# การปรับสภาพและการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม เพื่อการเพาะเลี้ยง *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้

# PRE-TREATMENT AND HYDROLYSIS OF CASSAVA STEMS USING MIXED ENZYMES FOR THE CULTIVATION OF ISOLATED *Clostridium* sp.


บุษรัตน์ แซ่โค้ว

สุปราณี ชูกำลัง

อัญธิกา นาอุดม


โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# PRE-TREATMENT AND HYDROLYSIS OF CASSAVA STEMS USING MIXED ENZYMES FOR THE CULTIVATION OF ISOLATED *Clostridium* sp.

BUTSARAT SAEKHOW
SUPRANEE CHOOKAMLANG
AUNTIKA NA-U-DOM

A SPECIAL PROJECT SUMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACALTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | |
|---|---|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | การปรับสภาพและการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมเพื่อการเพาะเลี้ยง *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้<br>Pretreatment and Hydrolysis of Cassava Stems Using Mixed Enzymes for the Cultivation of Isolated *Clostridium* sp. | | |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวบุษรัตน์ | แซ่โค้ว | 56050857 |
| | นางสาวสุปราณี | ชูกำลัง | 56050940 |
| | นางสาวอัญธิกา | นาอุดม | 56050953 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) | | |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา | | |
| **ปีการศึกษา** | 2559 | | |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ | | |

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

| คณะกรรมการสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| ผศ.ลินจง สุขลำภู<br>ประธานกรรมการ | ลินจง สุขลำภู |
| ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล<br>กรรมการ | สุทธิจิต ศรีวัชรกุล |
| ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์<br>กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา | วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ |

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | การปรับสภาพและการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมเพื่อการเพาะเลี้ยง *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวบุษรัตน์ แซ่โค้ว 56050857 |
| | นางสาวสุปราณี ชูกำลัง 56050940 |
| | นางสาวอัญธิกา นาอุดม 56050953 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา |
| **คณะ** | วิทยาศาสตร์ |
| **มหาวิทยาลัย** | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) |
| **ปีการศึกษา** | 2559 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ |

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลัง โดยหาวิธีการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ที่เหมาะสม โดยศึกษาการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ น้ำ และย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ACCELLERASE 1500 การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส และการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม เพื่อให้ได้ส่วนใสที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จากนั้นวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC แล้วนำไปใช้เพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ T6 โดยมีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรเป็นชุดควบคุม และหาผลิตภัณฑ์โดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC จากการทดลองพบว่าการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกพบน้ำตาลรีดิวซ์ 50.74 กรัมต่อลิตร ในส่วนใส เมื่อนำส่วนของแข็งที่ได้หลังจากการปรับสภาพมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลสได้น้ำตาลรีดิวซ์ในชั่วโมงที่ 48 สูงสุดเท่ากับ 10.94 กรัมต่อลิตร จากการปรับสภาพด้วยเบส การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสพบน้ำตาลรีดิวซ์ 34.85 กรัมต่อลิตร จากนั้นจึงนำก้านมันสำปะหลังมาย่อยด้วยเอนไซม์ผสมพบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 47.90 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 12 ผลการวิเคราะห์ชนิดน้ำตาลที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมพบน้ำตาลกลูโคส มอลโตส และไซโลส ผลการเพาะเลี้ยงโดยใช้ส่วนใสที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมพบว่า มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 2.38 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 น้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุด 27.10 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 110 โดยเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าเชื้อสามารถผลิตบิวทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 110 ได้ 11.68 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ผลิตบิวทานอลสูงสุด 12.15 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ดังนั้นก้านมันสำปะหลังที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ผสมสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตบิวทานอลได้

**คำสำคัญ** : *Clostridium* sp. กระบวนการหมักอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล การปรับสภาพ การย่อยด้วยเอนไซม์ ก้านมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Title** | Pretreatment and Hydrolysis of Cassava Stems Using Mixed Enzymes for the Cultivation of Isolated *Clostridium* sp. | | |
| **Students** | Ms. Butsarat | Saekhow | Student ID 56050857 |
| | Ms. Supranee | Chookamlang | Student ID 56050940 |
| | Ms. Autika | Na-U-Dom | Student ID 56050953 |
| **Degree** | Bachelor of Science Program (Biotechnology) | | |
| **Department** | Biotechnology | | |
| **Faculty** | Science | | |
| **University** | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) | | |
| **Academic Year** | 2016 | | |
| **Advisor** | Vorapat Sanguanchaipaiwong, Ph.D. | | |


