8478	1.7930	1.8250
72	3	1.7923	0.0349	0.0202	1.7056	1.8791	1.7520	1.8130
96	3	1.7940	0.0174	0.0101	1.7507	1.8373	1.7740	1.8060
120	3	1.8120	0.0261	0.0150	1.7473	1.8767	1.7820	1.8290
Total	27	1.6249	0.4313	0.0830	1.4542	1.7955	0.4350	1.9360

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.13 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.267	8	0.283	46.367	0.000
Within Groups	0.110	18	0.006		
Total	2.377	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.5167			
120	3		0.8167		
96	3		0.9167		
72	3		0.9167		
60	3			1.2000	
12	3			1.2167	
48	3			1.2500	
24	3			1.3000	
36	3				1.5333
Sig.		1	0.1540	0.1670	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.5167	0.0289	0.0167	0.4450	0.5884	0.5000	0.5500
12	3	1.2167	0.1258	0.0726	0.9041	1.5292	1.1000	1.3500
24	3	1.3000	0.0866	0.0500	1.0849	1.5151	1.2500	1.4000
36	3	1.5333	0.0577	0.0333	1.3899	1.6768	1.5000	1.6000
48	3	1.2500	0.0866	0.0500	1.0349	1.4651	1.2000	1.3500
60	3	1.2000	0.1323	0.0764	0.8714	1.5286	1.0500	1.3000
72	3	0.9167	0.0289	0.0167	0.8450	0.9884	0.9000	0.9500
96	3	0.9167	0.0289	0.0167	0.8450	0.9884	0.9000	0.9500
120	3	0.8167	0.0289	0.0167	0.7450	0.8884	0.8000	0.8500
Total	27	1.0741	0.3023	0.05819	0.9545	1.1937	0.5000	1.6000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.14 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	831.66	8	103.958	517.412	0
Within Groups	3.617	18	0.201		
Total	835.277	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
96	3	35.2033					
120	3		36.4633				
60	3		36.6467				
72	3		36.6867				
48	3			37.6667			
36	3				42.0367		
12	3					47.3700	
24	3					47.4433	
0	3						50.5567
Sig.		1	0.572	1	1	0.843	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.							
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.							

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	50.5567	0.2967	0.1713	49.8196	51.2937	50.2200	50.7800
12	3	47.3700	0.1735	0.1002	46.9390	47.8010	47.2200	47.5600
24	3	47.4433	0.3350	0.1934	46.6111	48.2756	47.1100	47.7800
36	3	42.0367	0.5636	0.3254	40.6366	43.4367	41.4400	42.5600
48	3	37.6667	0.7259	0.4191	35.8634	39.4699	37.0000	38.4400
60	3	36.6467	0.2871	0.1658	35.9334	37.3599	36.3300	36.8900
72	3	36.6867	0.5856	0.3381	35.2319	38.1414	36.0600	37.2200
96	3	35.2033	0.4277	0.2469	34.1409	36.2658	34.8300	35.6700
120	3	36.4633	0.3536	0.2042	35.5849	37.3417	36.0600	36.7200
Total	27	41.1193	5.6680	1.0908	38.8771	43.3614	34.8300	50.7800

