การใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตกรดแลคติกจากเชื้อ THERMOTOLERANT *Bacillus coagulans* DSM1

THE USE OF AGRICULTURAL WASTE AS A CARBON SOURCE FOR PRODUCING LACTIC ACID BY THERMOTOLERANT *Bacillus coagulans* DSM1

ธีรารัตน์ เจียมตน

วิชชุตา สามารถ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปีการศึกษา 2560

THE USE OF AGRICULTURAL WASTE AS A CARBON SOURCE FOR PRODUCING LACTIC ACID BY THERMOTOLERANT *Bacillus coagulans* DSM1

TEERARAT JEAMTON

WITCHUTA SAMART

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACADEMIC YEAR 2017

หัวข้อโครงงานพิเศษ การใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตกรดแลคติกจากเชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1

The Use of Agricultural Waste as A Carbon Source for Producing Lactic Acid by Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1

ชื่อนักศึกษา นางสาวธีรารัตน์ เจียมตน รหัสนักศึกษา 57050706
นางสาววิชชุตา สามารถ รหัสนักศึกษา 57050760

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.นิลเนตร อัศวะศิริจินดา

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการ	วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม กรรมการ	
ดร.นิลเนตร อัศวะศิริจินดา กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตกรดแลคติกจากเชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1
ชื่อนักศึกษา	นางสาวธีรารัตน์ เจียมตน รหัสนักศึกษา 57050706
	นางสาววิชชุตา สามารถ รหัสนักศึกษา 57050760
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.นิลเนตร อัศวะศิริจินดา

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรจำนวนมาก และมักถูกทิ้งไว้ในไร่นาหรือถูกเผาทิ้ง ทำให้นำมาใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่ ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางประเภทยังไม่มีการนำไปใช้ต่อยอด เช่น ยอดและใบอ้อย ฟางข้าว เหง้ามันสำปะหลัง ทะลายปาล์มเปล่า ทางใบและก้านปาล์ม เป็นต้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือ กากกาแฟ ชานอ้อย และฟางข้าวมาใช้ เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดแลคติก และเพื่อทดสอบความสามารถในการผลิตกรดแลคติกจากเชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากของเหลือทางการเกษตร ซึ่งเป็นการวิจัยเชิงทดลอง จากการทดลองผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 มีการเจริญเติบโตที่อยู่ในช่วง Late log phase ในชั่วโมงที่ 24 เป็นชั่วโมงที่เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อนำเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 11 ชนิด พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อมีการเจริญเติบโตมากที่สุด คือ ทริปโตน จากนั้นทำการทดสอบหาวิธีการย่อยที่เหมาะสมกับแหล่งคาร์บอนแต่ละชนิดประกอบไปด้วย ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ จากการทดลองพบว่า วิธีย่อยฟางข้าวที่ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.88 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ วิธีย่อยชานอ้อยที่ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยด้วยน้ำกลั่น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.17 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ วิธีย่อยกากกาแฟที่ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.03 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ จากนั้นนำไฮโดรไลเซทจากแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบเปรียบเทียบหาค่าความเข้มข้น

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด หลังจากการย่อยโดยใช้แหล่งคาร์บอนปริมาณ 5 กรัมต่อสารละลาย 50 มิลลิลิตร พบว่าไฮโดรไลเซทจากฟางข้าวมีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด หลังจากนั้นนำไปทดสอบการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 โดยใช้พบว่าไฮโดรไลเซทจากฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้ทริปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าไฮโดรไลเซทจากฟางข้าวให้ค่าความเข้มข้นกรดแลคติกมากที่สุด เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ความเข้มข้นกรดแลคติกเท่ากับ 0.12 กรัม คิดเป็นผลพลอยได้เท่ากับ 0.923 กรัมกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์

คำสำคัญ : กากกาแฟ กรดแลคติก ชานอ้อย ฟางข้าว *Bacillus coagulans* DSM1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The use of agricultural waste as a carbon source for producing lactic acid by Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1
Students	Miss Teerarat Jeamton Student ID 57050706
	Miss Witchuta Samart Student ID 57050760
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Dr. Nilnate Assavasirijinda

Abstract

Agricultural waste is the most abundant natural fiber in Thailand. It is usually left to be rotten on a field or burned without taking its advantage. Some of the agricultural wastes including shoots and leaves of rice straw, cassava root and palm bunch leaves and the palm haven't been used for further applications. The aim of this study is to investigate the use of the agricultural wastes which are coffee grounds, bagasse and rice straw and use as a carbon source for lactic production by thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1. The result shows that *Bacillus coagulans* DSM1 is entered late log phase after 24 hour in GYC medium. Then, various nitrogen sources are tested and tryptone showed the best for cell growth. The pretreatment procedure of agriculture wastes such as rice straws, bagasse and coffee grounds are performed. The result shows that the highest reducing sugar yields could be obtained by using 0.2 molar sulfuric acid, 0.2 molar Sodium hydroxide and distilled water to digest rice straw, coffee grounds and bagasse, respectively. And the rice straws hydrolysate give the highest reducing sugar concentration of 10.88 g. The bagasse hydrolysate give the highest reducing sugar concentration of 6.17 g. The coffee grounds hydrolysate give the highest reducing sugar concentration of 5.03 g. When use rice straws hydrolysate as a carbon source and tryptone as a nitrogen source for culturing

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในเชิงการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus coagulans DSM1 at 46 °c for 24 hour, lactic concentration of 0.12 g and yield of 0.923 gram lactic acid per gram reducing sugar are obtained.

keyword : *Bacillus coagulans* DSM1, Bagasse, Coffee grounds, Lactic acid, Rice straw

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ขอขอบพระคุณ ดร.นิลเนตร อัศวะศิริจินดา อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้การช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และให้คำแนะนำมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการ และผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม กรรมการ ที่กรุณาตรวจทานและพิจารณาโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ในคณะวิทยาศาสตร์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้การช่วยเหลือ ให้คำแนะนำตลอดการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณบิดา มารดาของข้าพเจ้าและสมาชิกกลุ่มโครงงานพิเศษทุกท่านที่ให้กำลังใจมาโดยตลอด และขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกๆ ท่านที่คอยอบรม สั่งสอน และให้ความรู้จนทำให้สมาชิกกลุ่มมีความรู้ ความสามารถในการจัดทำโครงงานพิเศษจนสำเร็จ

ธีรารัตน์ เจียมตน

วิชชุตา สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญรูป ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 1
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 กรดแลคติก 3
2.1.1 การผลิตกรดแลคติก 4
2.1.2 คุณสมบัติกรดแลคติก 6
2.1.3 เปรียบเทียบข้อดีและข้อเสีย 8
2.1.4 ข้อดีและข้อเสียของกระบวนการผลิตด้วยวิธีทางเคมี 8
2.2 ฟางข้าว 8
2.3 ชานอ้อย 9
2.3.1 ความเป็นมาของชานอ้อย 9
2.3.2 ลักษณะทั่วๆ ไป และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 9
2.4 กากกาแฟ 14
2.4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 14
2.4.2 สายพันธุ์กาแฟ 15
2.4.3 ข้อควรรู้สายพันธุ์กาแฟอาราบีก้า 16
2.4.4 ข้อควรรู้สายพันธุ์กาแฟโรบัสต้า (Robusta) 16
2.4.5 ประโยชน์และโทษของกาแฟ 17
2.5 เซลลูโลส 20
2.6 เฮมิเซลลูโลส 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.1 ประโยชน์ของเฮมิเซลลูโลส 21
2.7 ลิกนิน 22
2.7.1 ประโยชน์ของลิกนิน 22
2.8 กระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment) 22
2.8.1 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment) 22
2.8.2 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (Chemical pretreatment) 22
2.8.3 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์ (Physico-chemical pretreatment) 23
2.8.4 การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ 23
2.9 เชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 25
2.10 เอนไซม์ที่ใช้ย่อยแหล่งคาร์บอน 26
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 26
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 29
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 29
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ 29
3.3 สารเคมี 29
3.4 การเตรียมวัตถุดิบ 30
3.4.1 ฟางข้าวและชานอ้อย 30
3.4.2 กากกาแฟ 30
3.5 ขั้นตอนการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 31
3.5.1 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยน้ำกลั่น 31
3.5.2 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 31
3.5.3 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรคือ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ ด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 31
3.5.4 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางเกษตรด้วยเอนไซม์ (Viscozyme) 31
3.6 การวิเคราะห์หาแหล่งคาร์บอนที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด 32
3.6.1 นำวัสดุเหลือใช้ทางเกษตรมาย่อยประกอบด้วย ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธี 3,5 - dinitrosalicylic acid method (DNS method) 32
3.7 ศึกษาอัตราการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYC 32
3.7.1 แยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* DSM1 ให้เป็นโคโลนีเดี่ยว..... 32
3.7.2 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย (Inoculum) 32
3.7.3 การวัดการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 33
3.8 การหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต 33
3.9 การหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต 33
3.10 การทดสอบผลผลิตกรดแลคติกโดยใช้แหล่งคาร์บอนจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร..... 34
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 35
4.1 ผลการย่อยที่เหมาะสมกับแหล่งคาร์บอน ฟางข้าว, ชานอ้อย และกากกาแฟ..... 35
4.2 ผลความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดจากไฮโดรไลเซทของฟางข้าว, ชานอ้อย และกากกาแฟ 38
4.3 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 39
4.4 ผลการวิเคราะห์แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 39
4.5 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารที่ใช้ไฮโดรไลเซทจากฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟเป็นแหล่งคาร์บอน 40
4.5.1 ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ชั่วโมงที่ 0 – 48 40
4.5.2 ความเข้มข้นกรดแลคติกจากการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ชั่วโมงที่ 0-48 42
4.5.3 ผลได้ปริมาณกรดแลคติก..... 42
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 44
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 44
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 44
เอกสารอ้างอิง..... 45

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก 49
ภาคผนวก ก อาหาร 50
ภาคผนวก ข สารเคมี 51
ภาคผนวก ค เครื่องมือ 53
ภาคผนวก ง กราฟมาตรฐาน 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 2.1 ข้อดีและข้อจำกัดของการปรับสภาพวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลสโดยวิธีการต่างๆ 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 2.1 โครงสร้างกรดแลคติก 4
รูปที่ 2.2 กราฟเปรียบเทียบพื้นที่ปลูกอ้อยปีการผลิต 2549/2550 – 2557/2558 12
รูปที่ 2.3 กราฟเปรียบเทียบปริมาณอ้อยเข้าหีบ ปีการผลิต 2548/2549 – 2557/2558 13
รูปที่ 2.4 ลักษณะการจัดเรียงตัวของโครงสร้างในเซลลูโลส..... 21
รูปที่ 4.1 กราฟเปรียบเทียบความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยฟางข้าวด้วยวิธีต่างๆ..... 35
รูปที่ 4.2 กราฟเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยวิธีต่างๆ..... 36
รูปที่ 4.3 กราฟเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากกากย่อยกาแฟด้วยวิธีต่างๆ 37
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่มากที่สุด เมื่อย่อยของเหลือทิ้งทาง
การเกษตรด้วยวิธีต่างๆ 38
รูปที่ 4.5 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหาร GYC 39
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1
ในแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 40
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 0, 24 และ 48 เมื่อใช้
ไฮโดรไลเซทจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน 41
รูปที่ 4.8 กราฟเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นกรดแลคติก ชั่วโมง 0, 24 และ 48
เมื่อใช้ไฮโดรไลเซทจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน..... 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ประเทศไทยมีวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรจำนวนมาก มักถูกทิ้งไว้ในไร่นาหรือถูกเผาทิ้ง ทำให้นำมาใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่ ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางประเภทยังไม่มีการนำไปใช้ต่อยอด เช่น ยอดและใบอ้อย ฟางข้าว เหง้ามันสำปะหลัง ทะลายปาล์มเปล่า ทางใบและก้านปาล์ม เป็นต้น (ที่มา : สมาคมโรงไฟฟ้าชีวมวล, 2556)

ซึ่งในปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรไปใช้เป็นน้ำตาลในอุตสาหกรรม เนื่องจากวัสดุเหล่านี้ประกอบด้วย เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งสามารถเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลได้ โดยเมื่อนำมาหมักด้วยยีสต์หรือแบคทีเรียจะสามารถผลิตกรดอินทรีย์และสารต่างๆ ได้ กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมมากในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถนำไปผลิตเป็นพอลิแลคติก ซึ่งเป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการชีวภาพ (Biodegradable plastics) ทำให้เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถทดแทนการใช้พลาสติกที่ใช้ผลิตได้จากปิโตรเลียม (ธนพร และวรรัตน์, 2554)

งานวิจัยได้ทำการศึกษาฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ เนื่องจากเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรที่มีปริมาณมากในประเทศไทย โดยนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อให้เชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1 สามารถนำไปใช้ได้

1.2 วัตถุประสงค์

1) เพื่อศึกษาการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดแลคติก
2) เพื่อทดสอบความสามารถในการผลิตกรดแลคติกจากเชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากของเหลือทางการเกษตร

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1) ใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตรคือ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟเป็นแหล่งคาร์บอน
2) หาวิธีการย่อยของเหลือทิ้งทางการเกษตรคือ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ เพื่อให้เชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1 สามารถนำไปใช้เพื่อเป็นแหล่งอาหารได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) ตรวจสอบปริมาณกรดแลคติกเชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1 ผลิตได้จากแหล่งวัสดุเหลือทิ้งแต่ละชนิด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรคือ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนให้แก่เชื้อ Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1 ในการผลิตกรดแลคติกได้

2) ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยของเหลือทิ้งทางการเกษตรคือ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กรดแลคติก

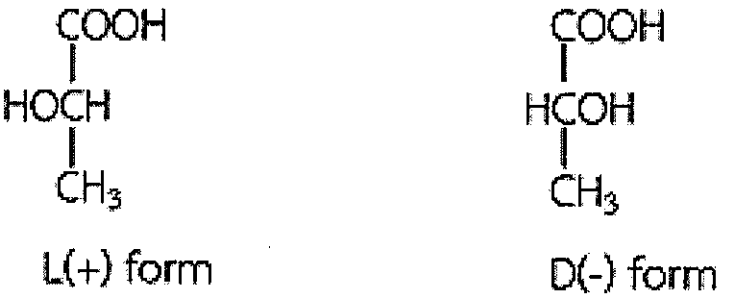
กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา เครื่องหนังและสิ่งทอ อาหารสัตว์และเป็นโมโนเมอร์ของการสังเคราะห์แลคติกพอลิเมอร์ (Polylactic acid) ซึ่งเป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradable plastic) ปริมาณความต้องการกรดแลคติกทั่วโลกมีแนวโน้มสูงขึ้นในแต่ละปี โดยมีการคาดคะเนว่าอาจจะสูงถึง 367.3 แสนเมตริกตันในปี ค.ศ. 2017 (กนกวรรณ, 2556)

กรดแลคติกสามารถผลิตได้ทั้งจากการสังเคราะห์จากปฏิกิริยาเคมี และจากกระบวนการหมักของเชื้อจุลินทรีย์ กรดแลคติกที่ผลิตโดยจุลินทรีย์จะมีความจำเพาะมากกว่า โดยแบคทีเรียแลคติกจะสามารถผลิตกรดแลคติกชนิดแอล (+) หรือดี (-) แลคติกอย่างใดอย่างหนึ่งหรือผสมกันขึ้นอยู่กับสายพันธุของ เชื้ออีกทั้งแบคทีเรียแลคติกจัดเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ปลอดภัย (Generally Recognized As Safe; GRAS) มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการถนอมอาหารและผลิตภัณฑ์อาหารหมักต่างๆ มานานนับศตวรรษ ดังนั้นกรดแลคติกที่มาจากการหมักของแบคทีเรียแลคติก จึงปลอดภัยสำหรับการนำมาใช้งานด้านต่างๆ

กรดแลคติก (Lactic acid) หรือ 2-hydroxypropanic acid หรือ α-hydroxypropanoic acid เป็นกรดอินทรีย์ที่โครงสร้างประกอบด้วยโมเลกุลของคาร์บอน 3 อะตอมเรียงต่อกันที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวกลางมีหมูเมธิล ($-CH_3$) และหมูคาร์บอกซี (-COOH) มาเกาะอยู่ กรดแลคติกถูกค้นพบครั้งแรกโดย Carlmm Wilhelm Scheele ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1780 ที่พบว่า เป็นกรดที่ทำให้นมหมักมีรสเปรี้ยว ซึ่งต่อมา Louis Pasteur, Joseph Lister และ Max Delbrück รายงานผลการวิจัยว่าแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ (Benninga, 1990)

สามารถแบ่งโครงสร้างของกรดแลคติกออกเป็น 2 โครงสร้างตามคุณสมบัติการหักเหของลำแสงคือ แอล (+) และดี (-) แลคติก (Litchfield, 1996) ดังแสดงในรูปที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 โครงสร้างกรดแลคติก

(ที่มา : Litchfield, 1996)

2.1.1 การผลิตกรดแลคติก

การผลิตกรดแลคติกสามารถทำได้ 2 วิธีคือ การสังเคราะห์ทางเคมีโดยผ่านวิถีแลคโตไนไทรต์ โดยใช้ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) และอะซีทัลดีไฮด์ (CH_3CHO) เป็นสารตั้งต้นปฏิกิริยานี้จะเกิดในสภาวะที่เป็นของเหลวที่ต้องใช้ความดันค่อนข้างสูง ผลผลิตของปฏิกิริยาที่ได้คือ วิถีแลคโตไนไทรต์ ($CH_3CHOHCN$) ซึ่งจะนำมากลั่นและทำปฏิกิริยาต่อกับกรด จนได้เป็นกรดแลคติกในที่สุดกรดแลคติกที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยกรรมวิธีทางเคมีจะมีข้อด้อยคือ ได้กรดแลคติกที่มีไอโซเมอร์ผสมระหว่างแอล (+) และดี (-) แลคติกทำให้มีข้อจำกัดในการนำไปใช้

การผลิตกรดแลคติกวิธีที่ 2 เป็นการผลิตโดยวิธีการหมักโดยแบคทีเรียแลคติกเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกที่ได้จะนำไปผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อสกัดแยกเอากรดแลคติกออกจากน้ำหมัก เช่น ใช้สาร calcium hydroxide ($Ca(OH_2)$) จับกับกรดแลคติก จากนั้นทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟิวริกจนได้กรดแลคติกในที่สุด การผลิตกรดแลคติกโดยวิธีการหมัก มีข้อดีคือกรดแลคติกที่ได จะมีโครงสร้างแอลเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งปัจจุบันนี้การผลิตกรดแลคติก ด้วยวิธีนี้กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถใช้ทรัพยากรที่หมุนเวียนไดและจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการผลิตกรดแลคติกโดยกรรมวิธีการหมักนั้นสามารถผลิตได้จากเชื้อราและแบคทีเรีย

การผลิตกรดแลคติกด้วยเชื้อราพบว่า เชื้อราหลายสายพันธุในจีนัส *Rhizopus Mucor* และ *Monilia* เช่น เชื้อ *Rhizopus arrhizus* และเชื้อ *Rhizopus oryzae* สามารถสังเคราะห์กรดแลคติกได้โดยตรงจากการใช้แป้งเป็นสารตั้งต้น อีกทั้งเชื้อราไม่ต้องการแหล่งไนโตรเจนที่เป นสารอินทรีย์ (Presscott และ Dun, 1959) และกรดแลคติกที่ได้จะในรูปของแอล (+) ไอโซเมอร์ ดังนั้นการผลิตกรดแลคติกโดยการหมักวัตถุดิบด้วยเชื้อราจึงมีข้อดีคือ ช่วยลดต้นทุนในการผลิตได้ อย่างไรก็ตามการผลิตกรดแลคติกจากเชื้อราก็มีข้อเสียมากเช่นกันคือ

1) เนื่องจากเชื้อรามีโครงสร้างเป็นใยทำให้มีความยุ่งยากในระหว่างการหมักแม้ว่า ปัจจุบันมีการศึกษาการทำให้เส้นใยเชื้อราเกาะกันเป็นก้อน (Pellets) เพื่อให้ง่ายระหว่างการหมัก แต่ว่าวิธีนี้ก็

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังมีอุปสรรคที่เกี่ยวกับการเจริญของเชื้อรา เนื่องจากการส่งถ่ายสารอาหารทำได้ต่ำกว่าปกติ และให้ผลผลิตที่ค่อนข้างต่ำ (Sun และคณะ, 1999)

2) พบว่าเชื้อราสามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส 1 โมล ให้เป็นกรดแลคติกได้เพียง 1.5 โมล หรือประมาณร้อยละ 85 ของวัตถุดิบที่ใช้ (Sun และคณะ, 1999)

การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีการหมักโดยแบคทีเรีย นับจากอดีตจนถึงปัจจุบันจะใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นตัวเปลี่ยนวัตถุดิบให้เป็นกรดแลคติก ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการหมัก ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีนี้มีขั้นตอนการเปลี่ยนวัตถุดิบทางการเกษตร ซึ่งเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส ซึ่งทำให้เสียเวลาและงบประมาณในขั้นตอนดังกล่าว อีกทั้งกระบวนการดังกล่าวอาจได้สารที่มีความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย จึงเป็นเหตุให้ประสิทธิภาพการหมักลดลง และส่งผลให้ต้นทุนในการผลิตสูงขึ้นตามไปด้วย