## Abtract


This research focused on the cultivation of isolated *Clostridium* sp. using reducing sugars from hydrolyzed cassava stems and the optimization of their pretreatment and hydrolysis. Study on the pretreatment of the cassava stems with sulfuric acid, sodium hydroxide and distilled water was carried on by the hydrolysis with ACCELLERASE 1500 (cellulase), α-amylase with glucoamylase, and mixed enzymes, to produce the highest amount of reducing sugars. Afterwards, it was analyzed sugar types using HPLC and utilized for the cultivation of isolated *Clostridium* sp. under anaerobic condition at 37 °C in T6 medium compared with glucose 50 g/L as a control experiment. Experimental results revealed that the pretreatment of cassava stems using sulfuric acid obtained the maximum concentration of reducing sugars in the filtrate (50.74 g/L). The sediments after sodium hydroxide pretreatment were subsequently hydrolyzed by cellulase and obtained the highest reducing sugar concentration (10.94 g/L) at 48 h, Hydrolysis of the cassava stems with amylases provided 34.85 g/L reducing sugars and the highest reducing sugar amount 47.18 g/L was obtained from the hydrolysis with mixed enzymes. After mixed enzymes hydrolysis, the hydrolysate contained glucose, maltose and xylose. From the cultivation of *Clostridium* sp. using cassava stem hydrolystae, the highest dry cell weight concentration of 2.38 g/L was obtained at 120 h. The minimum reducing sugar concentration was 27.10 g/L at 110 h. By HPLC analysis, it has been found 11.68 g/L butanol at 110 h., in the culture with cassava stem hydrolysate, which was similar to a control experiment (12.15 g/L) at 120 h. It can be concluded that cassava stem hydrolysate using mixed enzymes has been able to utilize as a carbon source for butanol production.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Keywords:** *Clostridium* sp., Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation, Pretreatment, Enzymatic hydrolysis, Cassava Stems.




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงมิได้หากขาดคำแนะนำ คำปรึกษา และความช่วยเหลือในด้านวิชาการจาก ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำโคงงานพิเศษในครั้งนี้ อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานอีกด้วย ตลอดจนช่วยให้คำแนะนำในด้านการแปลเอกสาร ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดีในทุกขั้นตอน เอื้อเฟื้อเวลาและสถานที่ในการร่วมแลกเปลี่ยนความคิดเห็นระหว่างการทำโครงงานพิเศษเล่มนี้ คณะผู้วิจัยรู้สึกทราบซึ้งในความกรุณาของท่านเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ขอขอบคุณคณะกรรมการ ผศ.ลินจง สุขลำภู และ ดร.สุทธิจิตร ศรีวัชรกุล ที่กรุณาให้เกียรติเป็นคณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และยังเป็นผู้เชี่ยวชาญในการตรวจสอบความถูกต้อง รวมทั้งให้คำปรึกษาข้อเสนอะแนะที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัย และคณาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ และประสบการณ์ในการศึกษาที่มีคุณค่าอย่างยิ่ง

ขอบคุณพี่ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยให้คำแนะนำ เป็นที่ปรึกษาในการใช้อุปกรณ์การทดลองทางวิทยาศาสตร์ และอำนวยความสะดวกในการทดลอง และขอขอบคุณ นางสาวบุษบา บัวเขียว ที่ได้ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมืออย่างใกล้ชิด ตลอดจนเป็นที่ปรึกษาในการทดลองและให้ความช่วยเหลือตลอดการดำเนินงาน ทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบคุณนางสาวกรรณิกา แซ่เล้า ที่ให้ความอนุเคราะห์และให้ความช่วยเหลือในเรื่องการขอก้านมันสำปะหลังจากจังหวัดมหาสารคามที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองในครั้งนี้ และขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยให้คำปรึกษา ช่วยเหลือการตรวจสอบเอกสาร และเป็นกำลังใจที่มีให้อย่างเสอมมา

คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่ให้การอุปการะ อบรมเลี้ยงดู ตลอดจนส่งเสริมการศึกษา และให้กำลังใจเป็นอย่างดี และขอพระขอบคุณเจ้าของเอกสารและงานวิจัยทุกท่านที่คณะผู้วิจัยได้นำมาอ้างอิงในการทำวิจัยจนกระทั่งงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