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.15 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.908	8	0.238	45.73	0
Within Groups	0.094	18	0.005		
Total	2.002	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
96	3	5.2500			
48	3	5.2530			
72	3	5.2630			
60	3	5.2830	5.2830		
36	3	5.3030	5.3030		
120	3	5.3100	5.3100		
24	3		5.4030		
12	3			5.6770	
0	3				6.0870
Sig.		0.3770	0.0760	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	6.0867	0.0351	0.0203	5.9994	6.1739	6.0500	6.1200
12	3	5.6767	0.1692	0.0977	5.2563	6.0970	5.4900	5.8200
24	3	5.4033	0.0208	0.0120	5.3516	5.4550	5.3800	5.4200
36	3	5.3033	0.0058	0.0033	5.2890	5.3177	5.3000	5.3100
48	3	5.2533	0.0208	0.0120	5.2016	5.3050	5.2300	5.2700
60	3	5.2833	0.0306	0.0176	5.2074	5.3592	5.2500	5.3100
72	3	5.2633	0.0569	0.0328	5.1221	5.4046	5.2000	5.3100
96	3	5.2500	0.0794	0.0458	5.0528	5.4472	5.1900	5.3400
120	3	5.3100	0.0755	0.0436	5.1225	5.4975	5.2400	5.3900
Total	27	5.4256	0.2775	0.0534	5.3158	5.5353	5.1900	6.1200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.16 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.388	8	0.674	207.2	0
Within Groups	0.059	18	0.003		
Total	5.447	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.5050			
12	3		1.1680		
24	3			1.7010	
48	3				1.8410
60	3				1.8450
36	3				1.8510
72	3				1.8570
96	3				1.8660
120	3				1.8910
Sig.		1	1	1	0.3520
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.5053	0.0359	0.0207	0.4161	0.5945	0.4780	0.5460
12	3	1.1677	0.0257	0.0148	1.1038	1.2315	1.1440	1.1950
24	3	1.7013	0.0703	0.0406	1.5268	1.8759	1.6400	1.7780
36	3	1.8513	0.0634	0.0366	1.6937	2.0089	1.7840	1.9100
48	3	1.8407	0.0752	0.0434	1.6539	2.0275	1.7580	1.9050
60	3	1.8450	0.0581	0.0335	1.7007	1.9893	1.7780	1.8810
72	3	1.8570	0.0557	0.0322	1.7185	1.9955	1.7950	1.9030
96	3	1.8660	0.0467	0.0270	1.7500	1.9820	1.8220	1.9150
120	3	1.8907	0.0635	0.0367	1.7329	2.0485	1.8190	1.9400
Total	27	1.6139	0.4577	0.0881	1.4328	1.7950	0.4780	1.9400

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.17 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.2250	8.0000	0.6530	12.4850	0.0000
Within Groups	0.9420	18.0000	0.0520		
Total	6.1670	26.0000			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.5333			
12	3	0.9000			
60	3		1.4000		
72	3		1.4000		
96	3		1.5167	1.5167	
120	3		1.5500	1.5500	
48	3		1.8000	1.8000	1.8000
24	3			1.8667	1.8667
36	3				1.9833
Sig.		0.065	0.068	0.101	0.365
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.5333	0.0577	0.0333	0.3899	0.6768	0.5000	0.6000
12	3	0.9000	0.0500	0.0289	0.7758	1.0242	0.8500	0.9500
24	3	1.8667	0.2021	0.1167	1.3647	2.3686	1.6500	2.0500
36	3	1.9833	0.2021	0.1167	1.4814	2.4853	1.8000	2.2000
48	3	1.8000	0.2179	0.1258	1.2586	2.3414	1.5500	1.9500
60	3	1.4000	0.1323	0.0764	1.0714	1.7286	1.3000	1.5500
72	3	1.4000	0.0500	0.0289	1.2758	1.5242	1.3500	1.4500
96	3	1.5167	0.3253	0.1878	0.7085	2.3248	1.2000	1.8500
120	3	1.5500	0.4583	0.2646	0.4116	2.6884	1.0500	1.9500
Total	27	1.4389	0.4870	0.0937	1.2462	1.6315	0.5000	2.2000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.18 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1388.83	8	173.604	120.817	0
Within Groups	25.865	18	1.437		
Total	1414.694	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
48	3	26.6467					
72	3		28.9733				
60	3		29.0800				
120	3		29.3533				
96	3		30.9800				
36	3			34.2933			
24	3				40.1100		
12	3					43.7033	
0	3						48.1500
Sig.		1	0.074	1	1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.							
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.							