การพัฒนากระบวนการผลิตกรดแลคติกจากการหมักด้วยแบคทีเรียแลคติก ได้มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่องพบว่า ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000 จนถึงปัจจุบันจำนวนเอกสารสิทธิ์เกี่ยวกับแบคทีเรียแลคติกมีมากกว่า 200 เรื่อง ซึ่งในจำนวนนี้มีมากกว่า 50 เอกสารสิทธิ์ที่คุ้มครองกรรมวิธีการผลิตกรดแลคติก เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดจะพบว่า ส่วนใหญ่เป็นการถือสิทธิเกี่ยวกับการผลิตกรดแลคติกที่ใช้วัตถุดิบจากการเกษตรโดยใช้กรรมวิธีต่างๆ เปลี่ยนวัตถุดิบทางการเกษตรให้เป็นน้ำตาล รวมทั้งการขอคุ้มครองกรรมวิธีการหมักกรดแลคติกแบบครั้งเดียว โดยการเติมเอนไซม์เข้าไปพร้อมกับการหมัก (Simultaneous Scarification Fermentation) หรือการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติกด้วยการตรึงเซลล์หรือตรึงเอนไซม์ (Immobilized cell/ Immobilized enzyme) เป็นต้น สวนการผลิตกรดแลคติกโดยการเปลี่ยนแป้งดิบไปเป็นกรดด้วยแบคทีเรียแลคติกโดยตรงยังมีน้อยมาก และที่พบส่วนใหญ่เป็นรายงานการวิจัย (กนกวรรณ, 2556)

กรดแลคติกถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอื่นๆ สำหรับในอุตสาหกรรมอาหารนั้น กรดแลคติกมักจะใช้เป็นสารป้องกันการเน่าเสีย หรือใช้สำหรับปรับความเป็นกรดของอาหารและเครื่องดื่ม เช่น การใช้แคลเซียมแลคเตท เป็นตัวปรับสภาพการผลิตขนมปัง เป็นต้น ในส่วนของอุตสาหกรรมอื่นๆ นอกเหนือจากอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้กรดแลคติกในอุตสาหกรรมการทอผ้า การฟอกหนัง การผลิตเครื่องสำอางและเคมีภัณฑ์ เช่น การผลิตครีมบำรุงผิว เนื่องจากคุณสมบัติในการต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์ของกรดแลคติก อีกทั้งพอลิเมอร์ดังกล่าวยังสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ส่งผลให้ปัจจุบันมีการนำกรดแลคติกมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ เพื่อลดการใช้พอลิเมอร์จากปิโตรเคมี ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้ความต้องการใช้กรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างมากในปัจจุบัน และเป็นความต้องการในส่วนของอุตสาหกรรมอื่นที่นอกเหนือจากอุตสาหกรรมอาหารอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 คุณสมบัติกรดแลคติก

1) มวลโมเลกุล 90.08

2) จุดหลอมเหลวชนิดแอลแลคติกและดีแลคติกอยู่ในช่วง 52.8 - 54.0 องศาเซลเซียส

– DL ในช่วง 16.8 - 33.0 องศาเซลเซียส (ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนผสม)

- จุดเดือดในรูปสารผสม D และ L ประมาณ 82.0 องศาเซลเซียส (0.5 มิลลิเมตรปรอท)

- ค่าคงที่การแตกตัว (Ka ที่ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1.37×10^{-4})

- ความร้อน 1361 กิโลจูลต่อโมล (ที่มา : สยามเคมี, 2561)

<u>แผนผังของวิธีการผลิตกรดแลคติกโดยการสังเคราะห์ทางเคมี</u>

- การเติม hydrogen cyanide

CH_3CHO + hydrogen cyanide → $CH_3CHOHCN$

Acetaldehyde — Lactonitrile

- กระบวนการไฮโดรไลซิสโดยกรดซัลฟิวริก

$CH_3CHOHCN$ + 1/2 H_2SO_4 → $CH_3CHOHCOOCH$ + 1/2 (NH_4)

Lactonitrile — Sulfuric acid — Lactic acid — Ammonium

- กระบวนการ esterification

$CH_3CHOHCOOCH$ + CH_3OH → $CH_3CHOHCOOCH_3$ + H_2O

Lactic acid — Methanol — Methyl lactate

- กระบวนการไฮโดรไลซิสโดยน้ำ

$CH_3CHOHCOOCH_3$ + H_2O → $CH_3CHOHCOOCH$ + CH_3OH

Methyl lactate — Lactic acid — Methanol

(ที่มา : ไชยวัฒน์, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนผังของวิธีการผลิตกรดแลคติกโดยวิธีการหมัก

- กระบวนการหมัก และ neutralization

$C_6H_{12}O_6$ + $Ca(OH)_2$ ⟶ $2(CH_3CHOHCOO)Ca^{2+}$ + $2H_2O$

Carbohydrate Calcium hydroxide Calcium lactate

- กระบวนการไฮโดรไลซิสโดยกรดซัลฟิวริก

$2(CH_3CHOHCOO)Ca^{2+}$ + H_2SO_4 ⟶ $2CH_3CHOHCOOH$ + $CaSO_4$

Calcium lactate Sulfuric acid Lactic acid Calcium sulphate

- กระบวนการ esterification

$CH_3CHOHCOOCH$ + CH_3OH ⟶ $CH_3CHOHCOOCH_3$ + H_2O

Lactic acid Methanol Methyl lactate

- กระบวนการไฮโดรไลซิสโดยน้ำ

$CH_3CHOHCOOCH_3$ + H_2O ⟶ $CH_3CHOHCOOCH$ + CH_3OH

Methyl lactate Lactic acid Methanol

(ที่มา : ไชยวัฒน์, 2553)

การผลิตกรดแลคติกโดยวิธีการหมัก มักใช้จุลินทรีย์เปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกที่ได้จะนำไปผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อสกัดแยกเอากรดแลคติกออกจากน้ำหมัก เช่น ใช้สารแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH_2)$) จับกับกรดแลคติก จากนั้นทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟิวริกจนได้กรดแลคติกในที่สุด ปัจจุบันนี้การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีนี้กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากด้วยเหตุผลคือ กรดแลคติกที่ได้จะมีโครงสร้างแอลแลคติกหรือดีแลคติกอย่างใดอย่างหนึ่งไว้ การใช้มีความบริสุทธิ์สูง ใช้การผลิตในสภาพที่ไม่รุนแรง กรดแลคติกโดยกรรมวิธีการหมักนั้นสามารถใช้ได้ทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย ปัจจุบันมีการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ทดแทนน้ำตาลในกระบวนการหมัก เนื่องจากมีของเหลือทิ้งในปริมาณมากสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิต และใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์ (กนกวรรณ, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 เปรียบเทียบข้อดีและข้อเสีย

เชื้อจุลินทรีย์โดยทั่วไปสามารถทนความร้อนได้โดยประมาณที่ช่วง 25 – 45 องศาเซลเซียส ในงานวิจัยครั้งนี้จึงเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Thermotolerent สามารถทนความร้อนได้สูงกว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป ทำให้สามารถใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นในการผลิตกรดแลคติก เนื่องจากการผลิตกรดแลคติกในอุณหภูมิที่สูงจะให้ผลผลิตของกรดแลคติกได้ดีกว่าการใช้อุณหภูมิต่ำ ในการผลิตกรดแลคติกคำนึงจากคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติกสามารถสลายตัวได้ดีในอุณหภูมิสูง

2.1.4 ข้อดีและข้อเสียของกระบวนการผลิตด้วยวิธีทางเคมี

1) ข้อดีของกระบวนการการสังเคราะห์ทางเคมี คือ กระบวนการนี้สามารถผลิตกรดแลคติกและเมทานอลที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

2) ข้อเสียของกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีของกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีจะสร้าง racemic mixture ของกรดแลคติก เป็นกรดแลคติกที่มีการผสมกันระหว่างกรดแลคติกที่มีโครงสร้างรูปแอลแลคติกและดีแลคติกที่มีสัดส่วนไม่แน่นอน ทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมได้ ซึ่งยังมีแนวทางอื่นที่สามารถจะผลิตกรดแลคติกได้เช่น การย่อยน้ำตาลกลูโคส เป็นต้น

3) ข้อดีข้อเสียของกระบวนการการผลิตกรดแลคติกด้วยการหมัก

ข้อดี การหมักโดยการใช้จุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่สามารถนำของเหลือทิ้งทางการเกษตรมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์และเป็นการเพิ่มมูลค่าได้ อีกทั้งยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตกรดแลคติก และลดการนำเข้ากรดแลคติกจากต่างประเทศ

ข้อเสีย ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติก มีขั้นตอนในการผลิตหลายขั้นตอนและใช้เวลานานกว่ากระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีเพื่อผลิตกรดแลคติก แต่ในยุคปัจจุบันในด้านอุตสาหกรรมได้หันมาใส่ใจในสภาพแวดล้อมมากขึ้น ทำให้กระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกจึงมีแนวโน้มสูงขึ้นที่จะนำไปพัฒนาและไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแลคติกได้ในอนาคต (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2 ฟางข้าว

ฟางข้าวเป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ได้จากการทำนา โดยในแต่ละปีประเทศไทยจะปริมาณการปลูกข้าวโดยประมาณ 61 ล้านไร่ จึงมีเศษฟางข้าวรวมทั้งส่วนที่เป็นตอซังไม่น้อยกว่า 40 ล้านตัน ทั้งนี้นาในแต่ละไร่จะให้ปริมาณฟางมากน้อยแตกต่างกันไป (นิตยา และคณะ, 2551) ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของดิน ลักษณะจำเพาะพันธุ์ของพันธุ์ข้าว ซึ่งมีทั้งพันธุ์ต้นเตี้ยและพันธุ์ต้นสูง รวมถึงปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่ทำการเพาะปลูก เช่น น้ำ อากาศ และอุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นต้น จากการสำรวจพื้นที่นาหนึ่งไร่จะมีเศษฟางข้าวประมาณ 0.32 - 1.6 ตันต่อ 1 ฤดูกาลเพาะปลูก และในด้านองค์ประกอบของคุณค่าสารอาหารในฟางจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพความอุดมสมบูรณ์ของดิน น้ำ ปริมาณปุ๋ยที่ใส่รวมถึงพันธุ์ข้าวและฤดูกาลที่เพาะปลูก องค์ประกอบของฟางข้าวที่พบทั่วไปใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมชาติจะมีส่วนของผนังเซลล์ร้อยละ 79 เซลลูโลสร้อยละ 33 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 26 เนื้อเซลล์ร้อยละ 21 ลิกนินร้อยละ 7 ซิลิการ้อยละ 13 ไนโตรเจนร้อยละ 0.75 ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.15 โพแทสเซียมร้อยละ 0.25 ซิลิก้าร้อยละ 11.0 แมกนีเซียมร้อยละ 0.25 และกำมะถันร้อยละ 0.80 เมื่อเผาฟางข้าวแล้วจะได้ค่าความร้อน 4,300 กิโลแคลต่อกิโลกรัม (เทวรัตน์ และคณะ, 2558)

2.3 ชานอ้อย

2.3.1 ความเป็นมาของชานอ้อย

ต้นอ้อยเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจำพวกหญ้าตระกูลเดียวกับพืชอื่น เช่น ฟางข้าว และข้าวโพด อ้อยเป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนแสงแดดจัดนิยมปลูกกันในประเทศเขตร้อน อ้อยมีลำต้นขนาดเล็กสูงประมาณ 3 เมตร มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.3 - 7.7 เซนติเมตร มีปล้องยาว 10 - 20 เซนติเมตร ที่ปลูกอยู่แถบถิ่นในอเมริกาใต้ เช่น อาเจนตินา บราซิล และเปรู ส่วนประเทศไทยแหล่งปลูกอ้อยที่มีพื้นที่ปลูกมาก คือ สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ขอนแก่น ราชบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา กำแพงเพชร อุดรธานี นครสวรรค์ และชลบุรี ซึ่งในปัจจุบันอ้อยที่ใช้ปลูกมักเป็นอ้อยที่เกิดจากการผสมพันธุ์ข้ามพันธุ์ระหว่างพันธุ์ปลูกกับพันธุ์ที่เป็นเครือญาติกัน

2.3.2 ลักษณะทั่วๆ ไป และลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลักษณะส่วนใหญ่ของอ้อยปลูกดั้งเดิม ซึ่งมีถิ่นกำเนิดแถบหมู่เกาะนิวกินี และอ้อยลูกผสม (Hybrid cane) ที่ได้จากการผสมระหว่างอ้อยชนิดต่างๆ (เกษม, 2523)

1) ราก อ้อยมีระบบรากฝอย (Fibrous root system) แผ่กระจายออกโดยรอบลำต้นในรัศมีประมาณ 50 - 100 เซนติเมตร ลึก 100 – 150 เซนติเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์และสภาพแวดล้อม อ้อยไม่มีรากแก้วนอกจากเมื่อปลูกด้วยเมล็ด ซึ่งดูคล้ายมีรากแก้วเรียกว่า ไพรมารีรูต (Primary root) หรือเซมินัลรูต (Seminal root) ปกติอ้อยขยายพันธุ์โดยใช้ลำต้นตัดเป็นท่อนๆ ละ 2 - 3 ตา แต่ละท่อนเรียกว่า ท่อนพันธุ์ (Sett หรือ Cutting หรือ Seed piece หรือ Seed cane) เมื่อเอาท่อนพันธุ์ดังกล่าวปลูกจะปรากฏราก 2 ชุด คือ

1. รากของท่อนพันธุ์ (Sett root หรือ Cutting root) หรือรากชั่วคราว เป็นรากที่เกิดจากปุ่มรากในบริเวณเกิดรากของท่อนพันธุ์ รากพวกนี้มีลักษณะผอมแตกแขนงมาก ขณะที่ตาของท่อนพันธุ์กำลังเจริญเป็นหน่อ (Shoot) นั้นได้น้ำและธาตุอาหารจากดินทางรากเหล่านี้ รากของท่อนพันธุ์จะทำหน้าที่ต่อไปจนกระทั่งหน่อมีรากของตนเอง ทำหน้าที่ดูดน้ำและธาตุอาหารแทน หลังจากนั้นรากของท่อนพันธุ์รวมทั้งตัวท่อนพันธุ์เดิมก็จะหมดสภาพไป

2. รากของหน่อ (Shoot root) หรือรากถาวร เป็นรากที่เกิดจากปุ่มรากของหน่อที่เกิดจากท่อนพันธุ์นั้น รากนี้มีขนาดใหญ่กว่ารากชนิดแรก เมื่อเกิดใหม่ๆ มีลักษณะอวบไม่มีแขนง สีขาว และสีจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเข้มเมื่ออายุมากขึ้น แม้ว่าปุ่มรากที่ปรากฏในบริเวณเกิดรากของแต่ละข้อจะมีจำนวนจำกัด แต่เนื่องจากส่วนโคนของลำต้นที่อยู่ใต้ดินมีปล้องถี่มาก ทำให้มีรากมาก รากจะเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกมาจากปุ่มรากเท่านั้น การเจริญของรากจะเกิดทยอยกันโดยต่อเนื่อง ในขณะที่รากเก่ากำลังเสื่อมสภาพลงนั้น รากใหม่ก็จะเกิดมาทำหน้าที่แทน และแม้ว่ารากที่เกิดในแต่ละข้อจะมีจำนวนจำกัด แต่การแตกสาขาไม่มีขอบเขตจำกัด โดยเฉพาะในดินที่เหมาะสม รากเหล่านี้สามารถหยั่งในแนวดิ่งและแนวนอนได้มากกว่า 100 เซนติเมตร นอกจากรากที่อยู่ใต้ดินแล้ว ยังมีรากที่เกิดจากข้อเหนือพื้นดินทั้งข้อที่อยู่ใกล้ผิวดินและสูงขึ้นไป อ้อยบางพันธุ์อาจมีรากยาวที่ข้อซึ่งอยู่ห่างจากพื้นดินมาก

2) ลำต้น (Stalk) อ้อยได้ชื่อว่า "หญ้ายักษ์" (Giant grass) เพราะมีลำต้นสูงใหญ่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 12 เดือน อาจมีลำต้นสูงประมาณ 2 - 3 เมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 – 5.0 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับพันธุ์ สภาพแวดล้อม และการรักษา ลำต้นประกอบด้วยข้อและปล้องจำนวนมาก ทั้งข้อและปล้องรวมเรียกว่า จอยต์ (Joint) หรือ "ปล้อง" อ้อยที่ตัดเมื่ออายุ 12 เดือน จะมีปล้อง 20 – 30 ปล้อง ในระยะห่างปล้องอ้อยจะมีปล้องเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยประมาณเดือนละ 3 ปล้อง เมื่อโตเต็มที่จะยาวประมาณ 10 – 15 เซนติเมตร ความยาวของปล้องขึ้นอยู่กับพันธุ์และสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะน้ำ ความยาวของปล้องก็จะแตกต่างกันคือ ปล้องที่อยู่ตอนโคนต้นจะสั้นมากและค่อยๆ ยาวขึ้นแล้วก็จะสั้นลงอีกเมื่อใกล้ยอด ลักษณะดังกล่าวปรากฏในอ้อยที่ไม่มีดอก ส่วนอ้อยที่มีดอกปล้องที่รองรับช่อดอกจะมีความยาวที่สุดแล้วลดลงตามลำดับ จนกระทั่งถึงส่วนที่ปล้องมีความยาวไล่เลี่ยกัน

3) สีของลำต้น (Stalk color) จะแตกต่างกันตามพันธุ์และสภาพแวดล้อม โดยทั่วไปมีสีแตกต่างกันตั้งแต่สีเขียวอ่อนจนถึงสีม่วงแก่เกือบดำสีต่างๆ เหล่านั้นเกิดจากรงคสาร (Pigments) ที่เป็นพื้นฐาน 2 ชนิดคือ

(ก) สีเขียวเกิดจากคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ซึ่งอยู่ในเนื้อเยื่อของลำต้น ในส่วนที่เรียกว่าเอพิเดอร์มีส (Epidermis) และส่วนที่อยู่ถัดเข้าไป

(ข) สีแดงเกิดจากแอนโทไซยานิน ปริมาณของรงคสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีมากน้อยแตกต่างกันไป พวกที่มีแอนโทไซยานินอยู่มากลำต้นก็จะออกสีแดง ในทำนองเดียวกันที่มีคลอโรฟิลล์อยู่มากก็จะเป็นสีออกเขียว นอกจากนี้ก็อาจมีรงคสารอื่นๆ ปนอยู่อีกเช่น รงคสารแดงปนเหลืองหรือส้มได้แก่ คาโรทินอยด์ (Carotinoid) และรงคสารสีเหลืองได้แก่ แซนโทฟิลล์ (Xanthopyll) เป็นต้น

4) ใบ มีลักษณะคล้ายใบข้าวแต่มีขนาดใหญ่และยาวมากกว่า ใบประกอบด้วย 2 ส่วน คือ กาบใบ และแผ่นใบ กาบใบ คือ ส่วนที่ติดและโอบรอบลำต้นทางด้านที่มีตา การโอบรอบลำต้นของกาบจะสลับข้างกัน ใบถัดขึ้นไปซ้ายจะทับขวา ฐานกาบใบกว้างที่สุดแล้วเรียวลงสู่ปลายแผ่นใบได้แก่ ส่วนที่อยู่ต่อจากกาบใบขึ้นไป ทั้งสองส่วนแยกจากกันตรงรอยต่อ (Blade joint) ด้านในของรอยต่อนี้จะมีส่วนยื่นเป็นเยื่อบางๆ รูปร่างคล้ายกระจับเรียกว่า ลิ้นใบ (Ligule) ที่ส่วนปลายของกาบใบ จะมีความกว้างมากกว่าฐานของแผ่นใบ จึงทำให้มีส่วนเกินซึ่งมักจะยื่นขึ้นไปข้างบนเรียกว่า หูใบ (Auricle) กาบใบส่วนมากมักมีสีแตกต่างจากตัวใบเช่น สีเขียวอ่อนหรือเขียวอมม่วง เป็นต้น ที่หลังกาบใบอาจมีขนและมีไขเกาะเหล่านี้ล้วนเป็นลักษณะประจำพันธุ์

5) ช่อดอก (Infjorescence) มีลักษณะคล้ายหัวลูกศรมีชื่อเรียกโดยเฉพาะว่า "แอโรว์" (Arrow) การออกดอกขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น พันธุ์ อายุ และสภาพแวดล้อม สภาพแวดล้อมที่สำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้แก่ ช่วงแสง (Photoperiod) หรือความยาวของวัน อุณหภูมิ และความชื้น มีอย่างเหมาะสมเป็นเวลานานพอจึงจะทำให้อ้อยออกดอก