บุษรัตน์ แซ่โค้ว
สุปราณี ชูกำลัง
อัญธิกา นาอุดม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า


บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ฌ
**บทที่ 1 บทนำ** ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย ..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย ..... 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย ..... 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ..... 2
**บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... 3
2.1 มันสำปะหลัง ..... 3
2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมันสำปะหลัง ..... 3
2.1.2 พฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง ..... 3
2.1.3 ลำต้น ..... 4
2.1.4 ใบ ..... 5
2.1.5 ดอก ..... 6
2.1.6 รากและหัว ..... 7
2.1.7 การแบ่งชนิดของมันสำปะหลัง ..... 9
2.1.8 ลักษณะประจำพันธุ์มันสำปะหลัง ..... 9
2.2 บิวทานอล ..... 20
2.2.1 คุณสมบัติของบิวทานอล ..... 20
2.2.2 การใช้บิวทานอลเป็นเชื้อเพลิงเหลว ..... 21
2.3 กระบวนการผลิตตัวทำละลาย อะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล ด้วยกระบวนการหมัก ..... 21
2.3.1 รูปแบบของกระบวนการหมัก ..... 21
2.3.2 ชีวเคมีของกระบวนการหมัก ..... 22
2.3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก ..... 24
2.4 เชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ..... 25
2.5 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใย ..... 28
2.5.1 เซลลูโลส ..... 28


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 เฮมิเซลลูโลส ..... 29
2.5.3 ลิกนิน ..... 30
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 31
**บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย** ..... 35
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ ..... 35
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ ..... 35
3.1.2 สารเคมี ..... 35
3.1.3 อุปกรณ์ ..... 36
3.1.4 ก้านมันสำปะหลัง ..... 37
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ ..... 37
3.2.1 อาหาร Reinforced Clostridial (Difco™) ..... 37
3.2.2 อาหาร T6 ..... 37
3.3 การเตรียมก้านมันสำปะหลัง ..... 38
3.4 การปรับสภาพก้านมันสำปะหลัง ..... 38
3.4.1 การปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น ..... 38
3.4.2 การปรับสภาพด้วยสารละลายกรด ..... 38
3.4.3 การปรับสภาพด้วยสารละลายเบส ..... 38
3.5 กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ ..... 39
3.5.1 การย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ..... 39
3.5.2 การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส ..... 39
3.5.3 การย่อยด้วยเอนไซม์ผสม ..... 39
3.6 การผลิตบิวทานอล ..... 40
3.6.1 การเตรียมหัวเชื้อ ..... 40
3.6.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ..... 40
3.7 การวิเคราะห์ ..... 40
3.7.1 การวิเคราะห์แบบปริมาณกลุ่มสารของก้านมันสำปะหลัง ..... 40
3.7.1.1 ปริมาณความชื้น ..... 40
3.7.1.2 ปริมาณโปรตีน ..... 41
3.7.1.3 ปริมาณไขมัน ..... 41
3.7.1.3 ปริมาณเยื่อใยหยาบ ..... 42
3.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ..... 43
3.7.2.1 ปริมาณเซลลูโลส ..... 43
3.7.2.2 ปริมาณเฮมิเซลลูโลส ..... 44
3.7.3 การวิเคราะห์ทางเคมี ..... 45
3.7.3.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) ..... 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.3.2 น้ำหนักชีวมวลแห้ง ..... 46
3.7.3.3 การวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลหลังการย่อยก้านมันสำปะหลังโดยใช้เครื่อง HPLC ..... 46
3.7.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณบิวทานอลและสารอินทรีย์อื่นๆ ..... 46
3.7.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ ..... 47
**บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล** ..... 48
4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของก้านมันสำปะหลัง ..... 48
4.2 การปรับสภาพก้านมันสำปะหลังและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ..... 49
4.3 การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส ..... 52
4.4 การย่อยด้วยเอนไซม์ผสม ..... 53
4.5 การศึกษาชนิดของน้ำตาลหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม ..... 54
4.6 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ด้วยน้ำตาลกลูโคสสำหรับเป็นชุดควบคุม ..... 55
4.6.1 การเจริญเติบโตของเชื้อ ..... 55
4.6.2 การสร้างผลิตภัณฑ์ของเชื้อ ..... 57
4.7 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ด้วยน้ำตาลที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม ..... 61
4.7.1 การเจริญเติบโตของเชื้อ ..... 61
4.7.2 การสร้างผลิตภัณฑ์ของเชื้อ ..... 63
**บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ** ..... 67
5.1 สรุปผลวิจัย ..... 67
5.2 ข้อเสนอแนะ ..... 68
เอกสารอ้างอิง ..... 69
ภาคผนวก ..... 72
ภาคผนวก ก ..... 73
ภาคผนวก ข ..... 89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**