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	48.1500	0.5583	0.3223	46.7631	49.5369	47.5600	48.6700
12	3	43.7033	0.3233	0.1867	42.9002	44.5065	43.3300	43.8900
24	3	40.1100	0.8029	0.4636	38.1154	42.1046	39.4400	41.0000
36	3	34.2933	0.8923	0.5151	32.0768	36.5098	33.4400	35.2200
48	3	26.6467	0.1960	0.1132	26.1597	27.1337	26.4400	26.8300
60	3	29.0800	0.7500	0.4330	27.2169	30.9431	28.3300	29.8300
72	3	28.9733	0.4150	0.2396	27.9424	30.0043	28.5600	29.3900
96	3	30.9800	0.2227	0.1286	30.4268	31.5332	30.7800	31.2200
120	3	29.3533	3.2019	1.8486	21.3993	37.3074	26.2800	32.6700
Total	27	34.5878	7.3764	1.4196	31.6698	37.5058	26.2800	48.6700

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.19 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.458	8	0.182	92.12	0
Within Groups	0.036	18	0.002		
Total	1.493	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
48	3	5.5170				
96	3	5.5300				
120	3	5.5300				
72	3	5.5770	5.5770			
36	3		5.6130			
60	3		5.6170			
24	3			5.7800		
0	3				6.0770	
12	3					6.1670
Sig.		0.1460	0.3110	1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	6.0767	0.0208	0.0120	6.0250	6.1284	6.0600	6.1000
12	3	6.1667	0.0709	0.0410	5.9904	6.3429	6.0900	6.2300
24	3	5.7800	0.0436	0.0252	5.6717	5.8883	5.7300	5.8100
36	3	5.6133	0.0513	0.0296	5.4859	5.7408	5.5700	5.6700
48	3	5.5167	0.0252	0.0145	5.4542	5.5792	5.4900	5.5400
60	3	5.6167	0.0404	0.0233	5.5163	5.7171	5.5800	5.6600
72	3	5.5767	0.0737	0.0426	5.3936	5.7598	5.5200	5.6600
96	3	5.5300	0.0100	0.0058	5.5052	5.5548	5.5200	5.5400
120	3	5.5300	0.0000	0.0000	5.5300	5.5300	5.5300	5.5300
Total	27	5.7119	0.2396	0.0461	5.6171	5.8067	5.4900	6.2300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.20 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.727	8	0.341	29.88	0
Within Groups	0.205	18	0.011		
Total	2.933	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.5180			
12	3	0.5870			
24	3		0.9020		
36	3			1.1700	
60	3			1.2880	1.2880
96	3			1.2910	1.2910
48	3			1.2990	1.2990
120	3			1.3320	1.3320
72	3				1.4150
Sig.		0	1	0.1090	0
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.5183	0.0542	0.0313	0.3836	0.6531	0.4780	0.5800
12	3	0.5873	0.2317	0.1338	0.0116	1.1630	0.3620	0.8250
24	3	0.9017	0.0538	0.0311	0.7680	1.0354	0.8560	0.9610
36	3	1.1697	0.0396	0.0228	1.0714	1.2680	1.1420	1.2150
48	3	1.2987	0.0352	0.0203	1.2112	1.3862	1.2580	1.3190
60	3	1.2883	0.0348	0.0201	1.2019	1.3747	1.2490	1.3150
72	3	1.4150	0.1919	0.1108	0.9382	1.8918	1.2900	1.6360
96	3	1.2913	0.0335	0.0193	1.2081	1.3746	1.2710	1.3300
120	3	1.3323	0.0342	0.0197	1.2475	1.4172	1.2950	1.3620
Total	27	1.0892	0.3358	0.0646	0.9563	1.2220	0.3620	1.6360

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.21 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.8620	8	0.6080	6.6360	0.0000
Within Groups	1.6480	18	0.0920		
Total	6.5100	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
12	3	0.5000			
0	3	0.5500			
96	3	0.9167	0.9167		
24	3		1.1833	1.1833	
60	3		1.2167	1.2167	
36	3		1.2500	1.2500	
120	3			1.5000	1.5000
72	3			1.5167	1.5167
48	3				1.8667
Sig.		0.1270	0.2310	0.2400	0.1760