ทางพฤกษศาสตร์ ช่อดอกอ้อยเป็นช่อดอกแบบโอเพนบรานชด์ แพนิเคิล (Open-branched panicle) มีความยาวไม่รวมก้านช่อดอกประมาณ 30 – 60 เซนติเมตร ช่อดอกประกอบด้วยแกนกลาง (Main axis) ก้านแขนงใหญ่ ซึ่งแยกออกจากแกนกลางและก้านแขนงรองซึ่งแยกจากก้านแขนงใหญ่ แล้วจึงจะถึงตัวดอก (Spikelet) ก้านแขนงย่อยต่อจากก้านแขนงรองอีกที่หนึ่งก่อนทีจะถึงตัวดอก ก้านแขนงที่ติดกับตัวดอกมีลักษณะเป็นท่อนสั้นเชื่อมติดต่อกัน เมื่อดอกโรยข้อต่อเหล่านี้จะหลุดจากกัน ส่วนดอกอ้อยเป็นดอกที่สมบูรณ์คือ มีทั้งส่วนที่เป็นเพศผู้และเพศเมียอยู่ในดอกเดียวกัน ส่วนของเพศผู้ประกอบด้วยอับเกสร (Anther) ซึ่งมีลักษณะยาวรี 3 อับ แต่ละอับมีก้านอับเกสร(Filament) เวลาดอกบานก้านนี้จะยืดตัวส่งอับเกสรออกมาภายนอก และต่อมาอับเกสรก็จะแตกออกปล่อยละอองเกสร (Pollen grain) ออกมาผสมตัวเองหรือลอยไปตามลม ส่วนของเพศเมียประกอบด้วยรังไข่ (Ovary) 1 รัง และสติกมา (Stigma) ซึ่งปลายแยกออกเป็น 2 แฉก ลักษณะคล้ายขนนกเรียกว่า ฟีทเทอรี สติกมา (Feathey stigmas) หลังจากได้รับการผสมรังไข่ก็จะเจริญเป็นเมล็ดต่อไป

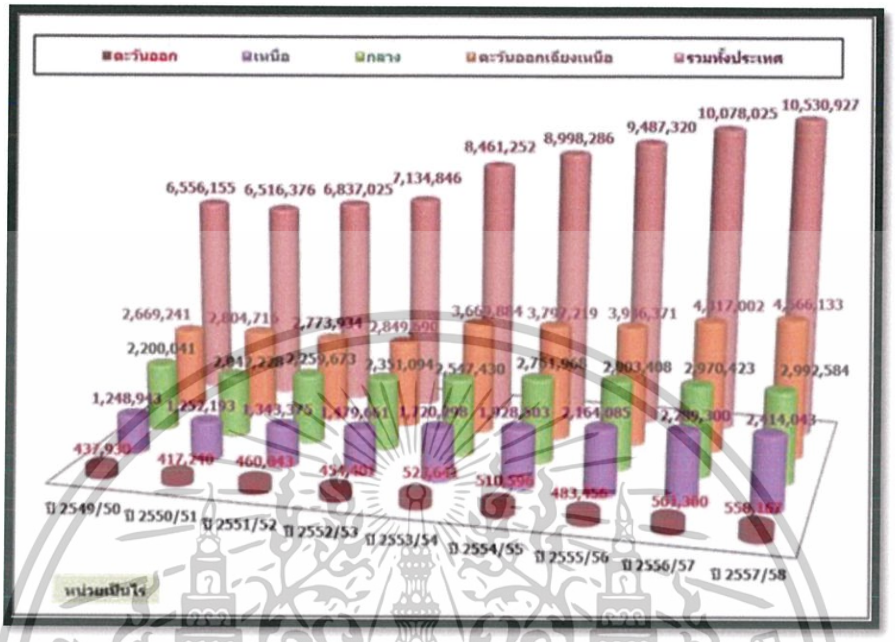
6) เมล็ดอ้อยเป็นผล (Fruit) ชนิดคาริออพซิส (Caryopsis) คล้ายเมล็ดข้าวแต่มีขนาดเล็กกว่ามาก ตามปกติเมล็ดอ้อยมักจะติดแน่นอยู่กับส่วนของดอกมีชื่อเรียกโดยเฉพาะว่า ฟัซซ์ หรือ ฟลัฟฟ์ (Fuzz หรือ Fluff) เมล็ดเหล่านี้ถ้าเพาะในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะงอกเป็นอ้อยต้นใหม่ได้

อ้อยเป็น 1 ใน 5 พืชเศรษฐกิจหลักสำคัญของประเทศไทยได้แก่ ข้าว ยางพารา อ้อย มันสำปะหลัง และปาล์มน้ำมัน (ประชาชาติธุรกิจ, 2559) น้ำตาลจากอ้อยเป็นน้ำตาลที่มีสัดส่วนประมาณร้อยละ 75 ของตลาดน้ำตาลทั้งหมดของโลก (อังคณา, 2554) ปัจจุบันประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งออกน้ำตาลจากอ้อยเป็นลำดับที่ 2 ของโลกรองจากประเทศบราซิล (สมพร, 2559) และในปี 2558 ประเทศไทยมีการส่งออกน้ำตาลทรายทั้งสิ้น 7,966,505.48 ตัน เพิ่มขึ้นร้อยละ 9 จากปี 2557 ซึ่งส่งออกได้จำนวน 7,321,575.94 ตัน ทั้งนี้ในปี 2558 ประเทศไทยมีกำลังการผลิตน้ำตาลและผลิตภัณฑ์จากน้ำตาลต่อปีมากกว่า 10 ล้านตัน จากโรงงานผลิตน้ำตาลดิบและน้ำตาลทรายขาวจากทั่วประเทศ 49 โรงงาน (กลุ่มวิชาการเกษตรและสารสนเทศ, 2558)

จากรายงานผลการสำรวจพื้นที่ปลูกอ้อยของสำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย โดยอาศัยข้อมูลจากภาพถ่ายดาวเทียมพบว่า ตั้งแต่ปีการผลิต 2549/2550 ถึง 2557/2558 พื้นที่ปลูกอ้อยในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (รูปที่ 2.2) และผลการสำรวจพื้นที่ปลูกอ้อยประจำปีการผลิต 2557/2558 ของสำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย โดยอาศัยข้อมูลจากดาวเทียมและการสำรวจจัดเก็บข้อมูลภาคสนามพบว่า ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยในเขตพื้นที่สำรวจรวม 47 จังหวัด จำนวน 10,530,927 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกอ้อยส่งโรงงาน 9,591,448 ไร่ และพื้นที่ปลูกอ้อยสำหรับทำพันธุ์ 939,479 ไร่ โดยมีพื้นที่เพิ่มจากปีการผลิต 2556/2557 จำนวน 455,784 ไร่ หรือร้อยละ 4.52 เนื่องจากรัฐบาลมีนโยบายปรับเปลี่ยนพื้นที่ปลูกข้าวในเขตไม่เหมาะสมมาเป็นพื้นที่ปลูกอ้อย ทำให้มีพื้นที่ที่มีศักยภาพสำหรับปลูกอ้อยเพิ่มขึ้น จังหวัดที่ปลูกอ้อยมากที่สุดคือ กาญจนบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นครสวรรค์ อุดรธานี นครราชสีมา ลพบุรี และขอนแก่น ตามลำดับ ซึ่งในแต่ละจังหวัดมีพื้นที่ปลูกอ้อยมากกว่า 6 แสนไร่ สำหรับปีการผลิต 2557/2558 ทั้งประเทศผลิตอ้อยได้ 116,712,776 ตัน โดยเป็นอ้อยส่งโรงงาน 105,959,057.985 ตัน (กลุ่มวิชาการเกษตรและสารสนเทศ, 2558)



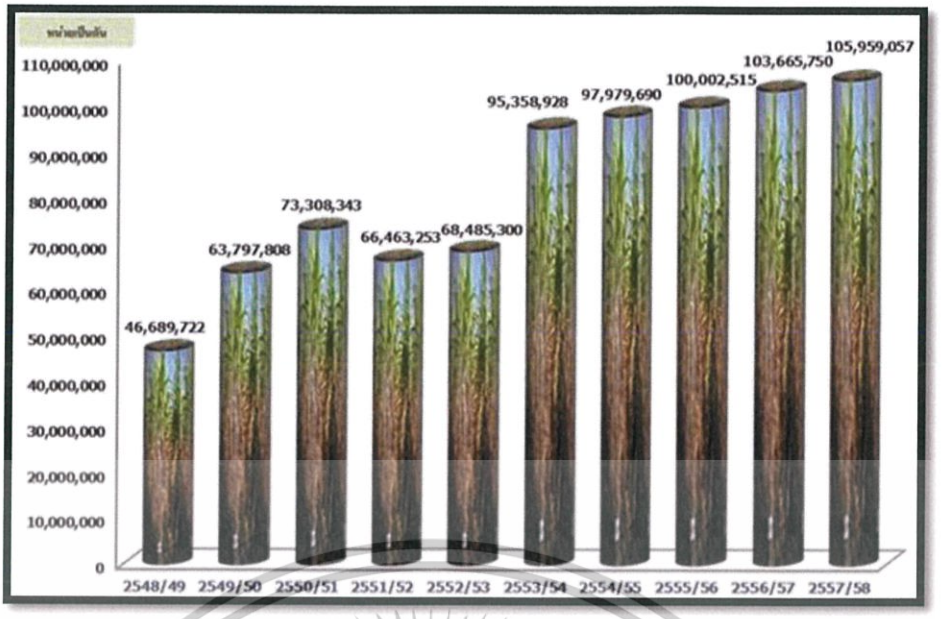
รูปที่ 2.2 กราฟเปรียบเทียบพื้นที่ปลูกอ้อยปีการผลิต 2549/2550 – 2557/2558 แปลจากภาพถ่ายดาวเทียม

(ที่มา : กลุ่มวิชาการเกษตรและสารสนเทศ, 2558)

รูปที่ 2.3 แสดงสถานการณ์การผลิตอ้อยเข้าหีบตั้งแต่ปี 2553/2554 จนถึงปีการผลิต 2557/2558 พบว่า มีปริมาณอ้อยเข้าหีบเพิ่มขึ้น โดยในปีการผลิต 2557/2558 มีปริมาณอ้อยเข้าหีบ 105,959,057 ตัน ซึ่งเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.2 จากปีการผลิต 2556/2557 ซึ่งหีบได้ประมาณ 103,665,750 ตัน เนื่องจากมีโรงงานน้ำตาลที่ได้รับอนุญาตให้ตั้งใหม่เปิดรับอ้อยเข้าหีบเพิ่มขึ้นหลายโรงในพื้นที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (กลุ่มวิชาการเกษตรและสารสนเทศ, 2558)

จากรายงานพยากรณ์พื้นที่เพาะปลูกอ้อยและผลผลิตปีการผลิต 2558/2559 ครั้งที่ 1 ณ วันที่ 21 พฤษภาคม 2558 ของสำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย คาดว่าประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยในเขตพื้นที่สำรวจรวม 47 จังหวัด จำนวน 11,033,736 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกอ้อยส่งโรงงาน 10,003,430 ไร่ และพื้นที่ปลูกอ้อยสำหรับทำพันธุ์ 1,030,306 ไร่ โดยมีพื้นที่เพิ่มจากปีการผลิต 2557/2558 จำนวน 502,809 ไร่ หรือร้อยละ 4.78 และมีอ้อยส่งโรงงานน้ำตาล 111,052,085 ตัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 กราฟเปรียบเทียบปริมาณอ้อยเข้าหีบ ปีการผลิต 2548/2549 – 2557/2558 (รายงาน ณ วันที่ 9 พฤษภาคม 2558)

(ที่มา : กลุ่มวิชาการเกษตรและสารสนเทศ, 2558)

ชานอ้อย (Bagasse) เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการหีบอ้อยเพื่อผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย ซึ่งจากการรวบรวมข้อมูลของสถาบันพัฒนาอุตสาหกรรมสิ่งทอแสดงให้เห็นว่า ชานอ้อยเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปที่มีศักยภาพในปัจจุบันสำหรับประเทศไทยที่จะนำมาพัฒนาเข้าสู่อุตสาหกรรมสิ่งทอ เนื่องจากเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมที่มีปริมาณมากและสม่ำเสมอ เป็นวัสดุเหลือทิ้งที่เกิดขึ้นจากอุตสาหกรรมในประเทศ เป็นวัสดุที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ด้วยกระบวนการหรือเทคโนโลยีที่มีอยู่แล้วในประเทศ และมีความคุ้มทุนในกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่ โดยต้นทุนของการนำกลับมาใช้ใหม่ถูกกว่าการใช้ของใหม่ (ธัญญารัตน์, 2557)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของชานอ้อย พบว่า ชานอ้อยมีปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 49 เส้นใยประมาณร้อยละ 49 และของแข็งที่ละลายได้ (Soluble solid) ประมาณร้อยละ 2 (Chiparus, 2004) และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยชานอ้อยแห้งพบว่าประกอบด้วย อัลฟาเซลลูโลสประมาณร้อยละ 45.5 เฮมิเซลลูโลสประมาณร้อยละ 27 ลิกนินประมาณร้อยละ 21.1 และอื่นๆ ประมาณร้อยละ 6.9 (Rocha และคณะ, 2011) ชานอ้อยเป็นแหล่งเซลลูโลสสำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) ด้วยกระบวนการไฮโดรไลซิส เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล (Guo และคณะ, 2013) สำหรับผสมในน้ำมันเชื้อเพลิงรถยนต์ นอกจากนี้เส้นใยเซลลูโลสจากชานอ้อยยังได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านสิ่งทอทั้งที่เป็นเส้นใยธรรมชาติ (Natural fiber) จากชานอ้อย (Chiparus, 2004) และเส้นใยเซลลูโลสประดิษฐ์ (Regenerated cellulosic fiber) จากชานอ้อย (Uddin และคณะ, 2010 ; Jiang และคณะ, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชานอ้อยเป็นเศษเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำตาลมีโครงสร้างทางเคมีได้แก่ วัตถุแห้ง (Dry Matter, DM) ร้อยละ 72.50 โปรตีนหยาบ (Crude protein) ร้อยละ 2.80 โครงสร้างที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber, NDF) ร้อยละ 79.40 และโครงสร้างที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (Acid detergent fiber, ADF) ร้อยละ 69.80 DM โดยชานอ้อยส่วนใหญ่มีโครงสร้างที่มีส่วนประกอบของลิกนินและมีเซลลูโลสที่อยู่ในรูปผลึก (Crystalline cellulose) ซึ่งทำให้การย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสได้ เซลลูโลส (Cellulose) เป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 50 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ร้อยละ 25 และลิกนิน (Lignin) ร้อยละ 25 ซึ่งองค์ประกอบในชานอ้อยที่พบสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนให้เชื้อจุลินทรีย์ และใช้เป็นแหล่งพลังงานราคาถูกในส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่การนำชานอ้อยไปใช้นั้นจำเป็นจะต้องนำชานอ้อยไปผ่านกระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment) ส่งผลให้ในปัจจุบันมีการปรับปรุงคุณภาพชานอ้อยด้วยวิธีต่างๆ มีการใช้กระบวนการปรับสภาพก่อนการหมักร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์เอนไซม์หรือสารเคมี เพื่อเป็นการทำลายโครงสร้างของชานอ้อยให้เชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ย่อยได้ง่ายมากขึ้น ทำให้ใช้เวลาในการย่อยน้อยลงและได้ผลผลิตที่ย่อยได้มากขึ้น (วาสนา, 2560)

2.4 กากกาแฟ

2.4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กาแฟ (Coffee) หรือ *Coffeeae* อยู่ในวงศ์ Rubiaceae สกุล *Coffea* L. จัดเป็นไม้พุ่มขนาดกลางสูงประมาณ 3-5 เมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์กาแฟของแต่ละพันธุ์ โดยทั่วไปแล้วกาแฟมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดังต่อไปนี้

1) ลำต้น โดยธรรมชาติแล้วกาแฟมีลักษณะลำต้นตรงในระยะแรกของการเจริญเติบโตจะไม่แตกกิ่ง แต่มีใบแตกออกตรงข้ออยู่ตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ ต่อมาเมื่อมีการเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ ก็มีการแตกกิ่งออกจากลำต้นในลักษณะที่แยกออกจากกันและอยู่ตรงข้ามกัน กิ่งที่แตกออกมาใหม่จะมีใบแตกออกเป็นคู่ๆ อยู่ตรงข้อเช่นเดียวกับลำต้น กิ่งจะขนานไปกับระดับพื้นดินหรือห้อยต่ำลงดิน ซึ่งเป็นที่เกิดของดอกและผลต่อไป นอกจากการแตกกิ่งออกจากตา ของลำต้นอีกเป็นจำนวนมากทำให้หน่อเกิดขึ้นใหม่นี้เบียดกับต้นเดือน ซึ่งถ้าหากปล่อยไว้ให้เจริญเติบโตเรื่อยๆ โดยไม่มีการปลิดทิ้งหรือตัดจะทำให้กาแฟมีทรงพุ่มที่แนบแน่นทึบเป็นที่สะสมของโรคแมลง และให้ผลผลิตลดต่ำลง

2) ดอกกาแฟมีสีขาวบริสุทธิ์ กลิ่นหอมคล้ายมะลิป่า รูปคล้ายดาวมีก้านสั้นอยู่รวมกันเป็นกลุ่มจะเกิดตามข้อของต้นกาแฟบ้างเป็นส่วนน้อย แต่ส่วนใหญ่ดอกกาแฟจะออกจากข้อของกิ่งกาแฟ โดยเริ่มไปจากข้อที่อยู่ใกล้ลำต้นลำต้นออกไปหาปลายกิ่ง กาแฟมีลักษณะพิเศษคือ ข้อของกิ่งจะสั้นสามารถที่จะเกิดดอกปละติดผลได้มาก ดอกกาแฟเป็นดอกสมบูรณ์เพศมีทั้ง เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียรวมอยู่ในดอกเดียวกัน เกสรตัวเมียจะมีอยู่ในดอกเดียวกัน เกสรตัวเมียจะมีอยู่สองส่วน เกสรตัวเมียจะมีอยู่สองส่วน เกสรตัวผู้มีอยู่จำนวนเท่ากับกลีบดอกคือ ประมาณ 2 – 4 อัน กาแฟบางพันธุ์อาจจะมีการพงผสมพันธุ์ข้ามสายพันธุ์กัน โดยง่ายหากอยู่ใกล้กันเวลาการออกดอกของกาแฟขึ้นอยู่กับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำ ถ้าในท้องถิ่นที่มีฝนตกเป็นฤดูดอกจะออกหลังจากฝนตกประมาณ 1 เดือน แต่ถ้าหากอากาศชุ่มชื่นอยู่ตลอดปีหรือมรการชลประทานเพียงพอ กาแฟจะออกดอกสม่ำเสมอตลอดทั้งปี

3) ผล แม้ว่าดอกกาแฟจดออกเป็นจำนวนมากแต่การติดผลจะมีเพียงร้อยละ 16 – 26 เมื่อกลีบดอกล่วงแล้วหงกาแฟจะติดเป็นผลมีลักษณะคล้ายลูกหว้า ซึ่งภายในผลกาแฟแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งมีเมล็ดกาแฟ 1 เมล็ด ซึ่งมีลักษณะแบนยาวไปตามรูปของเปลือกหุ้มถ้าหากเมล็ดหนึ่งเมล็ดใดลีบเพราะการผสมพันธุ์ไม่ดีเมล็ดที่เหลืออยู่จะมีรูปกลม ส่วนยาวจะมีรูปโค้งเป็นรูปกระบอกตัด เมล็ดที่สุกจะมีสีน้ำตาลปนแดง

4) เมล็ดกาแฟ เป็นส่วนที่อยู่ในกะลาซึ่งห่อหุ้มด้วยเยื่อบางๆ ส่วนเนื้อกาแฟที่ห่อหุ้มกะลา เมื่อสุกเต็มที่มีรสหวานเล็กน้อย ลักษณะเป็นยาวเหนียวๆ ผลกาแฟเมื่อสุกเต็มที่ปอกเอาเปลือกและเนื้อทิ้งนำเมล็ดกาแฟทั้งกะลาไปตากแห้งจะเสียน้ำหนักไปประมาณร้อยละ 7 และผลกาแฟสดที่เก็บมาทำเป็นสารกาแฟแห้งเสียน้ำหนักไปประมาณร้อยละ 80 โดยเฉพาะถ้าหากนำไปคั่วทำเป็นกาแฟที่ใช้ชงรับประทานจะมีเนื้อกาแฟแท้ร้อยละ 13.60 กาแฟข้อหนึ่งๆ ที่ให้ผลกาแฟแล้วในปีต่อไปจะไม่ให้ผลอีกแต่ผลกาแฟจะออกต่อไปในข้อที่ยังไม่ออกผล กาแฟจะออกผลจากข้อที่ใกล้ลำต้นออกไปสู่ปลายกิ่ง ส่วนจะออกกี่ช่อนั้นสุดแต่ความสมบูรณ์ของต้นกาแฟในปีนั้นๆ (นฤวัตร, 2557)

2.4.2 สายพันธุ์กาแฟ

ปัจจุบันมีประเทศต่างๆมากกว่า 50 ประเทศที่ปลูกกาแฟ บริเวณที่เหมาะสำหรับปลูกกาแฟคือบริเวณพื้นที่ระหว่างเส้นทรอปิคออฟแคนเซอร์ (Tropic of Cancer) บริเวณเส้นรุ้งที่ 23.5 องศาเหนือเส้นศูนย์สูตร กับทรอปิดออฟเคปริคอร์น (Tropic of Capricorn) คือ บริเวณเส้นรุ้งที่ 23.5 องศา ใต้เส้นศูนย์สูตร พื้นที่เพาะปลูกจะต้องมีแสงแดดพอสมควรและมีเงาร่ม มีฝนค่อนข้างชุก อุณหภูมิที่เหมาะคือประมาณ 59 องศาฟาเรนไฮต์ถึง 75 องศาฟาเรนไฮต์และมีความสูง ความสูงจะเป็นตัวกำหนดสายพันธุ์ของกาแฟที่จะปลูก ด้วยเหตุนี้กาแฟจึงแยกออกเป็นสายพันธุ์ใหญ่ๆ ได้สองสายพันธุ์คือ