4.1 องค์ประกอบของก้านมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง ..... 48
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนของเหลวจากการปรับสภาพก้านมันสำปะหลัง..... 49
4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยส่วนของแข็งก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส..... 51
4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์อะไมเลส..... 52
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม..... 53
4.6 ชนิดและปริมาณน้ำตาลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ของตัวอย่างก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม..... 55
4.7 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าพีเอช ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* sp. ในอาหาร T6 ชุดควบคุม..... 56
4.8 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดแลคติก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดควบคุม..... 59
4.9 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าพีเอช ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* sp. ในอาหาร T6 ชุดทดลอง..... 62
4.10 ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดแลคติก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดทดลอง..... 64
4.11 ปริมาณบิวทานอลที่ผลิตได้สูงสุด ปริมาณตัวทำละลายรวม ผลได้บิวทานอล และอัตราการผลิตบิวทานอล ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดทดลอง..... 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

**รูปที่** **หน้า**

2.1 ลำต้นมันสำปะหลัง ..... 5
2.2 ลักษณะใบของมันสำปะหลัง ..... 6
2.3 ดอกของมันสำปะหลัง ..... 7
2.4 หัวของมันสำปะหลัง ..... 8
2.5 มันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที ..... 10
2.6 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 ..... 10
2.7 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 3 ..... 11
2.8 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 60 ..... 12
2.9 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 90 ..... 13
2.10 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 ..... 13
2.11 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ..... 14
2.12 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 7 ..... 15
2.13 มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ..... 16
2.14 มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ..... 17
2.15 มันสำปะหลังพันธุ์ศรีราชา 1 ..... 18
2.16 มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ..... 19
2.17 มันสำปะหลังพันธุ์ CMR 35-32-196 ..... 20
2.18 โครงสร้างทางเคมีของบิวทานอล ..... 20
2.19 วิถีทางชีวเคมีของแบคทีเรีย *C. acetobutylicum* ..... 23
2.20 ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย *Clostridium beijerinckii* ..... 26
2.21 ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* ..... 27
2.22 โครงสร้างของเซลลูโลส ..... 29
2.23 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส ..... 30
2.24 โครงสร้างของลิกนิน ..... 31
4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนของเหลวจากการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ และน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ..... 50
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DNS ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยตะกอนก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ..... 51
4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DNS ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ..... 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ชนิดและปริมาณน้ำตาลที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ผสมของแอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส..... 55
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าพีเอช และน้ำหนักเซลล์แห้งที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อ T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ที่สภาวะนิ่ง ไร้ออกซิเจน อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ ..... 57
4.6 ความเข้มข้นของ อะซิโตน บิวทานอล เอทานอล อะซิติก บิวทิริก และแลคติก ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ..... 60
4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าพีเอช และน้ำหนักเซลล์แห้งที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อ T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ที่สภาวะนิ่งไร้ออกซิเจน อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ ..... 62
4.8 ความเข้มข้นของ อะซิโตน บิวทานอล เอทานอล อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร..... 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