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.5500	0.0500	0.0289	0.4258	0.6742	0.5000	0.6000
12	3	0.5000	0.0000	0.0000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000
24	3	1.1833	0.1607	0.0928	0.7841	1.5826	1.0000	1.3000
36	3	1.2500	0.1323	0.0764	0.9214	1.5786	1.1500	1.4000
48	3	1.8667	0.5058	0.2920	0.6102	3.1231	1.5500	2.4500
60	3	1.2167	0.0289	0.0167	1.1450	1.2884	1.2000	1.2500
72	3	1.5167	0.6602	0.3812	-0.1233	3.1566	0.8000	2.1000
96	3	0.9167	0.2363	0.1364	0.3297	1.5036	0.6500	1.1000
120	3	1.5000	0.1732	0.1000	1.0697	1.9303	1.3000	1.6000
Total	27	1.1667	0.5004	0.0963	0.9687	1.3646	0.5000	2.4500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.22 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1736.356	8	217.045	71.603	0
Within Groups	54.562	18	3.031		
Total	1790.918	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
48	3	33.9467				
120	3	35.2567	35.2567			
72	3	36.0367	36.0367	36.0367		
96	3		37.3333	37.3333		
60	3			38.5900		
36	3				46.2600	
24	3					52.9633
12	3					53.3333
0	3					53.9633
Sig.		0.18	0.183	0.105	1	0.515
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	53.9633	3.0518	1.7620	46.3823	61.5444	50.4400	55.7800
12	3	53.3333	1.8713	1.0804	48.6848	57.9819	51.2200	54.7800
24	3	52.9633	2.7306	1.5765	46.1802	59.7465	49.8900	55.1100
36	3	46.2600	1.3987	0.8075	42.7854	49.7346	44.7800	47.5600
48	3	33.9467	1.3995	0.8080	30.4702	37.4232	33.0600	35.5600
60	3	38.5900	1.2501	0.7218	35.4845	41.6955	37.3300	39.8300
72	3	36.0367	0.1815	0.1048	35.5859	36.4875	35.8300	36.1700
96	3	37.3333	0.4450	0.2569	36.2279	38.4388	36.8900	37.7800
120	3	35.2567	1.1405	0.6585	32.4234	38.0899	33.9400	35.9400
Total	27	43.0759	8.2995	1.5972	39.7928	46.3591	33.0600	55.7800

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.23 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.741	8	0.718	25.012	0
Within Groups	0.516	18	0.029		
Total	6.257	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
120	3	2.2531		
96	3	2.2603	2.2603	
72	3	2.3972	2.3972	
48	3	2.4281	2.4281	
60	3	2.4648	2.4648	
36	3	2.5637	2.5637	
24	3		2.5845	
0	3			3.4624
12	3			3.5366
Sig.		0	0	0.5980

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	3.4624	0.0329	0.0190	3.3807	3.5441	3.4361	3.4993
12	3	3.5366	0.0873	0.0504	3.3197	3.7535	3.4358	3.5890
24	3	2.5845	0.2612	0.1508	1.9356	3.2334	2.3647	2.8733
36	3	2.5637	0.0509	0.0294	2.4372	2.6902	2.5103	2.6117
48	3	2.4281	0.3207	0.1851	1.6315	3.2247	2.1755	2.7889
60	3	2.4648	0.0387	0.0223	2.3687	2.5609	2.4288	2.5057
72	3	2.3972	0.1185	0.0684	2.1029	2.6915	2.2608	2.4748
96	3	2.2603	0.2217	0.1280	1.7095	2.8111	2.1141	2.5154
120	3	2.2531	0.1056	0.0609	1.9909	2.5153	2.1791	2.3740
Total	27	2.6612	0.4906	0.0944	2.4671	2.8553	2.1141	3.5890

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.24 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.12	8	2.89	30.75	0
Within Groups	1.692	18	0.094		
Total	24.81	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	0.4488				
12	3		2.1485			
24	3		2.5910	2.5910		
48	3			2.8598	2.8599	
120	3				3.1484	3.1484
36	3				3.2897	3.2897
96	3				3.2898	3.2898
72	3					3.4656
60	3					3.6217
Sig.		1	0.0940	0.2970	0.1310	0.1040