1) พันธุ์อาราบีก้า (Arabica) เป็นพันธุ์ที่เหมาะสำหรับปลูกในพื้นที่ที่มีความสูงตั้งแต่ 2,500 ฟุตขึ้นไป

2) พันธุ์โรบัสต้า (Robusta) เป็นพันธุ์ที่เหมาะสำหรับปลูกในพื้นที่ราบหรือในที่ที่มีความสูงต่ำกว่า 1,500 ฟุต

ส่วนสายพันธุ์อื่นๆ นั้นก็ล้วนผสมมาจากสองสายพันธุ์นี้ทั้งนั้น เช่น พันธุ์บูร์บอน (Bourbon) คาทูร์รา (Caturra) ซึ่งปลูกในบราซิลและโคลัมเบีย เป็นต้น

2.4.3 ข้อควรรู้สายพันธุ์กาแฟอาราบีก้า

1) อาราบีก้า (Arabica) เป็นกาแฟที่มีการปลูกกันมากที่สุดในโลกคาดว่ากว่าร้อยละ 70 ของกาแฟที่เพาะปลูกเป็นกาแฟพันธุ์นี้

2) กาแฟอาราบีก้าจะต้องปลูกบนที่ราบสูงที่มีความสูงตั้งแต่ 2,500 ฟุตหรือประมาณ 750 เมตรจากระดับน้ำทะเลขึ้นไป ยิ่งสูงผลผลิตที่ได้ก็จะยิ่งดีและมีคุณภาพสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) แร่ธาตุในดินที่ปลูกจะต้องอุดมสมบูรณ์ โดยเฉพาะดินที่เกิดจากการระเบิดของภูเขาไฟจะเป็นดินที่เหมาะที่สุดสำหรับการปลูกกาแฟพันธุ์อาราบีก้า

4) อุณหภูมิในบริเวณที่เพาะปลูกจะต้องมีความสม่ำเสมอคือ อยู่ระหว่าง 15 - 22 องศาเซลเซียส อาราบีก้าเป็นพันธุ์กาแฟที่ต้องได้รับการดูแลเอาใจใส่ในการเพาะปลูก เพราะมีความต้านทานโรคต่ำ โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อราตามใบ การเปลี่ยนแปลงของอากาศ เช่น หมอก ลูกเห็บและความแห้งแล้ง จะมีผลกระทบอย่างมากช่วงที่ต้นกาแฟกำลังออกดอก

5) ผลผลิตของกาแฟพันธุ์อาราบีก้าจะตกอยู่ประมาณ 1 - 1.5 กิโลกรัมต่อต้นต่อปีเมื่อตากแห้งแล้ว

6) ปริมาณคาเฟอีนในกาแฟพันธุ์อาราบีก้าจะมีประมาณเพียงแค่ไม่เกินร้อยละ 1 - 1.5 ของปริมาณน้ำหนักของเมล็ดกาแฟ

7) กาแฟพันธุ์อาราบีก้า มีราคาสูงกว่ากาแฟพันธุ์โรบัสต้า

8) กาแฟพันธุ์อาราบีก้าจะมีรสชาติหอม นุ่ม หวาน และกลิ่นที่หอมกว่ากาแฟพันธุ์โรบัสต้า แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับการคั่ว

9) กาแฟพันธุ์อาราบีก้าจะออกดอกหลังฤดูฝน และใช้เวลา 6 - 9 เดือนกว่าจะเก็บผลสุกได้ (จารุพัชร์ และคณะ, 2556)

2.4.4 ข้อควรรู้สายพันธุ์กาแฟโรบัสต้า (Robusta)

1) กาแฟพันธุ์โรบัสต้าเป็นกาแฟที่นิยมปลูกกันในที่ราบหรือในบริเวณที่มีความสูงไม่มากนักจากระดับน้ำทะเล หรือในพื้นที่ที่ไม่สามารถปลูกกาแฟพันธุ์อาราบีก้าได้

2) พื้นที่เพาะปลูกก็ไม่จำเป็นที่จะต้องอุดมสมบูรณ์ด้วยแร่ธาตุอาหารเหมือนกับกาแฟพันธุ์อาราบีก้า

3) กาแฟโรบัสต้าเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคสูง จึงไม่ค่อยต้องได้รับการเอาใจใส่เหมือนกับกาแฟอาราบีก้า

4) ให้ผลผลิตต่อต้นต่อปีสูงกว่าพันธุ์อาราบีก้าคือ จะให้ผลผลิตประมาณ 1.5 - 2 กิโลกรัมต่อต้นต่อปีเมื่อตากแห้งแล้ว

5) ผลผลิตมีราคาถูกกว่าผลผลิตของกาแฟอาราบีก้า และบริษัทผู้ผลิตกาแฟสำเร็จรูปจึงนิยมเอากาแฟโรบัสต้าไปผลิตเป็นกาแฟสำเร็จรูป หรือนำไปผสมกับกาแฟอาราบีก้า เพื่อให้ได้รสชาติที่เข้มข้นขึ้น

6) ปริมาณคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟโรบัสต้า มีสูงกว่าคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟอาราบีก้าคือ เมล็ดกาแฟโรบัสต้าจะมีคาเฟอีนประมาณร้อยละ 2 ของปริมาณน้ำหนักของเมล็ดกาแฟ

7) กาแฟพันธุ์โรบัสต้าจะออกดอกเกือบตลอดปี และใช้เวลา 8 - 11 เดือนกว่าจะเก็บผลสุก

ถึงแม้ว่ากาแฟโรบัสต้าจะเป็นกาแฟเกรดต่ำแต่ก็ไม่ได้หมายความว่าจะไม่มีกาแฟโรบัสต้าเกรดดี เรียกว่า "พรีเมี่ยมเกรด" เช่น กาแฟจากเคนย่า เป็นต้น สายพันธุ์อื่นๆ เช่น ไลเบอริก้า (Liberica)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอ็กเซ็ลซา (Exelsa) แคทีมัวร์ (Catimor) เค็นท์ (Kent) ล้วนเป็นพันธุ์ผสมจากต้นสายพันธุ์คือ อาราบีก้าและโรบัสต้า ปัจจุบันความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ทำให้การเพาะปลูกกาแฟเป็นไปได้รวดเร็วขึ้น จากการขยายพันธุ์โดยใช้วิธีการเพาะเนื้อเยื่อซึ่งทำให้ได้ต้นกาแฟที่แข็งแรงมีความต้านทานโรคสูงและให้ผลผลิตที่ดีและมีคุณภาพ (จารุพัชร์ และคณะ, 2556)

ในปัจจุบันกาแฟจัดเป็นหนึ่งในบรรดาเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในโลก ในปี 2010 มีรายงานว่า มีการผลิตเมล็ดกาแฟได้ประมาณ 8,017,860 ตันจากทั่วโลก ในส่วนของประเทศไทยช่วงทศวรรษที่ผ่านมาพบว่า ประชากรนิยมหันมาบริโภคกาแฟสดกันเพิ่มมากขึ้น ส่งผลทำให้ธุรกิจร้านกาแฟสดมีอัตราเพิ่มมากขึ้นแบบกระจายตัวในทุกพื้นที่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ นับว่าธุรกิจกาแฟเป็นธุรกิจที่มีการขยายตัวและการแข่งขันสูง ทั้งนี้จากการขยายตัวของธุรกิจกาแฟสด ทำให้มีเศษเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตกาแฟสดเป็นจำนวนมาก เศษเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตกาแฟสดได้แก่ ส่วนของเมล็ดกาแฟ (Coffee pulp) ร้อยละ 55 และส่วนของเปลือกกาแฟ (Hull and husk) ร้อยละ 29 โดยปริมาณเศษเหลือทิ้งจากกากกาแฟในแต่ละปีมีประมาณ 6 ล้านตันจากทั่วโลก ส่วนใหญ่เศษเหลือทิ้งเหล่านี้ไม่ถูกนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์เท่าที่ควร และเมื่อทำการวิเคราะห์คุณค่าจากกากกาแฟ (Spent Coffee Ground, SCG) พบว่ามีส่วนประกอบที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากมาย ดังต่อไปนี้ โปรตีนร้อยละ 10.3 - 12.2 ไขมันร้อยละ 15.2 - 17.9 เซลลูโลสร้อยละ 13.2 - 18.4 ซึ่งกากกาแฟมีโครงสร้างที่เป็นเส้นใยค่อนข้างสูง ทั้งในรูปของเซลลูโลส (Cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ร้อยละ 45.3 นอกจากนี้ยังมีปริมาณของแมนแนน (Mannan) ร้อยละ 46.8 กาแลคโตส (Galactose) ร้อยละ 30.4 กลูโคส (Glucose) ร้อยละ 19.0 และอะราบิโนส (Arabinose) ร้อยละ 3.8 ซึ่งแมนแนนจัดเป็นส่วนประกอบที่มีมากในกากกาแฟ นอกจากนี้ยังพบปริมาณแอนตี้ออกซิแดนท์ (Antioxidant) ที่สูงเช่นกัน โดยรายงานของ Mussatto และคณะ (2011) ระบุว่าในกากกาแฟมีปริมาณของแอนตี้ออกซิแดนท์ ~0.10 Mm Fe/g SCG และปริมาณฟีนอล ~16 มิลลิกรัม GAE/กรัม SCG (รพีพรรณ, 2560)

2.4.5 ประโยชน์และโทษของกาแฟ

ความนิยมของกาแฟทั่วโลกส่งผลต่องานวิจัยเชิงสุขภาพมากมาย ในความเป็นจริงกาแฟเป็นสินค้าที่มีการวิจัยมากที่สุด การศึกษาบ้างชิ้นอ้างถึงผลกระทบเชิงลบเป็นตัวอย่างเล็กๆ ที่ไม่มีการควบคุมปัจจัยอื่นที่ส่งผลกระทบ อย่างไรก็ตามการศึกษาส่วนใหญ่ยืนยันว่า การดื่มกาแฟในปริมาณพอเหมาะมีความปลอดภัยและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ (ช่อทิพยวรรณ, 2537)

ประโยชน์ของกาแฟ

1) สารต้านอนุมูลอิสระในกาแฟ การศึกษาในปี พ.ศ. 2547 เกี่ยวกับแหล่งโภชนาการของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า ผู้สนับสนุนใหญ่ที่สุดของสารต้านอนุมูลอิสระคือ กาแฟ ช่วยบรรเทาโอกาสการเกิดของโรคหัวใจและโรคมะเร็ง โรคเบาหวาน และเส้นเลือดในสมองตีบหรือแตก นอกจากนี้การดื่มกาแฟในปริมาณที่พอเหมาะยังสามารถช่วยบรรเทาอาการปวดศีรษะ กระตุ้นอารมณ์ ป้องกันฟันผุ ป้องกันกระบวนการก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์และความชรา เป็นต้น รวมทั้งความเสียหายจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสูบบุหรี่และการรับแอลกอฮอล์ในปริมาณสูง องค์กรกาแฟระหว่างประเทศตระหนักดีว่าผลกระทบจากการศึกษาอื่นๆ ปรากฏชัดเจนว่า กาแฟบรรจุสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าชาถึง 4 เท่า

2) โรคพาร์กินสัน หรือการสูญเสียเซลล์สมอง เป็นโรคประสาทที่ลุกลามและจะแสดงอาการเฉพาะคือ การสั่นเทาของกล้ามเนื้อ การเคลื่อนไหวช้าลง อ่อนแอ อัมพาตที่ใบหน้า หากดื่มกาแฟปริมาณที่เหมาะสมสามารถลดความเสี่ยงการเกิดโคพาร์กินสันได้

3) เบาหวาน นักวิจัยค้นพบว่าการดื่มกาแฟลดความเสี่ยงของพัฒนาการเบาหวาน ผู้ที่ดื่มกาแฟมากกว่า 6 ถ้วยต่อวัน สามารถลดความเสี่ยงการเกิดโรคเบาหวานได้

4) นิ่วในถุงน้ำดี กาแฟมีผลต่อการสันดาปและลดความเสี่ยงของการก่อตัวของนิ่วในถุงน้ำดี

5) ตับแข็ง โดยทั่วไปกาแฟใช้แก้อาการเมาค้างและงัวเงียในตอนเช้า แต่มีประโยชน์มากกว่าหากดื่มก่อนเริ่มงานเลี้ยง

6) นิ่วในไต การบริโภคกาแฟลดอัตราความเสี่ยงการเกิดนิ่วในไต กาแฟเพิ่มปริมาณปัสสาวะและป้องกันการตกผลึกของแคลเซียมออกซาเลตที่เป็นส่วนประกอบทั่วไปของนิ่วในไต

7) ปรับปรุงสมรรถนะทางความคิด กาเฟอีนในกาแฟช่วยกระตุ้นเซลล์สมอง ปรับปรุงสมาธิ เวลาตอบสนองและลดความเหนื่อยล้า

8) โรคอัลไซเมอร์ การดื่มกาแฟช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ จากการศึกษาในหนูทดลองแสดงให้เห็นว่ากาเฟอีนในกาแฟ 2 ถ้วยต่อวัน สามารถลดการก่อตัวของพลักซ์ที่เป็นอันตรายต่อสมอง

ผลกระทบเชิงลบของกาแฟ

1) กาแฟมีกาเฟอีน จึงมีแนวโน้มที่จะทำให้เกิดปัญหาสุขภาพมากมาย

2) กาเฟอีนทำให้ท้องผูก เนื่องจากกาแฟเป็นตัวขับปัสสาวะ จึงอาจทำให้เกิดการสูญเสียน้ำขาดของเหลวในร่างกายจนก่อให้เกิดอาการท้องผูก

3) การดื่มกาแฟเป็นเวลานานทำให้ฟันสกปรก กาแฟมีผลกระทบต่อฟันคล้ายสารนิโคติน ดังนั้นจึงอาจส่งผลทำให้ฟันเหลือง และฟันผุ โดยเฉพาะเมื่อเติมน้ำตาลปริมาณมากลงไปในเครื่องดื่ม

4) กาเฟอีน น้ำมัน และกรดในกาแฟ ระคายเคืองเยื่อบุในกระเพาะอาหาร กาแฟทำให้กระเพาะอาหารผลิตกรดไฮโดรคลอริกมากเกินไปซึ่งนำไปสู่การย่อยอาหารที่มีสมรรถภาพลดลง กาแฟไร้กาเฟอีนบรรจุน้ำมันและกรดเหมือนกาแฟปกติ ส่งผลต่อการคัดหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้เมื่อดื่มกาแฟตอนท้องว่างยังเป็นการเพิ่มกรดในกระเพาะอาหาร ทำให้เจ็บปวดแผลในกระเพาะได้ทันที

5) กาแฟส่งผลต่อการลดกล้ามเนื้อท่ออาหารที่หดปิดได้ กล้ามเนื้อที่ควบคุมการเปิดปิดระหว่างกระเพาะอาหารและลำคอ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความดันของกล้ามเนื้อท่ออาหารที่หดปิดได้ การไหลกลับของกรดในอาหารจะย้อนขึ้นมาสู่ลำคอเป็นสาเหตุของอาการจุกเสียด

6) กาแฟชะลอการส่งของเสียผ่านลำไส้เล็ก กาแฟเลวร้ายกว่าสารนิโคตินและแอลกอฮอล์ทำให้เสียดท้อง มีแก๊สในกระเพาะอาหารมากเกินไป และส่งผลเสียต่อระบบการย่อย การดื่มกาแฟเพิ่มความเสี่ยงของการเป็นแผลในกระเพาะอาหารสูงถึงร้อยละ 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลข้างเคียงของกาเฟอีน

1) ผู้หญิงที่ได้รับปริมาณกาเฟอีนมีแนวโน้มสูญเสียแคลเซียมในปัสสาวะมากกว่า จึงส่งผลต่อการเป็นโรคกระดูกพรุนได้ ทางแก้ไขคือ ดื่มวันละ 1 แก้วเพื่อชดเชยแคลเซียมที่เสียไป

2) กาเฟอีนทำให้อาการเจ็บปวดเต้านมก่อนมีประจำเดือนรุนแรงขึ้น และรบกวนการนอนหลับ

3) ผู้หญิงที่ดื่มกาแฟมากกว่า 4 ถ้วยต่อวัน มีความเสี่ยงของการกลั้นปัสสาวะไม่อยู่เกือบ 2 เท่า

4) การเลิกดื่มกาแฟอาจทำให้ปวดศีรษะ และมีอาการสั่นของร่างกายที่ไม่พึงประสงค์

5) กาแฟบรรจุสารก่อมะเร็งมากมาย

6) กาแฟเร่งสูบฉีดฮอร์โมนความเครียดทำให้ความดันโลหิตเพิ่มสูงขึ้น เกิดอาการตื่นตระหนก

7) กาแฟเป็นยาขับปัสสาวะ อาจส่งผลให้ร่างกายสูญเสียน้ำ

8) กาเฟอีนขัดขวางเคมีที่ปรากฏตามธรรมชาติในส่วนของต่อมอดีโนไซต์และส่งผลต่อสมอง

นอกจากนี้ยังเพิ่มการเต้นของหัวใจ การหายใจ อัตราการสันดาปพื้นฐาน ปฏิกิริยาสะท้อนกลับของภาวะกระเพาะลำไส้อักเสบ การผลิตกรดกระเพาะอาหารและปัสสาวะยังมีปฏิกิริยาต่อกล้ามเนื้อเรียบ กล้ามเนื้อหลอดลม การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ขึ้นอยู่กับบุคคล ความรู้สึกไว การสันดาป หรือการบริโภคจนชินเป็นนิสัย

บางคนเชื่อว่ากาเฟอีนทำให้ตื่นตัวลดอาการอ่อนเพลีย อย่างไรก็ตามกาเฟอีนอาจฟื้นฟูความรู้สึกก่อนที่จะรู้สึกอ่อนเพลียหรือเบื่อหน่ายจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า กาเฟอีนลดเวลาตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นทั้งทางสายตาและการฟัง เมื่อรับกาเฟอีนในปริมาณสูงเกินไปอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงปรารถนา ซึ่งผลกระทบระยะยาวของกาเฟอีนในร่างกายคือ กาเฟอีนดูดซึมอย่างรวดเร็วผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดซึ่งใช้เวลาประมาณ 15 – 45 นาที เพื่อบรรลุระดับสูงสุด ระดับกาเฟอีนในเลือดที่ไปเลี้ยงสมองเป็นปัจจัยกำหนดการออกฤทธิ์ในร่างกาย โดยปกติระบบประสาทส่วนกลางถูกกระตุ้นสูงสุดภายใน 30 – 60 นาที กาเฟอีนถูกสันดาปผ่านตับขับออกทางปัสสาวะสามารถซ่อนเร้นในน้ำลาย น้ำนมในเต้า และน้ำอสุจิ

กาเฟอีนมีผลต่อร่างกายเมื่อคงอยู่ในกระแสเลือด เวลาที่ต้องการเพื่อขจัดปริมาณของกาเฟอีนครึ่งหนึ่งที่บริโภค ปัจจัยที่ทำให้ครึ่งชีวิตของกาแฟยาวนานขึ้นรวมถึงยาบางชนิด โรคตับ การตั้งครรภ์ ระดับเอนไซม์ในตับที่จำเป็นสำหรับการสันดาปกาเฟอีน การดื่มหรือได้รับกาเฟอีนในปริมาณมากเกินไปจะไปเร่งการเสื่อมสภาพของกระดูกในหญิงตั้งครรภ์ ส่งผลต่อน้ำหนักแรกเกิดของทารก และเพิ่มความเสี่ยงของการแท้งบุตรโดยธรรมชาติ ผู้หญิงที่ตั้งครรภ์หรือต้องการมีบุตรได้รับคำแนะนำให้จำกัดการดื่มกาแฟไม่เกิน 2 ถ้วยต่อวัน ทั้งยังเป็นตัวเร่งทำให้เกิดอาการเสียดท้อง หัวใจเต้นเร็ว และกระวนกระวายใจ (ช่อทิพยวรรณ, 2537)

จากข้อมูลของกรมพัฒนาที่ดินเกี่ยวกับปริมาณวัตถุดิบสำหรับผลิตปุ๋ยอินทรีย์พบว่า ในปี 2549 จังหวัดระนองมีปริมาณกากกาแฟที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ประมาณ 20,000 ตัน และข้อมูลจากบริษัทคอมโพสท์ ยูอิ จำกัด ผู้ผลิตและผู้จัดจำหน่ายปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งเป็นผู้ได้รับสัมปทานกากกาแฟจากโรงงานผู้ผลิตกาแฟหลายแห่ง โดยมีปริมาณกากกาแฟที่ประมูลได้เฉลี่ย 600 ตันต่อเดือน ในโรงงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

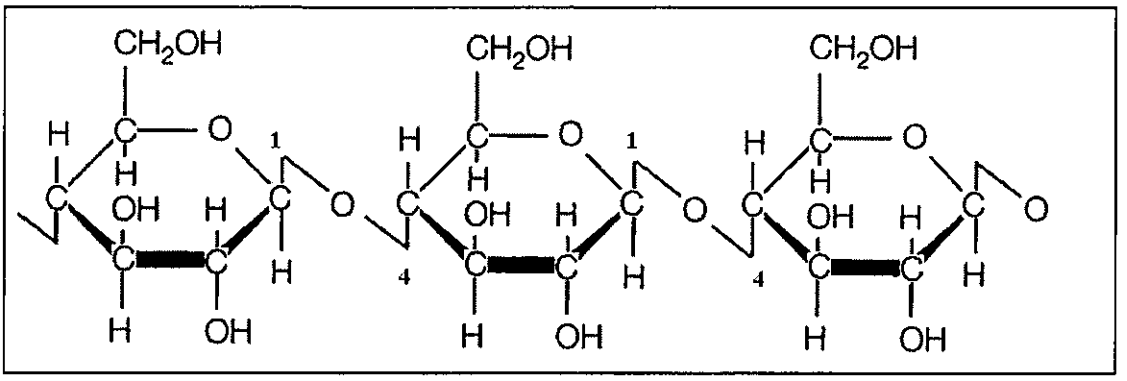
บางแห่งได้นำกากกาแฟกลับไปใช้เป็นเชื้อเพลิงอีกครั้ง ส่งผลให้เกิดการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กลับสู่ชั้นบรรยากาศก่อให้เกิดภาวะโลกร้อน