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.4488	0.1316	0.0760	0.1220	0.7756	0.3033	0.5593
12	3	2.1485	0.1575	0.0909	1.7572	2.5398	1.9724	2.2760
24	3	2.5911	0.4769	0.2754	1.4063	3.7759	2.2434	3.1348
36	3	3.2897	0.6401	0.3696	1.6996	4.8798	2.7076	3.9752
48	3	2.8599	0.0177	0.0102	2.8159	2.9038	2.8401	2.8742
60	3	3.6217	0.1407	0.0812	3.2723	3.9711	3.4626	3.7296
72	3	3.4656	0.2734	0.1578	2.7865	4.1447	3.1582	3.6815
96	3	3.2898	0.0848	0.0490	3.0790	3.5006	3.1939	3.3551
120	3	3.1484	0.2541	0.1467	2.5173	3.7795	2.8560	3.3153
Total	27	2.7626	0.9769	0.1880	2.3762	3.1490	0.3033	3.9752

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.25 การวิเคราะห์ทางสถิติของอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.06	8	0.007	1	0.469
Within Groups	0.134	18	0.007		
Total	0.193	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05
		1
12	3	0
24	3	0
36	3	0
48	3	0
60	3	0
72	3	0
96	3	0
120	3	0
0	3	0.1494
Sig.		0.0810

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.1494	0.2588	0.1494	-0.4934	0.7922	0.0000	0.4482
12	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
24	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
36	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
48	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
60	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
72	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
96	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
120	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Total	27	0.0166	0.0863	0.0166	-0.0175	0.0507	0.0000	0.4482

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.26 การวิเคราะห์ทางสถิติของบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.082	8	0.51	33.421	0
Within Groups	0.275	18	0.015		
Total	4.357	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.1658			
12	3	0.1860			
72	3		0.8415		
36	3		0.8529		
60	3		0.9099		
120	3		0.9979	0.9979	
96	3			1.1697	1.1697
48	3				1.2470
24	3				1.2581
Sig.		0.8440	0.1710	0.1060	0.4190

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.1658	0.023	0.0133	0.1087	0.223	0.1398	0.1834
12	3	0.1860	0.0175	0.0101	0.1426	0.2295	0.1679	0.2028
24	3	1.2581	0.2771	0.16	0.5698	1.9463	1.0227	1.5634
36	3	0.8529	0.0721	0.0417	0.6737	1.0321	0.7696	0.8949
48	3	1.2470	0.0579	0.0334	1.1032	1.3908	1.1972	1.3105
60	3	0.9099	0.0797	0.046	0.712	1.1078	0.818	0.9591
72	3	0.8415	0.1456	0.0841	0.4797	1.2033	0.6778	0.9568
96	3	1.1697	0.0439	0.0254	1.0606	1.2788	1.1412	1.2203
120	3	0.9979	0.1476	0.0852	0.6312	1.3645	0.8343	1.1211
Total	27	0.8476	0.4094	0.0788	0.6857	1.0096	0.1398	1.5634

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.27 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.147	8	0.018	76.017	0
Within Groups	0.004	18	0		
Total	0.152	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	0		
60	3	0		
72	3	0		
96	3	0		
120	3	0		
12	3		0.0951	
36	3			0.1495
48	3			0.1558
24	3			0.1734
Sig.		1.0000	1.0000	0.0900
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
12	3	0.0951	0.0073	0.0042	0.0770	0.1131	0.0871	0.1013
24	3	0.1734	0.0160	0.0092	0.1338	0.2130	0.1553	0.1854
36	3	0.1495	0.0288	0.0166	0.0779	0.2210	0.1171	0.1723
48	3	0.1558	0.0323	0.0187	0.0755	0.2361	0.1279	0.1912
60	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
72	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
96	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
120	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Total	27	0.0637	0.0764	0.0147	0.0335	0.0940	0	0.1912