2.5 เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดในเซลล์พืชพบตามผนังเซลล์ทุกชนิด มีหน้าที่ช่วยทำให้พืชมีโครงสร้างแข็งแรง ในธรรมชาติจะไม่พบเซลลูโลสในรูปอิสระ แต่มักจะพบรวมกับลิกนิน เฮมิเซลลูโลสกับเพนโดแซน แทนนิน ไขมันและสารสี เป็นต้น เซลลูโลสเป็นโฮโมพอลิแซกคาไรด์ที่นี้นำหนักโมเลกุลสูง เซลลูโลสเมื่อถูกย่อยจะแตกตัวออกให้น้ำตาลกลูโคสจำนวนมาก เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของเซลล์ (Structural carbohydrate) ประกอบด้วยหน่วยย่อยคือโมเลกุลของกลูโคส 1,000 ถึง 10,000 โมเลกุล มีน้ำหนักโมเลกุล 200,000 ถึง 2,000,000 หน่วยย่อยพื้นฐาน คือ เซลโลโบโฮส ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 2 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะ เบต้า-1,4 ไกลโคซิติก โดยที่ไม่มีการแตกแขนงเซลลูโลสในผนังเซลล์ชั้นแรกประกอบด้วยกลูโคสยาวประมาณ 2,000 โมเลกุลและอย่างน้อย 14,000 โมเลกุลในผนังเซลล์ขั้นที่สอง โดยโมเลกุลของกลูโคสจะเกาะกันเป็นคู่ตามยาวและเรียงขนานกันเป็นกลุ่ม 40 คู่ เรียกว่า ไมโครไฟบริล เซลลูโลสไม่เกิดปฏิกิริยากับสารละลายเบเนดิกต์ แต่ถ้าย่อยเซลลูโลสโดยการต้มกับสารละลายกรด เซลลูโลสจะถูกย่อยได้เป็นกลูโคส ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับสารละลายเบเนดิกต์

โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสแสดงดัง รูปที่ 2.4 การจัดเรียงตัวของกลูโคสอยู่ลักษณะรูปเก้าอี้ แต่ละโมเลกุลจับกันด้วยพันธะไกลโคสิติกระหว่างคาร์บอนตัวที่หนึ่งอยู่ในตำแหน่งเบต้าจึงเรียกพันธะนี้ว่า เบต้า-1-4-ไกลโคสิติก (β-1,4-glycosidic) การเรียงตัวของโมเลกุลเซลลูโลสมีลักษณะเป็นเส้นตรงไม่มีแขนงย่อยมีสูตรเคมีทั่วไปคือ $-(C_6H_{10}O_5)n-$ เมื่อ n คือ จำนวนหน่วยกลูโคสทั้งหมดที่ประกอบกันเป็นโครงสร้าง จำนวนกลูโคสในสายเซลลูโลสไม่สามารถทราบจำนวนที่แท้จริงได้ เนื่องจากระหว่างสายเซลลูโลสจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งเรียงแน่นเป็นมัดไมโครไฟบริล จึงมีความแข็งแรงและไม่ละลายน้ำหรือสารอินทรีย์ใดๆ (อัจฉราภรณ์, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 ลักษณะการจัดเรียงตัวของโครงสร้างในเซลลูโลส

(ที่มา : พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2550)

เซลลูโลสที่พบในมวลชีวภาพประกอบด้วยส่วนที่เรียงตัวเป็นระเบียบ (Crystalline) และส่วนที่เรียงตัวไม่เป็นระเบียบหรือมีรูปร่างไม่แน่นอน (Amorphous) ซึ่งในธรรมชาติจะพบแบบ Crystalline ได้มากกว่าแบบ Amorphous นอกจากนี้ยังพบว่าแบบ Amorphous ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่ายกว่าแบบ Crystalline (อัจฉราภรณ์, 2558)

2.6 เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสพบในเนื้อเยื่อของพืชโดยรวมอยู่กับสารอื่นๆ เช่น ลิกนิน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลหลายชนิด ทั้งน้ำตาลเพนโตส (น้ำตาลไซโลส แรมโนสและอะราบิโนส) และน้ำตาลเฮกโซส (น้ำตาลกลูโคส แมนโนสและกาแลคโตส) แต่ส่วนมากเป็นดี-ไซแลนที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสหลายๆ โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะเบต้า -1-4-ไกลโคซิดิก

ความแตกต่างที่สำคัญระหว่างเซลลูโลสกับเฮมิเซลลูโลสคือ เฮมิเซลลูโลสมีการแตกกิ่งก้านเป็นสายสั้นๆ จึงทำให้เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยได้ง่ายกว่าเซลลูโลส (อัจฉราภรณ์, 2558)

2.6.1 ประโยชน์ของเฮมิเซลลูโลส

1. ในรูปมอนอเมอร์ สามารถผลิตน้ำตาลโดยวิธีไฮโดรไลซิสคือ การสลายโดยใช้น้ำเป็นตัวย่อยทำให้โมเลกุลของสารและคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไป วิธีนี้เรียกว่า Wood hydrolysis

2. ในรูปพอลิเมอร์ ทำให้เยื่อและกระดาษมีความแข็งแรงมากขึ้น เนื่องจากมีโครงสร้างเป็นอสัณฐาน (อยู่รวมกันแบบหลวมๆ) น้ำจึงเข้าไปได้ง่ายเกิดการพองตัวอุ้มน้ำได้ดีมีประโยชน์ใช้ในการตีเยื่อ คือ ทำให้ผิวของเส้นใยแตกออก เกิดการประสานตัวด้วยพันธะไฮโรเจน

3. สามารถนำไปทำการผลิตสารเติมแต่งสำหรับอาหาร ทำให้อาหารข้นขึ้น ใช้ในเครื่องสำอางเป็นสารดูดน้ำและใช้เป็นกาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ลิกนิน

ลิกนินเป็นสารประกอบที่ซับซ้อน ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของสารประกอบอะโรมาติก โดยมีหน่วยฟีนิลโพรเพนเชื่อมต่อกันด้วยพันธะหลายชนิดสานต่อกันอย่างไม่เป็นระเบียบ ทำให้มีโครงสร้างที่ซับซ้อนแทรกอยู่ที่ผนังเซลล์ของพืช ลิกนินมีโครงสร้างที่แข็งแรงไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น ละลายได้ในเอทานอลหรือเมทานอลที่ร้อนและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปกติลิกนินอยู่ในโครงสร้างของเซลล์พืชบริเวณรอบๆ เซลลูโลสโดยเป็นตัวป้องกันเซลลูโลสจากการย่อยอีกด้วย (อัจฉราภรณ์, 2558)

2.7.1 ประโยชน์ของลิกนิน

1. ลิกนินที่ได้จากการต้มเยื่อกระดาษสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้

2. ลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เมื่อนำมาสังเคราะห์จะได้สารเคมีอินทรีย์ เช่น วานิลลิน (Vanillin) ไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (DMSO)

3. ลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มักใช้ในรูปของลิกนินที่ได้มาโดยตรง เช่น ลิกนินซัลโฟเนตหรือคราฟลิกนิน และใช้กันมากในอุตสาหกรรมการขุดเจาะน้ำมัน ทำสี ทำยาฆ่าแมลง ทำซีเมนต์ ทำยาง เป็นต้น

2.8 กระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment)

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส ในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบจะกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนคุณสมบัติทางด้านกายภาพคือ ทำให้ชั้น แมทริกซ์ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสถูกทำลายซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์สามารถทำงานอย่างมีประสิทธิภาพส่งผลต่อการ เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสามารถทำงานได้ง่ายขึ้น ในการศึกษาจะแสดงให้เห็นถึงกระบวนการปรับสภาพมีความสำคัญจะเป็นตัววัดความสำเร็จของเทคโนโลยีในการแปลงเซลลูโลส เนื่องจากเป็นตัวช่วยแสดงให้เห็นถึงความคุ้มค่าทางพาณิชย์ในการเปลี่ยนเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นเอทานอลได้ จุดประสงค์ของการปรับสภาพวัตถุดิบ คือ กำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความพรุนให้วัสดุซึ่งวิธีการปรับสภาพแบ่งเป็น 4 วิธีใหญ่ๆ คือ

2.8.1 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)

เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบ ลดส่วนที่เป็นโครงสร้างผลึกและทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออกเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เช่น การตัด การบด การใช้ความร้อน การระเบิดด้วยไอน้ำความดันสูง เป็นต้น (อัจฉราภรณ์, 2558)

2.8.2 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (Chemical pretreatment)

เป็นการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้สารละลายกรด สารละลายด่าง โอโซน ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารออกซิแดนท์ ในกรณีการใช้กรดพบว่า เป็นการเพิ่มความสามารถในการย่อยเฮมิเซลลูโลสเนื่องจากเฮมิเซลลูโลสย่อยได้ในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลส และยังทำให้เกิดการบวมของโครงสร้างซึ่งจะช่วยเพิ่มอัตราการย่อย เนื่องจากเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้มากขึ้น การปรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาพด้วยกรดอ่อนสามารถทำปฏิกิริยาได้โดยใช้อุณหภูมิ 120 เป็นเวลา 15 นาที ข้อดีของการปรับสภาพด้วยกรด คือ ให้ผลได้ของน้ำตาลสูง โดยพบว่ามากกว่าร้อยละ 90 เป็นน้ำตาลไซโลสและกลูโคส ใช้อุณหภูมิและความดันต่ำ นอกจากนั้นกรดที่ใช้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้หลังจากการย่อยสลายโดยการระเหยซ้ำหลายๆ ครั้ง ส่วนข้อเสียของการปรับสภาพด้วยกรด ได้แก่ ก่อให้เกิดสารพิษ เช่น เฟอฟูรอล ไฮดรอกซิลเมทิลเฟอฟูรอล กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก กรดลีวูลินิก เป็นต้น ซึ่งสารพิษเหล่านี้จะยับยั้งกระบวนการหมัก ดังนั้นก่อนนำไปหมักจะต้องนำไปกำจัดสารพิษ โดยการใช้เบสปรับพีเอช แต่การปรับพีเอชด้วยเบสมีข้อเสีย คือ ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำตาล

การปรับสภาพด้วยเบสโดยการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางจะทำให้วัตถุดิบเกิดการบวมซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิว ลดระดับการเกิดพอลิเมอร์ ลดความเป็นผนึก แยกโครงสร้างที่เชื่อมกันระหว่างลิกนินและคาร์โบไฮเดรต และเป็นการทำลายโครงสร้างของลิกนิน (อัจฉราภรณ์, 2558)

2.8.3 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์ (Physico-chemical pretreatment)

เป็นวิธีที่ใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี เช่น การระเบิดด้วยไอน้ำความดันสูง ซึ่งมีการเติมสารเคมีลงไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ เช่น การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และความร้อนในสภาวะความดันสูงของการปรับสภาพฟางข้าวในกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และความร้อนที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้ความร้อนภายใต้สภาวะความดันสูงเพียงอย่างเดียวพบว่า การย่อยสลายลดลงเมื่อความร้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการแตกตัวของน้ำตาลที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นสารประเภทเฟอฟูรอล (Furfural) สารฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde) หรือกรดฟอร์มิก (Formic acid) ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ (อัจฉราภรณ์, 2558)

2.8.4 การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ

เป็นการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสให้อยู่ในรูปโซ่ตรงและช่วยลดความเป็นผลึก เอนไซม์ที่นิยมใช้ คือ เซลลูเลส ซึ่งเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเบต้า 1-4 ไกลโคซิดิกและได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกลูโคส วัสดุเซลลูโลสตามธรรมชาติส่วนใหญ่เกิดการสลายตัวจากการย่อยของเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งพบทั่วไปในจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบมากในเชื้อรา เอนไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้น นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีความจำเพาะ (Specificity) ต่อซับสเทรตหนึ่งๆ เท่านั้นทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง การปรับสภาพทางชีวภาพมีการใช้จุลินทรีย์ เช่น Brown-rot fungi, White-rot fungi และ Soft-rot fungi ย่อยเซลลูโลสและลิกนิน White-rot fungi เป็นฟังไจในคลาส Basidiomycetes ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับกระบวนการเตรียมตัวอย่างทางชีวภาพของลิกโนเซลลูโลส ข้อดีของการปรับสภาพทางชีวภาพได้แก่ ใช้พลังงานต่ำ สภาวะไม่รุนแรง ส่วนข้อเสียคือ ใช้เวลานาน (อัจฉราภรณ์, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ข้อดีและข้อจำกัดของการปรับสภาพวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลสโดยวิธีการต่างๆ

วิธีการปรับสภาพ	ข้อดี	ข้อจำกัด
1. ทางกายภาพ	เป็นการปรับสภาพเบื้องต้นโดยการลดขนาดวัตถุดิบ เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของวัตถุดิบ	ต้องใช้ร่วมกับกระบวนการปรับสภาพอื่นๆ
2. ทางกายภาพร่วมกับเคมี		
2.1 การระเบิดด้วยไอน้ำ	ใช้พลังงานต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการบดด้วยเครื่องจักรอย่างเดียว มีความคุ้มค่าเมื่อใช้ในการปรับสภาพไม้เนื้อแข็ง และวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร	มีประสิทธิผลน้อยเมื่อใช้กับไม้เนื้ออ่อน ทำลายส่วนประกอบของไซแลน (Xylan) และก่อให้เกิดสารองค์ประกอบที่อาจไปขัดขวางการทำงานของจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการต่อไป
2.2 การระเบิดด้วยแอมโมเนีย	ช่วยเพิ่มอัตราการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล	มีประสิทธิผลน้อยเมื่อใช้ในการปรับสภาพชีวมวลที่มีองค์ประกอบที่อาจไปขัดขวางการทำงานของจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการต่อไป
3.1 การปรับสภาพด้วยโอโซน	มีประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนิน ไม่ผลิตสารตกค้างที่เป็นพิษต่อกระบวนการต่อไป และปฏิกิริยาสามารถดำเนินได้ภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันห้อง	ต้องใช้โอโซนปริมาณมากในกระบวนการปรับสภาพ ทำให้มีค่าใช้จ่ายสูง
3.2 การปรับสภาพด้วยกรด	สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสได้	มีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่าการปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี และจำเป็นต้องปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนหลังจากปรับสภาพเพื่อไม่ให้ขัดขวางการทำงานของกระบวนการในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการปรับสภาพ	ข้อดี	ข้อจำกัด
3.3 การปรับสภาพด้วยด่าง	เป็นกระบวนการที่ง่ายและไม่ต้องใช้พลังงานมาก เมื่อเทียบกับการปรับสภาพด้วยกรด และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายชีวมวล	จำเป็นต้องทำการปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนหลังจากทำการปรับสภาพ เพื่อไม่ให้ขัดขวางการทำงานของกระบวนการในขั้นต่อไป
3.4 การออกซิเดชัน	สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในขั้นต่อไปได้ และปฏิกิริยาสามารถดำเนินได้ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ และความดันห้อง	สารเคมีที่ใช้มีราคาสูง เช่น H_2O_2
4. ทางชีวภาพ	ใช้พลังงานน้อยไม่ใช้สารเคมีในกระบวนการทำให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม	อัตราการย่อยสลายที่เกิดขึ้นค่อนข้างต่ำ ทำให้ต้องใช้เวลานานในการย่อยสลายและใช้พื้นที่ในการผลิตมาก

(ที่มา : นฤวัตร, 2557)

2.9 เชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1

Thermotolerant *Bacillus coagulans* DSM1 สายพันธุ์นี้แยกครั้งแรกจากงานวิจัยของ Hammer (1915) จากนมบูด ซึ่งในปัจจุบันเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการหมักเป็นอย่างมาก ยิ่งไปกว่านั้นยังมีสามารถหมักน้ำตาลที่ได้จากสารชีวมวล และเปลี่ยนไปเป็นสารชีวเคมีรูปแบบอื่นๆ ได้ เช่น กรดแลคติก ประโยชน์หลักของการใช้จุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติกคือ กระบวนการสังเคราะห์ให้ผลผลิตที่มีความบริสุทธิ์สูงอย่างแลคติกบริสุทธิ์มากกว่าร้อยละ 99 เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ซึ่งมีจุดหลอมเหลวสูง ฉะนั้นการผลิตกรดแลคติกจึงเป็นที่น่าสนใจมากขึ้นในปัจจุบัน (Zhang และคณะ, 2017) ดังนั้นในโครงงานพิเศษจึงทดสอบความสามารถในการผลิตกรดแลคติกที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่ให้พลังงาน จากฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 เอนไซม์ที่ใช้ย่อยแหล่งคาร์บอน

เอนไซม์ Viscozyme เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ *Aspergiwus aculeatus* มีค่าพีเอชที่เหมาะสมระหว่าง 3.3 - 5.5 อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส Viscozyme L เป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด ไซลาเนส เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส ความสามารถของ Viscozyme L ในการสลายพันธะของวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และสามารถย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์ และในการสกัดวัตถุดิบที่มาจากเนื้อเยื่อพืช (ราก ลำต้น เมล็ด) ย่อยได้ดีขึ้นเมื่อทำการย่อยด้วยเอนไซม์ Viscozyme L ซึ่งโครงงานพิเศษเล่มนี้ต้องการที่จะหาเอนไซม์ในการปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งจากงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2018) ได้ใช้ Viscozyme ในการปรับสภาพเมล็ดปาล์ม เพื่อปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์ ผลที่ได้คือ มีการปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์หลายชนิดแตกต่างกันส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม Furans และ Pyrans และในงานวิจัยของ Gaxiola (2018) ได้ใช้ Viscozyme ในการปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์จากผงใบอะกาเว (Agave) ผลที่ได้คือ น้ำตาลรีดิวซ์ที่ปลดปล่อยออกมาจากผลใบอะกาเวเพิ่มขึ้นเป็น 5 เท่าเมื่อเทียบกับไม่ได้ใส่

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พัฒนา และคณะ (2552) การผลิตกรดแลคติกจากวัสดุทางการเกษตรเพื่อการแข่งขัน (ระยะที่ 2) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตกรดแลคติกจากวัสดุทางการเกษตร (น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน) ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบกะโดย *Lactococcus lactis* IO-1 และศึกษาวิธีการแยกกรดแลคติกออกจากน้ำหมัก การศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน (สารสกัดยีสต์ 0, 3, 5 และ 7 กรัมต่อลิตร) พบว่า เมื่อใช้น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานปลอดเชื้อที่มี ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 9.0 องศาบริกซ์ หรือมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 83 กรัมต่อลิตร และเติมสารสกัดยีสต์ 7 กรัมต่อลิตร *Lactococcus lactis* IO-1 สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงสุด โดยเมื่อหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่สภาวะดังกล่าวได้กรดแลคติก 55.62 กรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราผลผลิตและผลได้กรดแลคติก 1.16 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.71 ตามลำดับ และกรดแลคติกที่ผลิตขึ้นคิดเป็นร้อยละ 97.78 ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด ในขณะที่การหมักกรดแลคติกภายใต้สภาวะเดียวกัน แต่ใช้น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ฆ่าเชื้อโดยใช้สารเคมี (โพแทสเซียมเมทาไบด์ซัลไฟท์และกรดซิตริก) พบว่า *Lactococcus lactis* IO-1 ผลิตกรดแลคติกได้เพียง 30.99 กรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราผลผลิตและผลได้กรดแลคติก 0.42 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.45 ตามลำดับ และกรดแลคติกที่ผลิตขึ้นคิดเป็นร้อยละ 63.96 ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด น้ำหมักที่ได้เมื่อนำไปแยกสกัดกรดแลคติกด้วยวิธีตกตะกอนด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และวิธีโครมาโตกราฟีผ่านเรซิน Amberlite IRA-400 พบว่า สามารถเก็บเกี่ยวกรดแลคติกได้ร้อยละ 48 และ 92 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธนพร และวรรัตน์ (2554) การผลิตกรดแอล (+) (-) แลคติกจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร โดย *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในการเพาะเลี้ยงแบบอาหารเหลว ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรโดยส่วนใหญ่ จึงทำให้มีวัสดุเหลือใช้ทางเกษตรที่มีมากในแต่ละปี ซึ่งวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ได้แก่ ข้าวฟ่างหวาน เปลือกข้าวโพด ฟ่างข้าว และกากชานอ้อย นอกจากจะทำให้เป็นชีวมวลแล้ว ยังสามารถนำมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ เนื่องจากมีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้อยู่ในปริมาณสูง งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตกรดแอลแลคติกด้วยแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* TISTR 108 ผ่านการหมักด้วยอาหารเหลวที่ความเข้มข้นของสารที่ผ่านการย่อยต่างๆ กัน และหาสภาวะเหมาะสมในการผลิตกรดแอล (+) (-) แลคติกจากการย่อยตัวอย่างวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปริมาณน้ำตาลที่ตรวจพบคือ น้ำตาลไซโลส น้ำตาลกลูโคส และฟรุกโตส ตามลำดับ การผลิตกรดแอลแลคติกโดยแบคทีเรีย *L. casei* sub sp. *rhamnosus* TISTR 108 ที่สัดส่วนสารละลายจากการย่อยต่ออาหารเหลวเป็นร้อยละ 30 สามารถผลิตกรดแอลแลคติกได้สูงสุด สภาวะที่เหมาะสมคือ ระยะเวลาการหมัก 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องทำการเขย่าแบบไม่ใช้ออกซิเจนพบว่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μmax) ในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณสารละลายตัวอย่างจากการย่อยร้อยละ 30 สูงกว่าสภาวะอื่นดังนี้ ชานอ้อย ฟ่าง และข้าวฟ่างหวานมีค่าเท่ากันคือ 0.26 ต่อชั่วโมง แต่สำหรับเปลือกข้าวโพดมีค่าเท่ากับ 0.22 ต่อชั่วโมง ประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลสูงสุด (Yx/s) ได้แก่ กากชานอ้อย 0.18 กรัมต่อกรัม ฟ่างข้าว 0.15 กรัมต่อกรัม ข้าวฟ่างหวาน 0.13 กรัมต่อกรัม และเปลือกข้าวโพด 0.05 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ ปริมาณการผลิตแอล (+) (–) แลคติกคือ ข้าวฟ่างหวานเท่ากับ 1.29 กรัมต่อลิตรเปลือกข้าวโพดเท่ากับ 1.20 กรัมต่อลิตร ฟ่างข้าวเท่ากับ 1.37 กรัมต่อลิตรและกากชานอ้อยเท่ากับ 1.41 กรัมต่อลิตร