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.28 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.199	8	1.775	54.587	0
Within Groups	0.585	18	0.033		
Total	14.784	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
48	3	2.1104				
120	3	2.2806	2.2806			
72	3	2.3618	2.3618			
60	3	2.3836	2.3836			
96	3	2.4250	2.4250			
36	3		2.5206			
24	3			2.9905		
0	3				3.8430	
12	3					4.3098
Sig.		0.0690	0.1580	1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	3.8430	0.0635	0.0367	3.6853	4.0007	3.8058	3.9163
12	3	4.3098	0.0663	0.0383	4.1452	4.4744	4.2708	4.3863
24	3	2.9905	0.0496	0.0286	2.8674	3.1136	2.9484	3.0451
36	3	2.5206	0.0330	0.0191	2.4386	2.6027	2.4895	2.5553
48	3	2.1104	0.3948	0.2279	1.1297	3.0912	1.6810	2.4577
60	3	2.3836	0.0735	0.0424	2.2011	2.5662	2.3382	2.4684
72	3	2.3618	0.0845	0.0488	2.1518	2.5718	2.2899	2.4549
96	3	2.4250	0.1551	0.0896	2.0396	2.8104	2.3068	2.6007
120	3	2.2806	0.2969	0.1714	1.5430	3.0182	1.9445	2.5074
Total	27	2.8028	0.7541	0.1451	2.5045	3.1011	1.6810	4.3863

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.29 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56.398	8	7.05	38.48	0
Within Groups	3.298	18	0.183		
Total	59.695	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	0.2799				
12	3		1.2217			
24	3			3.4896		
48	3			3.6922	3.6922	
36	3			3.8382	3.8382	3.8382
96	3				4.3162	4.3162
120	3				4.3635	4.3635
60	3				4.4028	4.4028
72	3					4.5332
Sig.		1	1	0.358	0.082	0.089

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.2799	0.1101	0.0635	0.0065	0.5533	0.2061	0.4064
12	3	1.2217	0.3365	0.1943	0.3857	2.0577	1.0249	1.6103
24	3	3.4896	0.4771	0.2754	2.3045	4.6747	3.0130	3.9671
36	3	3.8382	0.3002	0.1733	3.0925	4.5839	3.6383	4.1834
48	3	3.6922	0.5254	0.3033	2.3871	4.9973	3.1833	4.2326
60	3	4.4028	0.1389	0.0802	4.0578	4.7478	4.2870	4.5568
72	3	4.5332	0.3573	0.2063	3.6457	5.4207	4.3173	4.9456
96	3	4.3162	0.2659	0.1535	3.6557	4.9767	4.0481	4.5798
120	3	4.3635	0.8439	0.4872	2.2672	6.4598	3.5310	5.2183
Total	27	3.3486	1.5152	0.2916	2.7492	3.9480	0.2061	5.2183

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.30 การวิเคราะห์ทางสถิติของอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.445	8	0.056	12031.13	0
Within Groups	0	18	0		
Total	0.445	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
12	3	0	
24	3	0	
36	3	0	
48	3	0	
60	3	0	
72	3	0	
96	3	0	
120	3	0	
0	3		0.4085
Sig.		1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.4085	0.0065	0.0037	0.3924	0.4245	0.4020	0.4149
12	3	0	0	0	0	0	0	0
24	3	0	0	0	0	0	0	0
36	3	0	0	0	0	0	0	0
48	3	0	0	0	0	0	0	0
60	3	0	0	0	0	0	0	0
72	3	0	0	0	0	0	0	0
96	3	0	0	0	0	0	0	0
120	3	0	0	0	0	0	0	0
Total	27	0.0454	0.1308	0.0252	-0.0064	0.0971	0.0000	0.4149

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.31 การวิเคราะห์ทางสถิติของบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13	8	1.625	10.374	0
Within Groups	2.819	18	0.157		
Total	15.819	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	0.1080	
12	3	0.1157	
36	3		1.5577
24	3		1.6421
60	3		1.6566
120	3		1.7271
48	3		1.8108
96	3		1.9299
72	3		1.9565
Sig.		0.9810	0.2900
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.1080	0.0227	0.0131	0.0517	0.1643	0.0849	0.1302
12	3	0.1157	0.0313	0.0181	0.0380	0.1935	0.0955	0.1518
24	3	1.6421	0.3852	0.2224	0.6852	2.5991	1.3572	2.0804
36	3	1.5577	0.3510	0.2026	0.6857	2.4296	1.2250	1.9245
48	3	1.8108	0.6270	0.3620	0.2533	3.3683	1.1753	2.4289
60	3	1.6566	0.4054	0.2341	0.6495	2.6638	1.2850	2.0890
72	3	1.9565	0.3125	0.1804	1.1802	2.7328	1.6280	2.2501
96	3	1.9299	0.4359	0.2517	0.8470	3.0128	1.4793	2.3495
120	3	1.7271	0.5399	0.3117	0.3860	3.0682	1.1535	2.2253
Total	27	1.3894	0.7800	0.1501	1.0808	1.6980	0.0849	2.4289