ศศิธร และคณะ (2559) ผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศภายใต้อุณหภูมิการหมักที่แตกต่างกันด้วยแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 ซึ่งเป็นงานวิจัยเชิงทดลอง โดยการศึกษาแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 ศึกษาปริมาณผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้แบบไร้อากาศ โดยใช้เศษผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ เปลือกแตงโม ซังขนุน และแกนสับปะรด ส่วนที่ 2 ศึกษาผลของอุณหภูมิการหมักที่มีต่อปริมาณผลผลิตกรดแลคติกที่เกิดขึ้นผลการทดลองพบว่า ผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเปลือกแตงโม ซังขนุน และแกนสับปะรด มีค่า 25, 56 และ 54 กิโลกรัมต่อตันของน้ำหนักซับสเตรท เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 4 วัน ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเศษผลไม้ทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากหมักเป็นระยะเวลา 2 วัน และ 4 วัน และมีความแตกต่างกันอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อหมักภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส สำหรับการหมักเปลือกแตงโม ในขณะที่ค่าเฉลี่ยผลผลิตกรดแลคติกที่ได้จากการหมักซังขนุนและแกนสับปะรด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อหมักภายใต้อุณหภูมิการหมัก 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เมื่อคำนวณค่าผลผลิตจำเพาะสูงสุดของกรดแลคติกที่ได้จากการทดลองพบว่า มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 378.5, 359.5 และ 376.5 กิโลกรัมต่อตัน VS (Volatile solid) ตามลำดับ สำหรับการหมักเปลือกแตงโม ซังขนุน และแกนสับปะรด ภายใต้อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า อุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมสำหรับการหมักกรดแลคติกแบบไร้อากาศคือ อุณหภูมิการหมัก 35 องศาเซลเซียส

สาโรจน์ และคณะ (2544) การผลิตกรดแลกติกแบบต่อเนื่องด้วยการหมักสองขั้นตอน กรดแลกติกเป็นกรดอินทรีย์ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพอลิแลกเทตซึ่งเป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้ เนื่องจากระบบการผลิตกรดแลกติกมีต้นทุนสูง จึงจำเป็นต้องพัฒนากระบวนการหมักกรดแลกติกที่ให้อัตราการผลิตสูง เพื่อลดต้นทุนการผลติกรดแลกติก ในการศึกษานี้ได้พัฒนากระบวนการผลติกรดแลกติกแบบต่อเนื่องโดยใช้เชื้อ *L. lactis* IO-1 จากน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม เนื่องจากการผลิตกรดแลกติกแบบต่อเนื่องขั้นตอนเดียวให้อัตราการผลิตกรดแลกติกเท่ากับ 4.71 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีปริมาณกลูโคสเหลือ 2.94 กรัมต่อลิตรที่อัตราการเจือจาง 0.81 ต่อชั่วโมง เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตกรดแลกติกโดยใช้ปริมาณกลูโคสที่เหลือจากถังหมักแรก จึงปรับปรุงกระบวนการผลิตเป็นการหมักแบบต่อเนื่องสองขั้นตอน ทำให้ได้อัตราการผลิตกรดแลกติกเพิ่มขึ้นรวมเป็น 5.69 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่อัตราการเจือจาง 0.83 และ 0.62 ต่อชั่วโมง ในถังหมักที่หนึ่งและสองตามลำดับ ซึ่งเป็นอัตราการ ผลิตกรดแลกติกที่สูงกว่าการผลิตแบบเบ็ดเสร็จ (QP เท่ากับ 1.82 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) 3.3 เท่า

รัชพล (2558) กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส การผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักเป็นอีกหนึ่งแหล่งวัตถุดิบที่กำลังเป็นที่น่าสนใจ นอกเหนือไปจากวัสดุประเภทแป้งหรือน้ำตาล อย่างไรก็ตามโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสนั้นมีลิกนินซึ่งเปรียบเสมือนผนังป้องกันไม่ให้ เอนไซม์เข้าไปย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส กระบวนการปรับสภาพจึงมีความจำเป็นเพื่อกำจัดลิกนิน และปรับโครงสร้างของเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิส การปรับสภาพแต่ละวิธีจะมีผลกับเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินที่แตกต่างกัน ดังนั้นวิธีการปรับสภาพและสภาวะที่ใช้ควรจะเลือกให้เหมาะสมกับการไฮโดรไลซิส และขั้นตอนการหมักที่จะใช้ในบทความนี้นำเสนอกระบวนการที่ใช้ในการปรับสภาพเพื่อนำไปสู่การผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส และคุณสมบัติที่สำคัญหลายอย่างที่สามารถนำไปใช้ในการลดต้นทุนในการผลิต และกระบวนการปรับสภาพให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

1) จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
2) หลอดทดลอง (Test tube)
3) ฟลาสก์ (Erlenmayer flask) ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร
4) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1000 มิลลิลิตร
5) ปิเปต (Pipette) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
6) บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 10, 50, 100, 1000 มิลลิลิตร
7) ขวดดูแรน (Duran) ขนาด 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
8) ขวดสีชา 1000 มิลลิลิตร
9) หลอดไมโครเซ็นติฟิว (Microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
10) ช้อนตักสาร
11) ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
12) ตะเกียงแอลกอฮอล์
13) น้ำกลั่น
14) ลูกยางดูดปิเปตต์ (Rubber bulb)
15) ที่ใส่ไมโครทิวป์พลาสติก (Microtube Rack)
16) กระบอกฉีดแอลกอฮอล์ (Foggy-spray)
17) ตะแกรงร่อน (Sieve)
18) กระบอกตวง

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1) อาหารสูตร GYC (ภาคผนวก ก)

3.3 สารเคมี

1) วุ้น (Agar)
2) แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate ; $CaCO_3$)
3) สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)
4) น้ำตาลกลูโคส (Glucose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium Chloride ; NH_4Cl)

6) แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate ; $(NH_4)_2SO_3$)

7) แอมโมเนียมไนเตรต (Ammonium nitrate ; NH_4NO_3)

8) แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Ammonium dihydrogen phosphate ; $(NH_4)_2HPO_3$)

9) แมกนีเซียมไนเตรท (Magnesium Nitrate ; $Mg(NO_3)_2$)

10) โพแทสเซียมไนเตรต (Potassium Nitrate ; KNO_3)

11) เพปโทน (Pepone)

12) สารสกัดเนื้อ (Beef extract)

13) ทริปโตน (Tryptone)

14) Skim milk

15) สารละลายไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด (3,5-Dinitrosalicylic acid ; DNS)

16) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

17) น้ำกลั่น (Distilled water)

18) โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (Sodium Potassium Tartrate ; $KNaC_4H_4O_6$)

19) กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

20) กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid ; H_2SO_4)

3.4 การเตรียมวัตถุดิบ

3.4.1 ฟางข้าวและซานอ้อย

นำตัวอย่างฟางข้าวและซานอ้อยไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการบดและร่อนให้ฟางข้าวและซานอ้อยด้วยตะแกรงร่อนที่มีขนาดช่องลอดผ่านเท่ากับ 300 ไมโครเมตร แล้วเก็บใส่ถุงซิปล็อคแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง (นฤวัตร, 2557)

3.4.2 กากกาแฟ

สำหรับกากกาแฟเป็นการผสมกันระหว่างกาแฟพันธุ์อาราบีก้าและโรบัสต้า จากนั้นนำตัวอย่างกากกาแฟไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการร่อนกากกาแฟด้วยตะแกรงร่อนที่มีขนาดช่องลอดผ่านเท่ากับ 500 ไมโครเมตร เก็บใส่ถุงซิปล็อคแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (นฤวัตร, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 ขั้นตอนการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

3.5.1 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยน้ำกลั่น

นำฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบจากข้อ 3.4 มาชั่งแต่ละตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และปรับค่าพีเอชของแต่ละฟลาสก์ให้เท่ากับ 7 จากนั้นนำไปย่อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) เก็บตัวอย่างสารละลายที่เกิดขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) ตามวิธีในข้อ 3.6.2 (ธนพร และวรรัตน์, 2554)

3.5.2 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)

นำฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบจากข้อ 3.4 มาชั่งแต่ละตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตรตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำไปย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 0.8 และ 1 โมลาร์ ตามลำดับในปริมาตร 50 มิลลิลิตร เนื่องจากการปรับสภาพด้วยกรดอ่อนสามารถทำปฏิกิริยาได้โดยใช้อุณหภูมิ 120 – 200 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 103 kPa (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ถึง 517 kPa (75 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 30 นาทีถึง 2 ชั่วโมง (Badger, 2002 ; Kim และคณะ, 2002) เวลาที่ใช้ในการย่อย 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) เก็บตัวอย่างสารละลายที่เกิดขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีในข้อ 3.6.2 (ธนพร และวรรัตน์, 2554)

3.5.3 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรคือ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

นำฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบมาชั่งแต่ละตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำไปย่อยด้วยสารละลายด่าง โดยใช้สารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 0.8 และ 1 โมลาร์ ตามลำดับ ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร เวลาที่ใช้ในการย่อย 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) เก็บตัวอย่างสารละลายที่เกิดขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีในข้อ 3.6.2 (ธนพร และวรรัตน์, 2554)

3.5.4 การย่อยวัสดุเหลือใช้ทางเกษตรด้วยเอนไซม์ (Viscozyme)

นำฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบมาชั่งแต่ละตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วปรับพีเอช 5.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอลหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล เติมเอนไซม์ Viscozyme ความเข้มข้น 100 เอฟบีจีต่อกรัม (FBG/g) ปริมาตร 5 ไมโครลิตรต่อฟลาสก์ แล้วนำไปบ่มเขย่าที่ 120 รอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อนาที อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างสารละลายที่เกิดขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีในข้อ 3.6.2 (ธนพร และวรรัตน์, 2554)

3.6 การวิเคราะห์หาแหล่งคาร์บอนที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด

3.6.1 นำวัสดุเหลือใช้ทางเกษตรมาย่อยประกอบด้วย ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ

นำฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบมาชั่ง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยชั่งฟางข้าว 5 กรัม เติมกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ชั่งชานอ้อย 5 กรัม เติมน้ำกลั่น ชั่งกากกาแฟ 5 กรัม เติมสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ นำแต่ละตัวอย่างไปย่อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรองส่วนใส (กระดาษกรอง No.1) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีในข้อ 3.6.2 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธี 3,5 - dinitrosalicylic acid method (DNS method)

นำตัวอย่างสารละลายจากข้อ 3.5 มาปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมกับสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากันแล้ว นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีและเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (Miller, 1959)

3.7 ศึกษาการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYC

3.7.1 แยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* DSM1 ให้เป็นโคโลนีเดี่ยว

แยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* DSM1 ให้เป็นโคโลนีเดี่ยวโดยการขีดเชื้อบนอาหารแข็ง GYC (ภาคผนวก ก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวมาขีดเชื้อบนอาหารแข็งซ้ำ เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวนั้นทำการตรวจดู โดยการย้อมแกรมดูการติดสีและรูปร่างการเรียงตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope)

3.7.2 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย (Inoculum)

เลือกโคโลนีเดี่ยวจากข้อ 3.7.1 มา 1 โคโลนี ใช้ไม้จิ้มฟันปลอดเชื้อแตะที่โคโลนีเดี่ยวแล้วถ่ายลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว GYC 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำเชื้อจากหลอดถ่ายลงในฟลาสก์ที่มีอาหารเหลว GYC 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600})

3.7.3 การวัดการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1

นำหัวเชื้อที่ได้จากข้อ 3.7.2 มาลงในอาหาร GYC บ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นดูดส่วนใส 2 มิลลิลิตรไปเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) ทุกๆ 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.8 การหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

คัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 โดยแหล่งไนโตรเจนที่นำมาทดสอบ 11 ชนิด ได้แก่ สารสกัดยีสต์, แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl), แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_3$), แอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3), แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_3$), แมกนีเซียมไนเตรต ($Mg(NO_3)_2$), โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3), เพปโทน (Peptone), สารสกัดเนื้อ (Beef extract), ทริปโตน (Tryptone) และ Skim milk โดยผสมแหล่งไนโตรเจนแต่ละชนิดลงไปทดแทนสารสกัดยีสต์ในอาหารสูตร GYC นำหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 3.7.2 ลงในอาหารแต่ละชนิดให้ความเข้มข้นเริ่มต้นโดยมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1 ต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร โดยทดสอบอาหารแต่ละชนิด ชนิดละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดการค่าการเจริญเติบโตของเชื้อด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร บันทึกผล

3.9 การหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

ศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตในอาหารที่มีผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากกาแฟ ชานอ้อยและฟางข้าวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยนำฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ ชั่ง 5 กรัมต่อสารละลายปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยวิธีการย่อยด้วยน้ำกลั่น สารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) สารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์ (Viscozyme) ตามวิธีในข้อ 3.5 จากนั้นเก็บตัวอย่างที่เกิดขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีในข้อ 3.6.2 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.10 การทดสอบผลผลิตกรดแลคติกโดยใช้แหล่งคาร์บอนจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

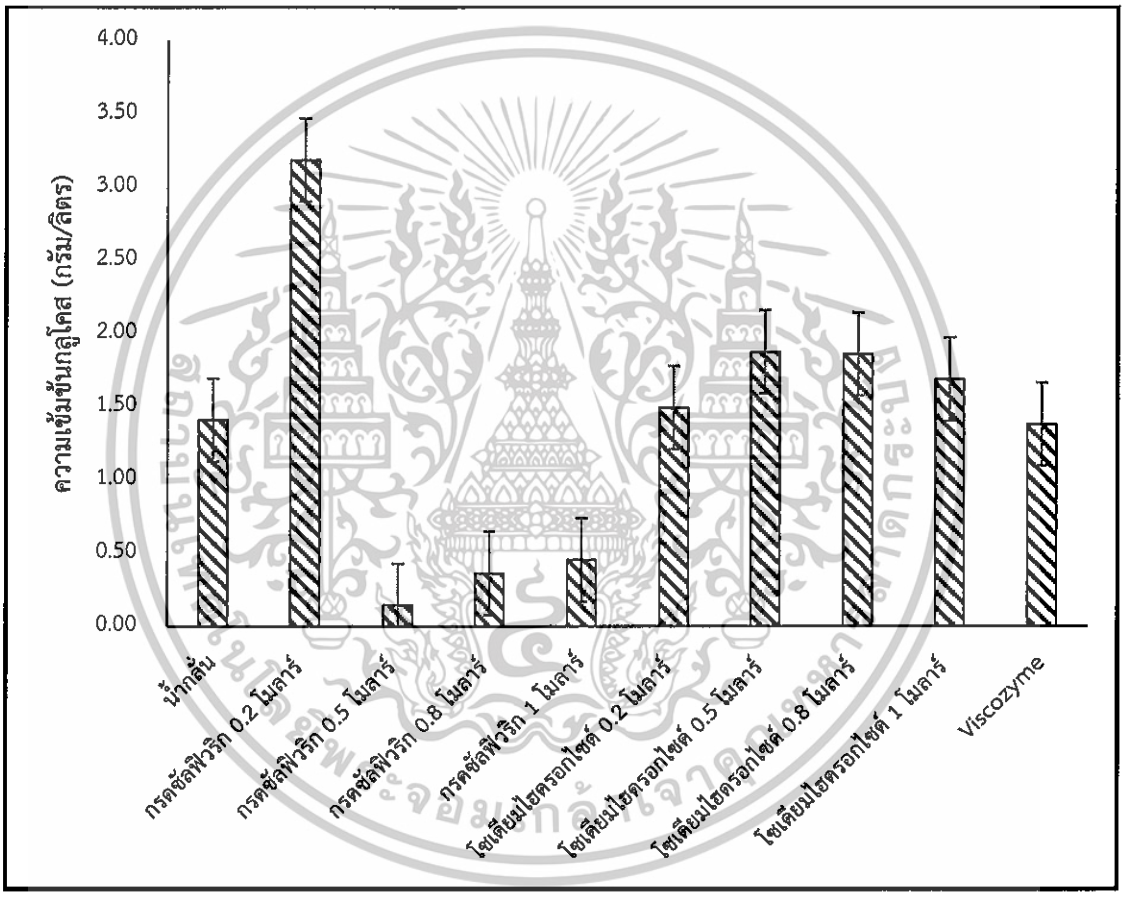
เตรียมอาหารทดสอบแบ่งเป็นสองชุดคือ อาหารชุดควบคุมชั่งแคลเซียมคาร์บอเนต 0.75 กรัม ทริปโตน 0.25 กรัม และน้ำตาลกลูโคส 0.075 กรัม สำหรับอาหารชุดทดสอบใช้ไฮโดรไลเซทที่ได้จากฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร เติมทริปโตน 0.25 กรัม แล้วปรับพีเอช 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอลหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล เติมแคลเซียมคาร์บอเนต 0.75 กรัม ไปย่อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นนำหัวเชื้อตามวิธีในข้อ 3.7.2 ลงในอาหารทั้งสองชุด บ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0, 24 และ 48 นำไปไทเทรตหาค่าความเข้มข้นกรดแลคติก ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการย่อยที่เหมาะสมกับแหล่งคาร์บอน ฟางข้าว, ชานอ้อย และกากกาแฟ

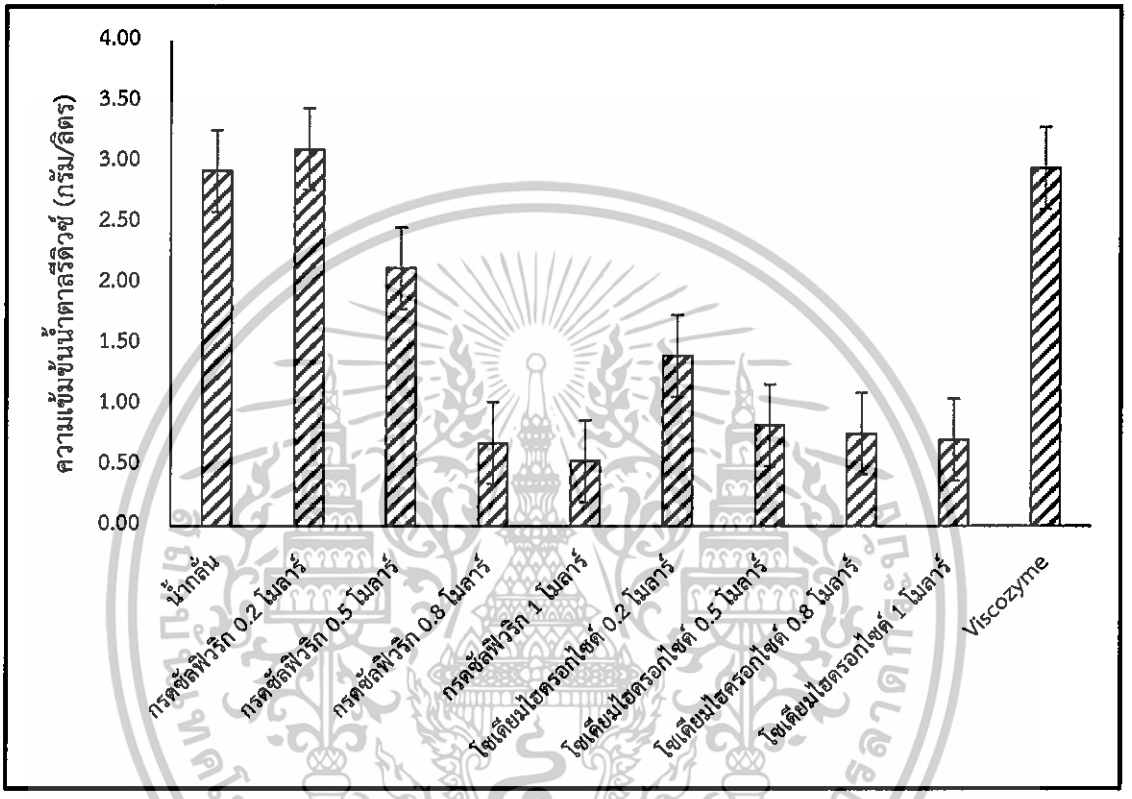
เพื่อหาวิธีการย่อยที่เหมาะสมกับแหล่งคาร์บอนที่จะนำมาใช้แทนแหล่งกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วยฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ ถูกนำมาย่อยด้วยน้ำกลั่น กรดซัลฟิวริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ และเอนไซม์ ได้ผลการย่อยที่ดีที่สุดดังแสดงในรูปที่ 4.1-4.3



รูปที่ 4.1 กราฟเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยฟางข้าวด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น กรดซัลฟิวริกและสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 0.8 และ 1 โมลาร์ และย่อยด้วยเอนไซม์ (Viscozyme) ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร ย่อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟเปรียบเทียบความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยฟางข้าวด้วยวิธีต่างๆ พบว่า วิธีย่อยฟางข้าวที่มีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยฟางข้าวด้วย กรดซัลฟิวริก 0.2 โมลาร์ ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด เท่ากับ 3.19 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ จึงเลือกใช้ กรดซัลฟิวริก 0.2 โมลาร์ เป็นวิธีย่อยฟางข้าวที่ดีที่สุดเพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

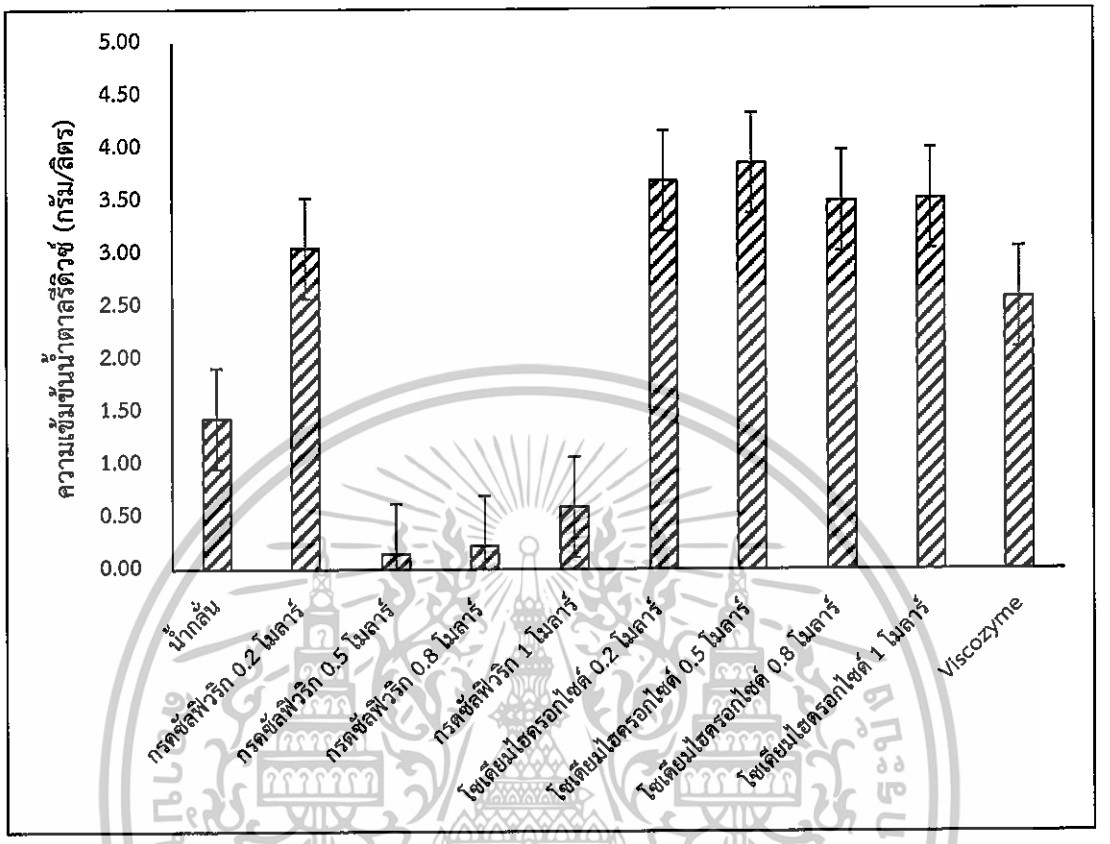


รูปที่ 4.2 กราฟเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น กรดซัลฟิวริกและสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 0.8 และ 1 โมลาร์ และย่อยด้วยเอนไซม์ (Viscozyme) ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร ย่อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากกราฟเปรียบเทียบความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยวิธีต่างๆ พบว่าวิธีย่อยชานอ้อยที่มีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยชานอ้อยด้วย กรดซัลฟิวริก 0.2 โมลาร์ ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด เท่ากับ 3.11 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ นอกจากนี้ผลการทดลองครั้งนี้เมื่อเทียบค่าความคลาดเคลื่อน เท่ากับ ±0.02 ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันกับวิธีย่อยชานอ้อย ด้วยน้ำกลั่น ซึ่งให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด เท่ากับ 2.93 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมด 3 ซ้ำ จึงเลือกใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีย่อยชานอ้อยที่ดีที่สุดเพื่อเป็นการประหยัดทรัพยากรและเพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

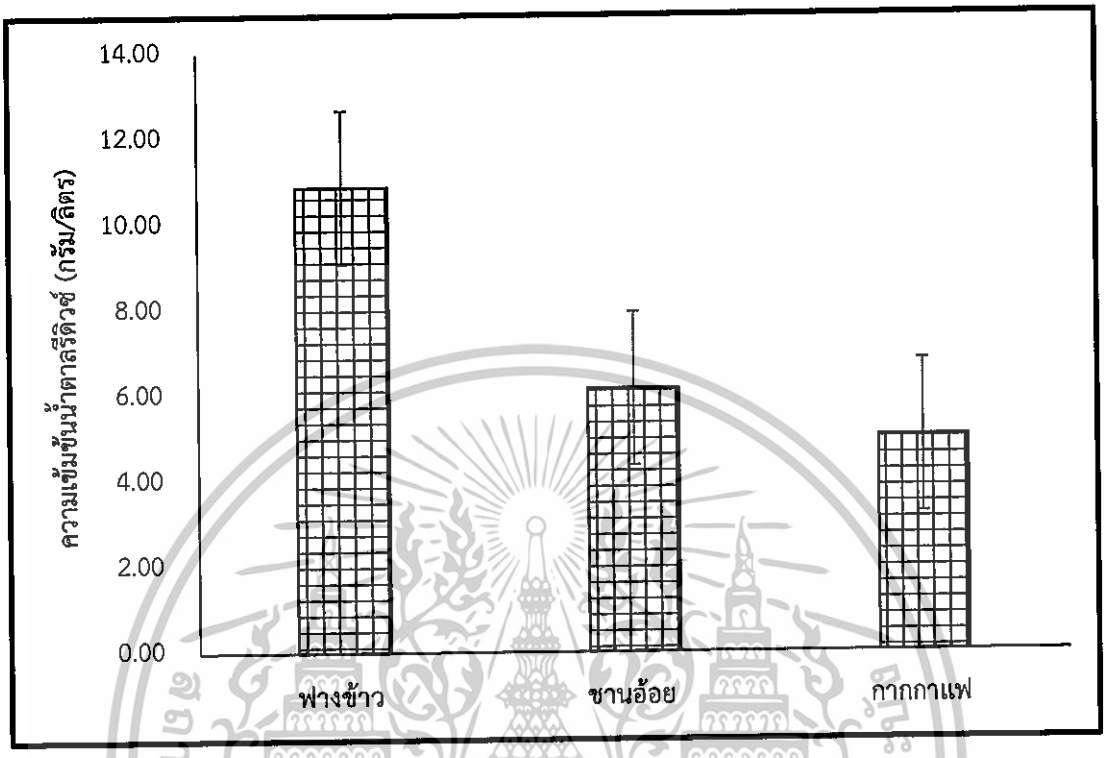


รูปที่ 4.3 กราฟเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยกากกาแฟด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น กรดซัลฟิวริกและสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 0.8 และ 1 โมลาร์ และย่อยด้วยเอนไซม์ (Viscozyme) ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร ย่อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากกราฟการเปรียบเทียบความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยกากกาแฟด้วยวิธีต่างๆ พบว่า วิธีย่อยกากกาแฟที่มีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยกากกาแฟด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด เท่ากับ 3.86 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ นอกจากนี้ผลการทดลองครั้งนี้เมื่อเทียบค่าความคลาดเคลื่อนเท่ากับ ±0.13 ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับวิธีย่อยกากกาแฟด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ ซึ่งให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด เท่ากับ 3.69 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ ดังนั้นจึงเลือกใช้โซเดียม ไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ เป็นวิธีย่อยกากกาแฟที่ดีที่สุดเพื่อเป็นการประหยัดทรัพยากรและเพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดจากไฮโดรไลเซทของฟางข้าว, ชานอ้อย และกากกาแฟ



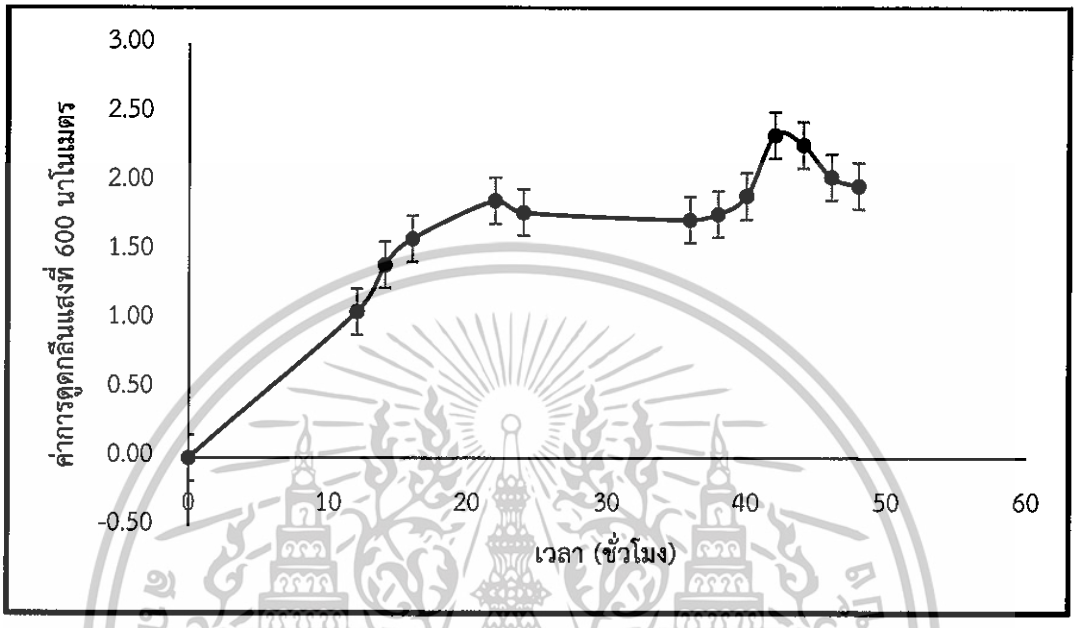
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่มากที่สุด เมื่อย่อยของเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยวิธีต่างๆ โดยนำฟางข้าวย่อยด้วย กรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ชานอ้อยย่อยด้วยน้ำกลั่น และกากกาแฟย่อยด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร ย่อยที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่มากที่สุดจากการย่อยฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ โดยฟางข้าวย่อย กรดซัลฟิวริก 0.2 โมลาร์ ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 10.88 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ ชานอ้อยย่อยด้วยน้ำกลั่น ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 6.17 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ กากกาแฟย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 5.03 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าฟางข้าวมีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดเท่ากับ 10.88 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเพื่อหาช่วงการเจริญเติบโตที่ดีและเหมาะสมที่สุดของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน GYC โดยพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยวัดชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 48 ได้ผลการเจริญเติบโตดังแสดงในรูปที่ 4.5



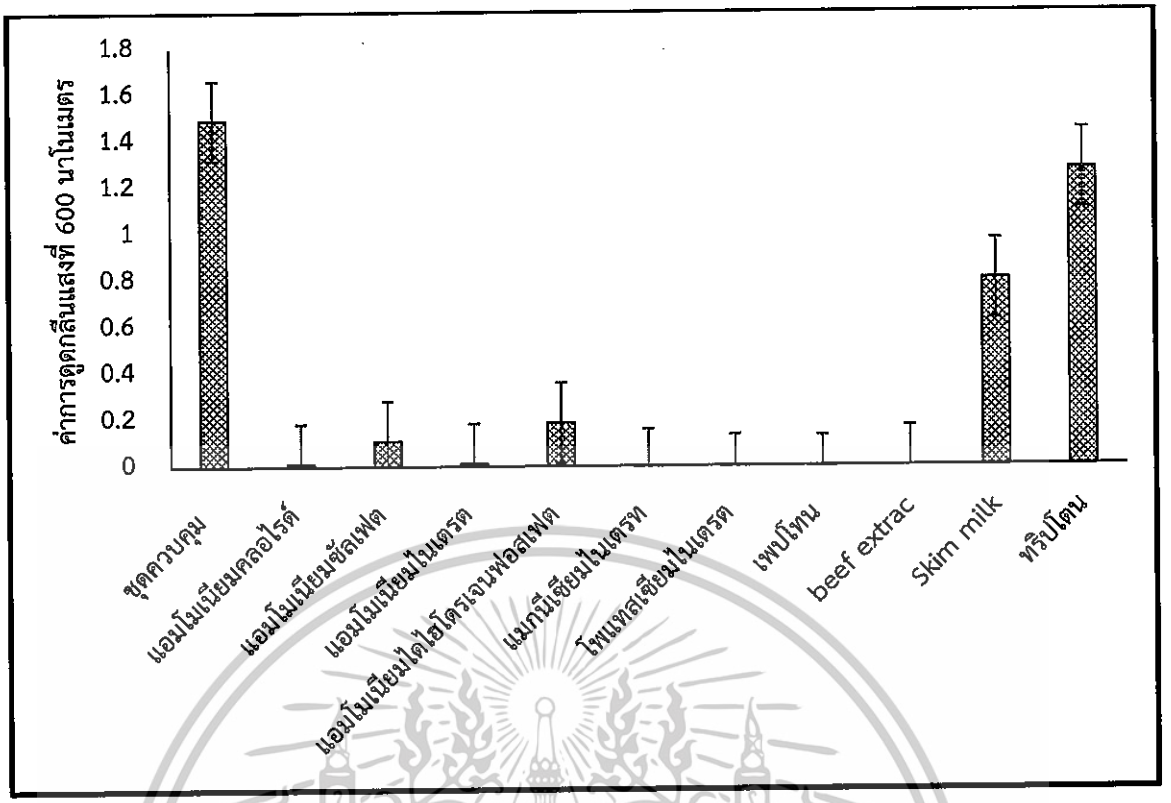
รูปที่ 4.5 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหาร GYC โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากกราฟการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 พบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตที่อยู่ในช่วง Late log phase คือชั่วโมงที่ 24 โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ จึงเลือกใช้ชั่วโมงที่ 24 เป็นชั่วโมงที่เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

4.4 ผลการวิเคราะห์แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1

การวิเคราะห์หาแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยการวิเคราะห์จากแหล่งไนโตรเจน 11 ชนิด ได้แก่ สารสกัดยีสต์ (ชุดควบคุม), แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl), แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)\ 2SO_3$), แอมโมเนียมไนเตรต ($NH_4\ NO_3$), แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_3$), แมกนีเซียมไนเตรต ($Mg(NO_3)_2$), โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3), เพปโทน (Peptone), สารสกัดเนื้อ (Beef extract), ทริปโตน (Tryptone) และ Skim milk ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารที่ใช้แหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากกราฟการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับชุดควบคุมมากที่สุดคือ ทริปโตน โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ จึงเลือกใช้ ทริปโตน เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด เพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

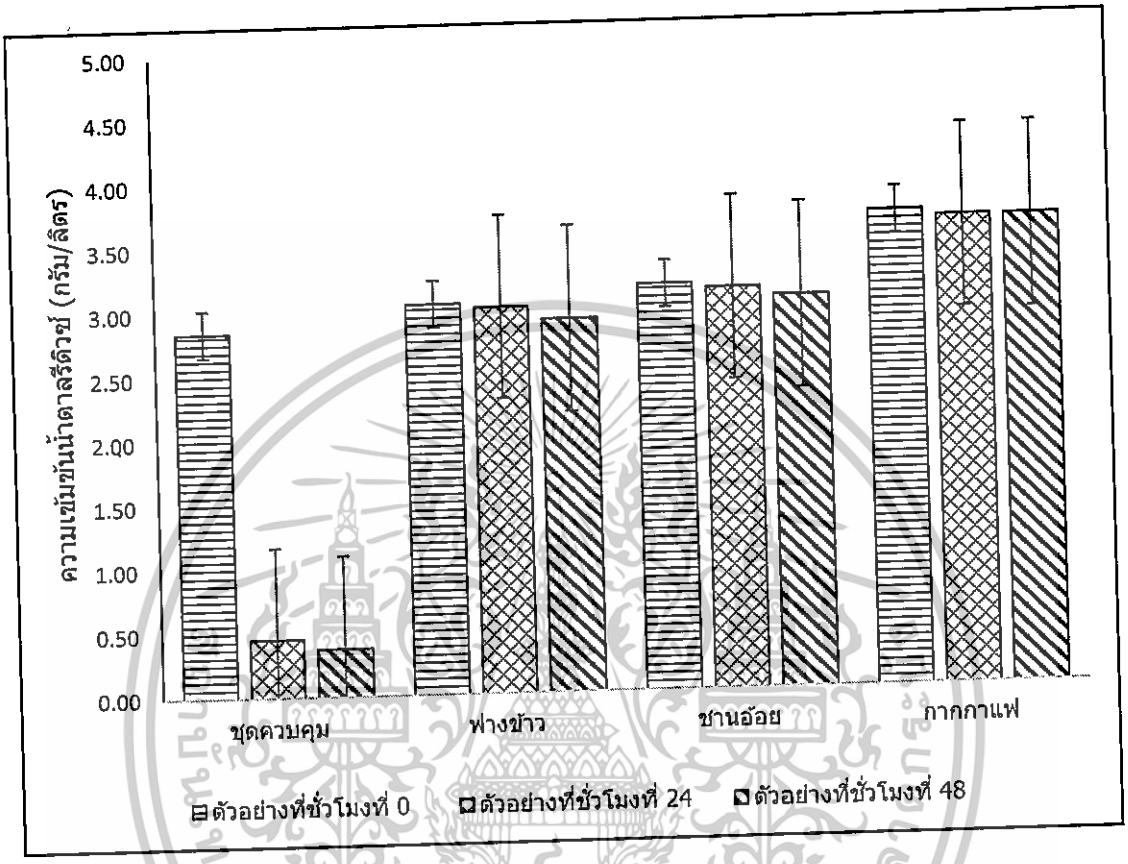
4.5 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ในอาหารที่ใช้ไฮโดรไลเซทจากฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ เป็นแหล่งคาร์บอน

4.5.1 ผลความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการเลี้ยงเชื้อเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ชั่วโมงที่ 0 – 48

เมื่อนำฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ ชั่ง 5 กรัมต่อสารละลายปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยฟางข้าวย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 0.2 โมลาร์ ชานอ้อยย่อยด้วยน้ำกลั่น และกากกาแฟย่อยด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.2 โมลาร์ จากนั้นเก็บตัวอย่างที่เกิดขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และคำนวณความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นของทุกแหล่งคาร์บอนให้

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร และนำไปเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0, 24 และ 48 ชั่วโมงมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และกรดแลคติก ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.7 และ 4.8