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.32 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 1 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.397	8	0.05	37.37	0
Within Groups	0.024	18	0.001		
Total	0.421	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	0	
60	3	0	
72	3	0	
120	3	0	
12	3	0.0518	
24	3		0.2338
36	3		0.2566
48	3		0.2568
96	3		0.2605
Sig.		0.1330	0.4210
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
12	3	0.0518	0.0185	0.0107	0.0057	0.0978	0.0383	0.0729
24	3	0.2338	0.0017	0.0010	0.2294	0.2381	0.2323	0.2357
36	3	0.2566	0.0241	0.0139	0.1968	0.3164	0.2301	0.2771
48	3	0.2568	0.0997	0.0576	0.0090	0.5046	0.1809	0.3698
60	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
72	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
96	3	0.2605	0.0327	0.0189	0.1792	0.3418	0.2377	0.2980
120	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Total	27	0.1177	0.1272	0.0245	0.0674	0.1680	0	0.3698

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.33 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.283	8	0.785	22.231	0
Within Groups	0.636	18	0.035		
Total	6.919	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
48	3	3.0879			
60	3	3.2561	3.2561		
72	3		3.4414	3.4414	
96	3		3.4647	3.4647	
120	3			3.7267	
36	3			3.7490	
0	3				4.3223
12	3				4.3767
24	3				4.4689
Sig.		0.288	0.214	0.081	0.378
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	4.3223	0.0464	0.0268	4.2069	4.4376	4.2699	4.3584
12	3	4.3767	0.0693	0.0400	4.2045	4.5489	4.3026	4.4400
24	3	4.4689	0.3794	0.2190	3.5265	5.4114	4.2490	4.9070
36	3	3.7490	0.0138	0.0080	3.7146	3.7834	3.7331	3.7581
48	3	3.0879	0.3441	0.1987	2.2331	3.9428	2.7088	3.3805
60	3	3.2561	0.0646	0.0373	3.0957	3.4165	3.1868	3.3146
72	3	3.4414	0.0126	0.0073	3.4101	3.4728	3.4317	3.4557
96	3	3.4647	0.1451	0.0838	3.1044	3.8251	3.3804	3.6322
120	3	3.7267	0.1519	0.0877	3.3494	4.1040	3.6355	3.9020
Total	27	3.7660	0.5158	0.0993	3.5619	3.9700	2.7088	4.9070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.34 การวิเคราะห์ทางสถิติของกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.845	8	6.856	511.501	0
Within Groups	0.241	18	0.013		
Total	55.086	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
0	3	0.1675						
12	3		0.3736					
24	3			0.8996				
36	3				2.7271			
48	3					3.3618		
96	3					3.5358	3.5358	
60	3					3.5456	3.5456	
120	3						3.6000	3.6000
72	3							3.7719
Sig.		1	1	1	1	0.081	0.529	0.086
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.								
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.								

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.1675	0.0182	0.0105	0.1223	0.2128	0.1466	0.1800
12	3	0.3736	0.0031	0.0018	0.3658	0.3814	0.3708	0.3770
24	3	0.8996	0.0220	0.0127	0.8450	0.9542	0.8826	0.9244
36	3	2.7271	0.2116	0.1222	2.2014	3.2528	2.5327	2.9525
48	3	3.3618	0.1082	0.0625	3.0929	3.6307	3.2406	3.4488
60	3	3.5456	0.0580	0.0335	3.4016	3.6897	3.4821	3.5957
72	3	3.7719	0.1375	0.0794	3.4304	4.1134	3.6132	3.8555
96	3	3.5358	0.1076	0.0621	3.2684	3.8031	3.4115	3.5986
120	3	3.6000	0.1717	0.0991	3.1736	4.0264	3.4048	3.7274
Total	27	2.4425	1.4556	0.2801	1.8667	3.0184	0.1466	3.8555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.35 การวิเคราะห์ทางสถิติของอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.178	8	0.022	412.874	0
Within Groups	0.001	18	0		
Total	0.179	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
12	3	0	
24	3	0	
36	3	0	
48	3	0	
60	3	0	
72	3	0	
96	3	0	
120	3	0	
0	3		0.2581
Sig.		1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.2581	0.0220	0.0127	0.2035	0.3128	0.2359	0.2799
12	3	0	0	0	0	0	0	0
24	3	0	0	0	0	0	0	0
36	3	0	0	0	0	0	0	0
48	3	0	0	0	0	0	0	0
60	3	0	0	0	0	0	0	0
72	3	0	0	0	0	0	0	0
96	3	0	0	0	0	0	0	0
120	3	0	0	0	0	0	0	0
Total	27	0.0287	0.0829	0.0160	-0.0041	0.0615	0	0.2799

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.36 การวิเคราะห์ทางสถิติของบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.047	8	0.006	14.851	0
Within Groups	0.007	18	0		
Total	0.054	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	0.0477				
12	3	0.0544				
24	3		0.0934			
60	3		0.1091	0.1091		
36	3		0.1205	0.1205	0.1205	
48	3		0.1268	0.1268	0.1268	
96	3			0.1373	0.1373	
120	3				0.1538	0.1538
72	3					0.1838
Sig.		0.6840	0.0730	0.1260	0.0740	0.0800
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.0477	0.0118	0.0068	0.0185	0.0770	0.0363	0.0598
12	3	0.0544	0.0022	0.0012	0.0491	0.0598	0.0526	0.0568
24	3	0.0934	0.0058	0.0033	0.0790	0.1078	0.0867	0.0972
36	3	0.1205	0.0088	0.0051	0.0986	0.1425	0.1105	0.1271
48	3	0.1268	0.0100	0.0058	0.1020	0.1516	0.1153	0.1329
60	3	0.1091	0.0155	0.0090	0.0706	0.1476	0.0940	0.1250
72	3	0.1838	0.0135	0.0078	0.1504	0.2173	0.1687	0.1945
96	3	0.1373	0.0467	0.0270	0.0213	0.2534	0.0858	0.1769
120	3	0.1538	0.0242	0.0140	0.0936	0.2139	0.1259	0.1698
Total	27	0.1141	0.0455	0.0088	0.0961	0.1321	0.0363	0.1945

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.37 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* G10 ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่ 2 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.299	8	0.162	29.256	0
Within Groups	0.1	18	0.006		
Total	1.399	26			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan[a]

เวลา(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	0		
12	3	0.0471		
48	3		0.2930	
60	3		0.3168	
24	3		0.3725	
36	3		0.4227	
72	3			0.5980
96	3			0.6055
120	3			0.6405
Sig.		0.4490	0.0640	0.5180
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
12	3	0.0471	0.0016	0.0009	0.0431	0.0512	0.0460	0.0490
24	3	0.3725	0.0999	0.0577	0.1243	0.6207	0.2582	0.4433
36	3	0.4227	0.0229	0.0132	0.3659	0.4795	0.4016	0.4470
48	3	0.2930	0.0151	0.0087	0.2555	0.3306	0.2794	0.3093
60	3	0.3168	0.0112	0.0065	0.2890	0.3447	0.3054	0.3278
72	3	0.5980	0.0357	0.0206	0.5093	0.6868	0.5752	0.6392
96	3	0.6055	0.1554	0.0897	0.2194	0.9916	0.4512	0.7620
120	3	0.6405	0.1170	0.0675	0.3499	0.9310	0.5499	0.7725
Total	27	0.3662	0.2320	0.0446	0.2745	0.4580	0	0.7725

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้