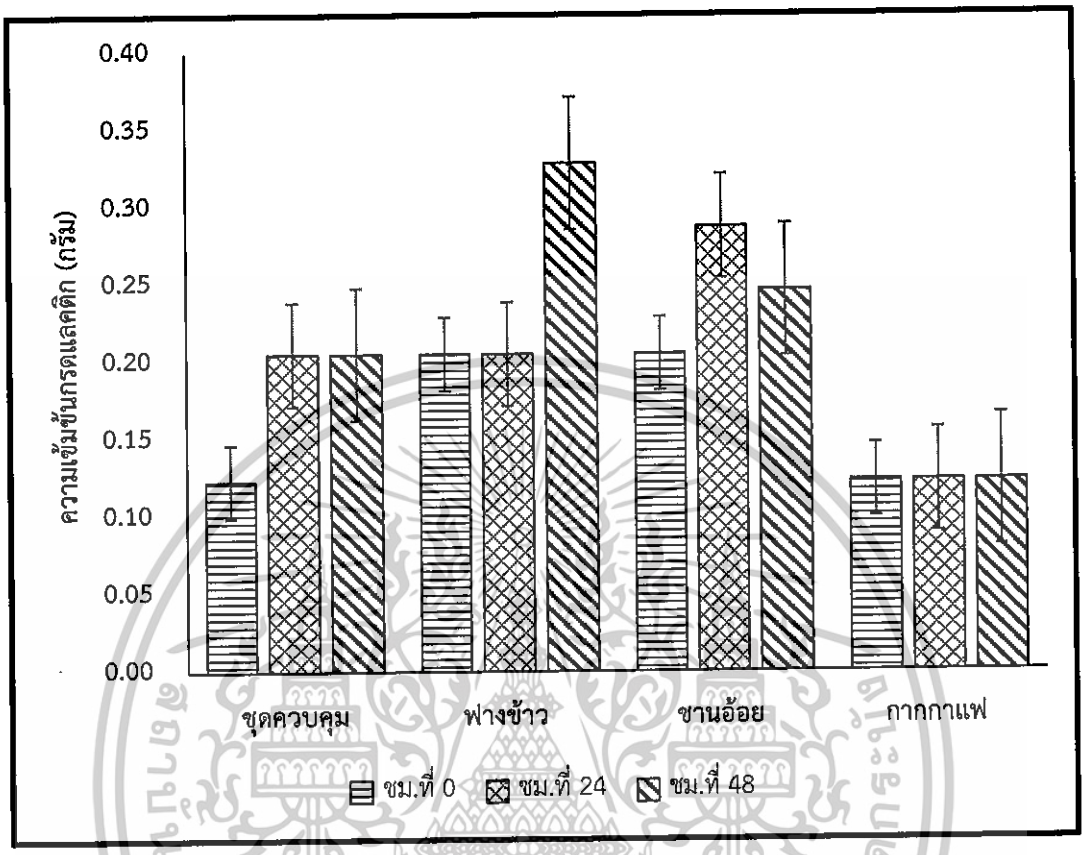


รูปที่ 4.7 กราฟแสดงค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 0, 24 และ 48 เมื่อใช้ไฮโดรไลเซทจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน โดยชุดควบคุมใช้อาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 3 กรัมต่อลิตร ไฮโดรไลเซทจากการย่อยฟางข้าว ชานอ้อย กากกาแฟปริมาตร 25 มิลลิลิตร คิดเป็น 3 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ มาเติมแคลเซียมคาร์บอเนตและทริปโตน นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จากการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ในชั่วโมงที่ 0 24 และ 48 พบว่าค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ของไฮโดรไลเซทจากฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟที่ชั่วโมง 48 ลดลงจากชั่วโมงที่ 0 เพียงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 ความเข้มข้นกรดแลคติกจากการเลี้ยงเชื้อเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ชั่วโมงที่ 0 - 48



รูปที่ 4.8 กราฟเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นกรดแลคติก ชั่วโมง 0, 24 และ 48 เมื่อใช้ไฮโดรไลเซทจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน โดยชุดควบคุมใช้อาหารมีน้ำตาลกลูโคส 3 กรัมต่อลิตร ไฮโดรไลเซทจากการย่อยฟางข้าว ชานอ้อย กากกาแฟปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตและทริปโตน นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

จากกราฟการเปรียบเทียบความเข้มข้นกรดแลคติกจากการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ในชั่วโมงที่ 0 24 และ 48 พบว่าแหล่งพลังงานที่ให้ค่าความเข้มข้นกรดแลคติกมากที่สุดคือไฮโดรไลเซทจากการย่อยฟางข้าว มีค่าเท่ากับ 0.12 กรัม คิดเป็นผลพลอยได้ เท่ากับ 0.923 กรัมแลคติกต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.5.3 ผลได้ปริมาณกรดแลคติก

ปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.09 กรัม คิดเป็นผลพลอยได้เท่ากับ 0.036 กรัมกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาลกลูโคส เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ใช้น้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีดิวซ์ที่ได้จากกไฮโดรไลเซทฟางข้าว กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.12 กรัม คิดเป็นผลพลอยได้เท่ากับ 0.923 กรัมกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเซทชานอ้อย กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.04 กรัม คิดเป็นผลพลอยได้เท่ากับ 0.4 กรัมกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเซทกากกาแฟ กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0 กรัม โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดสอบหาวิธีการย่อยที่เหมาะสมกับแหล่งคาร์บอนแต่ละชนิดประกอบไปด้วย ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ ผลปรากฏว่า วิธีย่อยฟางข้าวที่ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด คือ การย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก 0.2 โมลาร์ วิธีย่อยชานอ้อยให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยด้วยน้ำกลั่น และวิธีย่อยกากกาแฟที่ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ การย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ เป็นวิธีย่อยกากกาแฟที่ดีที่สุดเพื่อเป็นการประหยัดทรัพยากร

จากนั้นนำแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด ประกอบด้วย ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ มาทดสอบเปรียบเทียบหาค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดหลังจากการย่อย พบว่าเมื่อย่อยฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริก 0.2 โมลาร์ ฟางข้าวมีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด

จากผลการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 มีการเจริญเติบโตที่อยู่ในช่วง late log phase ในชั่วโมงที่ 24 เป็นชั่วโมงที่เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ซึ่งเมื่อนำเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 11 ชนิด เพื่อทดสอบหาแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อมีการเจริญเติบโตมากที่สุดคือ ทริปโตน โดยมีการเจริญแตกต่างกับชุดควบคุม จึงเลือกใช้ทริปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนในการทดลองถัดไป

การทดสอบการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 จากการนำเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ไฮโดรไลเซทจากฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้ทริปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ของไฮโดรไลเซทฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟที่ชั่วโมง 48 ลดลงจากชั่วโมงที่ 0 เพียงเล็กน้อย แหล่งคาร์บอนที่ให้ค่าความเข้มข้นกรดแลคติกมากที่สุดคือ ไฮโดรไลเซทจากฟางข้าว ที่การบ่ม 48 ชั่วโมง โดยได้ความเข้มข้นกรดแลคติกสูงที่สุดเท่ากับ 0.12 กรัม คิดเป็นผลพลอยได้เท่ากับ 0.923 กรัมกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และพบว่า กากกาแฟไม่สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงเชื้อได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1) หลังจากทำการทดสอบแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus coagulans* DSM1 ควรทำการหาปริมาตรของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อสูงสุด และวัดปริมาณความเข้มข้นกรดแลคติกที่ผลิตได้
2) นำแหล่งคาร์บอน ประกอบด้วย ฟางข้าว ชานอ้อย และกากกาแฟ มาย่อยเพื่อวัดค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์แล้วควรหาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมกับเชื้อ เพื่อการเจริญของเชื้อที่ดีที่สุดและเพื่อให้ผลิตกรดแลคติกได้สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ยอดอินทร์. 2556. **การผลิตกรดแลคติกจากแป้งด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติก.** วารสารอาหาร. 43(4) : 40-46.

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2552. **ศักยภาพชีวมวลในประเทศไทย.** [Online]. Available : http://www.dede.go.th/ewt_w3c/ewt_news.php?nid=486

กลุ่มวิชาการเกษตรและสารสนเทศ สำนักนโยบายอ้อยและน้ำตาลทราย สำนักงานอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทราย. 2557. **รายงานพื้นที่ปลูกอ้อย ปีการผลิต 2557/2558/2559**. [Online]. Available : http://www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/923-9810.pdf.

เกษม สุขสถาน. 2523. อ้อย. **สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ.** เล่มที่ 5 : 65-106.

จารุพัชร์ พิชัยอุตกฤษฎ์ และคณะ. 2556. **กาแฟ Cafe.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ช่อทิพยวรรณ พันธุ์แก้ว. 2537. **ยอดอาหารเสริม : เพิ่มพลังต้านทานโรค บำรุงสุขภาพ ทำให้พลานามัยสมบูรณ์**. กรุงเทพ : ต้นธรรม.

ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2553. **การศึกษาแบคทีเรียโปรไบโอติกแลกติก ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ เบต้ากลูโคซิเดส.** เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เทวรัตน์ ตรีอำนรรค และคณะ. 2558. **การใช้ประโยชน์จากฟางข้าว: กรณีบรรจุภัณฑ์สำหรับผลผลิตทางการเกษตร.** นครราชศรีมา : สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ธนพร วิชัย และวรรัตน์ ปัตรประกร. 2554. **การผลิตกรดแอล (+) (–) แลคติกจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรโดย *Lactobacillus casei sub* sp. *rhamnosus* ในการเพาะเลี้ยงแบบอาหารเหลว.** ในการประชุมวิชาการนานาชาติวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 21. กรุงเทพฯ.

ธัญญารัตน์ คงขุนเทียน. 2557. **วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมสำหรับผลิตสิ่งทอ โครงการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้วัตถุดิบภาคการเกษตรด้วยการพัฒนาเส้นใยธรรมชาติสู่อุตสาหกรรม.** กรุงเทพฯ : สถาบันพัฒนาอุตสาหกรรมสิ่งทอ.

นฤวัตร บูรศิริรักษ์. 2557. **การปรับสภาพชานอ้อยก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* DSM 792.** กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นิตยา รื่นสุข, ประนอม มงคลบรรจงม, เฉลิมชาติ ฤาชัยคราม และวาสนา อินแถลง. 2551.**การจัดการ ฟางข้าวในพื้นที่ทำนาอย่างต่อเนื่อง.** วารสารวิชาการข้าว. 2(1) : 36-46.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

ประชาชาติธุรกิจ. 2559. **5 พืชเศรษฐกิจปี 2559 ปัจจัยลบรุมเร้า ห่วงเศรษฐกิจภูธรซึมยาว.** [Online]. Available : http://www.prachachat.net/news_detail.php?newsid.

พรพรรณ แสนภูมิ, มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี และสุภาวดี ฉิมทอง. 2553. **การปรับปรุงกากกาแฟด้วยเอนไซม์เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติกส์ในอาหารสัตว์.** กรุงเทพฯ : คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร ภาควิชาสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร.

พัฒนา เหล่าไพบูลย์, ลักขณา เหล่าไพบูลย์ และสุกานดา วิชิตพันธุ์. 2552. **การผลิตกรดแลคติกจากวัสดุทางการเกษตรเพื่อการแข่งขัน (ระยะที่ 2).** ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. **Cellulose / เซลูโลส.** [Online]. Available : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose.

รพีพรรณ กองตูม. 2560. **กากกาแฟ : มูลค่าเพิ่มและการใช้ประโยชน์.** รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5. ราชบุรี : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง.

รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2558. **ศักยภาพและการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ.** วารสารวิชาการปทุม. 5(14) : 67-78.

วาสนา ศิริแสน. 2560. **อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ เอนไซม์ และระยะเวลาในการหมักที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง.** มหาสารคาม : สาขาเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ศศิธร และคณะ. 2559. **ผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้.** วารสาร มฉก.วิชาการ. 20(39).

สมพร อิศวิลานนท์. 2559. **ทำกินถิ่นอาเซียน : ไทยผู้นำผลิต-ส่งออกน้ำตาลของอาเซียน.** [Online]. Available : http://www.komchadluek.net/detail/20160212/222238.html.

สมาคมโรงไฟฟ้าชีวมวล. 2556. วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร พลังงานในมือคุณ. [Online]. Available : http://oknation.nationtv.tv/blog/bppathailand/2013/12/06/entry-1.

สยามเคมี. 2561. **กรดแลคติก (Lactic acid).** [Online]. Available : http://www.siamchemi.com.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, เพ็ญจันทร์ เมฆวิจิตรแสง และคณะ. 2544. **การผลิตกรดแลกติกแบบต่อเนื่องด้วยการหมักสองขั้นตอน.** ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

เสมอใจ บุรีนอก. 2544. **การใช้แบคทีเรียกรดแลคติคในน้ำพืชหมักเป็นสารเสริมชนิดใหม่ในพืชหมักเขตร้อน.** ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อังคณา สุวรรณกูฏ. 2554. **อ้อย-หวาน-ไม่หวาน.** ISSN 1513-0010. จดหมายข่าวผลิใบก้าวใหม่การวิจัยและพัฒนาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 13(12).

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข. 2558. **การปรับสภาพผักตบชวาและการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอล.** กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Benninga, H. 1990. A History of Lactic Acid Making. 43-109, 157-170, 398-457, 155-159.

Chiparus, O.L. 2004. "Bagasse Fiber for Production of Nonwoven Materials." Ph.D. Thesis, Louisiana State University.

Gaxiola, A. 2018. "Treatments to improve obtention of reducing sugars from agave leaves powder." Industrial Crops and Products. 2018 (112) : 577-583.

Guo, Y. Xu, J. Zhang, Y. Yu, Q. Yaun, Z. and Liu, Y. 2013. "Effects of different pretreatment methods on chemical composition of sugarcane bagasse and enzymatic hydrolysis." Bioresource Technology. 2013(144) : 396-400.

Hammer, B.W. 1915. "Bacteriological studies on the coagulation of evaporated milk. lowa Agric. 19 : 119-131.

Jiang, W. Sun, L. Hao, A. and Chen, J.Y. 2011. "Regenerated cellulose fibers from waste bagasse using ionic liquid. Textile Research Journal." 81(18) : 1949-1958.

Litchfield, J.H. 1996. "Microbiological Production of Lactic acid bacteria." Appl. Microbiol. 42 : 45-95.

Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Anal. Chem. 31(3) : 426-428.

Mussatto, S.I. Ballesteros, L.F. Martins, S. and Teixeira, J.A. 2011. "Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee ground." Sep. Purif. Technol. 83(1) : 173-179.

Pichai, E. and Krit, S. 2015. "Optimization of Solid-to-Solvent ratio and time for oil Extraction process from spent coffee grounds using response surface Methodology." ARPN Journal of Engineering and Applied Science. 10 : 1819-6680.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Presscott, S.C. and Dun, C.G. 1959. "Industrial Microbioly, *3rd Ed.*" New York: McGraw-Hill Book Company.

Rocha, G.J.M. Martin, C. Soare, I.B. Maior, A.N.S. Baudel, H.M. and Abreu, C.A.M. 2011. "Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production." Biomass and Bioenergy. 35: 663-670.

Sun, Y. Li, Y. and Bai, S. 1999. "Modelling of continuous L(+) lactic acid production with immobilized *Rhizopus oryzae* in an airlift bioreactor." J. Biochem Engineer. 3 : 87-90.

Uddin, A.J. Yamamoto, A. Gotoh, Y. and Nagura, M. 2010. "Preparation and physical properties of regenerated cellulose fibers from sugarcane bagasse." Textile Research Journal. 80(17) : 1846-1858.

Zhang, C. Zhou, C. Assavasirijinda, N. Yu, B. Wang L. and Ma, Y. 2017. "Non-sterilized fermentation of high optically pure d-lactic acid by a genetically modified thermophilic *Bacillus coagulans* strain." Microb Cell Fact 16 : 213

Zhang, W. Leonga, S.M. Zhaob, F. Zhaob, F. Yangb, T. and Liu, S. 2018. "Viscozyme L pretreatment on palm kernels improved the aroma of palm kernel oil after kernel roastingon palm kernels improved the aroma of palm kernel oil after kernel roasting." Food Research International. (107) : 172–181.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารสูตรแข็ง (GYC)

แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	30	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	10	กรัม
น้ำตาลกลูโคส (Glucose)	50	กรัม
วุ้น (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายสารประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปลอดเชื้อภายใต้ความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเหลวสูตร GYC

แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	30	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	10	กรัม
น้ำตาลกลูโคส (Glucose)	50	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายสารประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปลอดเชื้อภายใต้ความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สารเคมี

1. การเตรียมสาร Dinitrosalicylic acid (DNS)

ละลาย DNS 5 กรัมใน 2 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 80 – 90 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต ($KNaC_4H_4O_6$) ที่เตรียมจากการละลายสาร 150 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงไปในขณะที่ยังร้อนอยู่ คนให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

ปิเปตกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ปริมาตร 10.87 มิลลิลิตร ค่อยๆ หยดลงในน้ำกลั่นปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 200 มิลลิตร

3. การเตรียมด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4 กรัม ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

5. การเตรียมสารละลายในการไทเทรต

5.1 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล เตรียมโดย ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4 กรัม ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร

5.2 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต (KHP) ชั่ง KHP ($C_8H_5KO_4$) 2.0423 กรัม ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ได้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต (KHP) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นกรดแลคติก

นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงเอาจุลินทรีย์ออกที่ 6000 รอบต่อนาที ดูดเอาส่วนใสมา 2 มิลลิลิตร ใส่น้ำกลั่นปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วหยดฟีนอล์ฟทาลีน 2 หยด ไทเทรตด้วยสารละลาย NaOH 0.1 นอร์มอล

7. การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 6 โมลาร์

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ปริมาตร 501 มิลลิลิตร ค่อยๆ หยดลงในน้ำกลั่นปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

เครื่องมือ

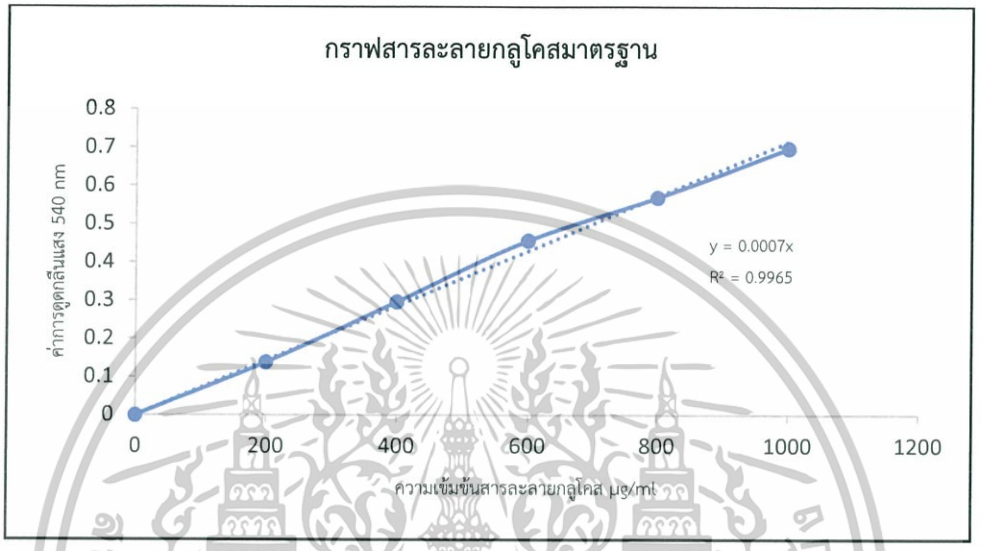
เครื่องมือ	รุ่น	ผู้ผลิต
หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)	HVE-50	BEC Thai, Thailand
หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)	ES-315	Tomy, Japan
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	UV-1280	Shimadzu, Japan
ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)	TL2448	Holten, Denmark
ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	FD53	WTC binder, Germany
ตู้แช่เย็นควบคุมอุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส	SBC-P2D8	Panasonic, Thailand
ตู้แช่เย็นควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส	FZ-189	Mirage, Thailand
ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ควบคุมอุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส	memmert 854	Schwabach w., Germany
เตาอบไมโครเวฟ	ER-G23SC(W)	Toshiba, Thailand
ปิเปตอัตโนมัติ (Autopipette)	P20, P200 และ P1000	Gilson, USA
กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope)	CH30RF200	Olympus, Japan
มอเตอร์กรองสุญญากาศ	5KH36KN193GT	GE Motors
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	ARC120	OHOUS Corp, NJ USA
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	PA214	OHAUS, USA
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker)	-	Gallenkamp, UK
เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก (Centrifuge)	MiniSpin plus	Eppendorf AG, Germany
เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง	S220	SevenCompact, Switzerland
เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer)	G560E	Scientific Industries, USA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

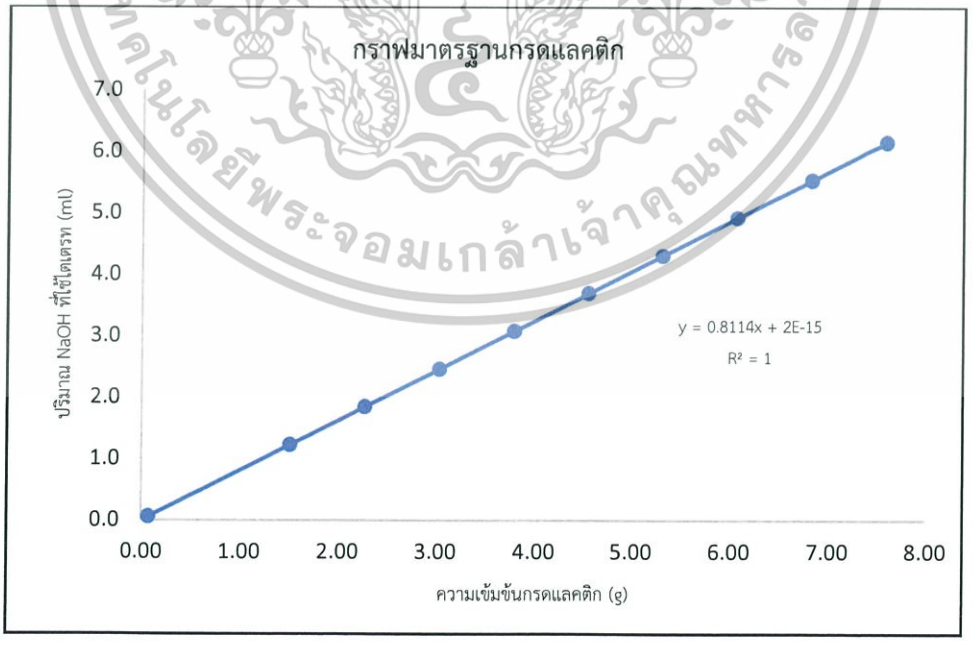
ภาคผนวก ง

กราฟ

1. กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐาน



2. กราฟมาตรฐานกรดแลคติก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้