น้ำมันเชื้อเพลิงจัดเป็นทรัพยากรที่สำคัญมากในปัจจุบัน เนื่องจากเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของประชาชนทั่วไปทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น การเดินทาง การขนส่งสินค้า การผลิตสินค้า เป็นต้น ทำให้มีความต้องการน้ำมันในปริมาณมาก และเนื่องจากน้ำมันเชื้อเพลิงเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่ไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ และกำลังจะหมดไป จึงทำให้ปัญหาการขาดแคลนน้ำมันเป็นปัญหาที่ไม่อาจละเลยได้ ในประเทศไทยจึงได้มีการนำพลังงานทางเลือกมาใช้เพื่อลดการใช้น้ำมัน โดยการนำเอทานอลที่สามารถผลิตได้จากพืชที่ปลูกในประเทศมาผสมลงไปในน้ำมันเบนซินเรียกว่าน้ำมันแก๊สโซฮอล การใช้แก๊สโซฮอลนั้นสามารถลดปริมาณไฮโดรคาร์บอนและคาร์บอนมอนอกไซด์ลง 20 - 25% และยังลดการใช้น้ำมันของประเทศลงได้ประมาณ 10 % หรือเดือนละ 25 ล้านลิตร (ธงชัย, 2550) แต่เอทานอลที่นำมาผสมในน้ำมันนั้นมีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูง และมีความหนาแน่นของพลังงานต่ำ ทำให้นำไปใช้ได้ยาก รวมทั้งมีค่าการเก็บรักษาและขนส่งสูงเมื่อเทียบกับบิวทานอล ดังนั้นนักวิจัยส่วนใหญ่จึงให้ความสนใจกับการผลิตบิวทานอลมากขึ้น (สุนทร และอภิชัย, 2555) นอกจากนี้บิวทานอลยังสามารถนำไปผสมกับน้ำมันเบนซินในปริมาณความเข้มข้นที่สูงกว่าเอทานอลโดยไม่ต้องปรับปรุงเครื่องยนต์อีกด้วย

มันสำปะหลังเป็นพืชที่สำคัญในทางเศรษฐกิจของไทย และสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี จากข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (สศก.) พบว่าผลผลิตหัวมันสดในฤดูกาลเก็บเกี่ยวปี 2558/59 คาดว่าจะมีปริมาณหัวมันสดรวม 31.0 ล้านตัน ในเดือนธันวาคม 2558 มีผลผลิตออกสู่ตลาด 2.4 ล้านตัน การส่งออกเดือนธันวาคมรวม 0.96 ล้านตัน มูลค่า 9,645.6 ล้านบาท และภาพรวมการส่งออกทั้งปี 2558 มีปริมาณรวม 11.2 ล้านตัน มูลค่า 115,888.8 ล้านบาท (วิชิต, 2558) แต่ในปัจจุบันยังใช้มันสำปะหลังมาผลิตเอทานอลน้อยมากเพียง 28% ของการผลิตเอทานอลทั้งหมด ส่วนใหญ่ประมาณ 66% จะผลิตจากกากน้ำตาล ที่เหลืออีก 6% เป็นวัตถุดิบอื่นๆ

มันสำปะหลังยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อีกหลากหลาย เช่นส่วนของเหง้ามันสามารถนำมาใช้แทนฟืน ใบนำมาตากแดดแล้วนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้เนื่องจากมีโปรตีนสูง ลำต้นสามารถนำมาคัดเลือกเฉพาะส่วนกลางค่อนไปทางโคนของลำต้นไปเพาะปลูกใหม่ โดยในงานวิจัยครั้งนี้ได้เลือกส่วนกลางของก้านมันสำปะหลังที่เหลือจากนำไปเพาะปลูกมาใช้ในการผลิตบิวทานอล ซึ่งถือได้ว่าเป็นวัตถุดิบทางเลือก เนื่องจากเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยเพิ่มช่องทางการตลาดให้กับเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง และยกระดับราคามันสำปะหลังให้สูงขึ้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพของก้านมันสำปะหลังและการนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ผสมให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้นสูงสุด เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp.

1.2.2 ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตสารละลายอินทรีย์คือ อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลจากเชื้อ *Clostridium* sp. โดยใช้ก้านมันสำปะหลังที่ปรับสภาพแล้ว

## 1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

นำก้านมันสำปะหลังมาปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ และน้ำกลั่น ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำก้านมันสำปะหลังที่ปรับสภาพแล้วมาปรับพีเอชให้เป็นกลาง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ที่ต่างกัน คือเอนไซม์อะไมเลส เอนไซม์เซลลูเลส ACCELLERASE 1500 เพียงอย่างเดียว และเอนไซม์ผสมของเอนไซม์อะไมเลส และเซลลูเลส ACCELLERASE 1500 เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด และนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ไปเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ในกระบวนการหมัก และทำการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ศึกษาถึงกระบวนการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลังที่เหมาะสมที่สุด เพื่อนำมาเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp.
2. ทราบแนวทางการผลิตบิวทานอลจากเชื้อ *Clostridium* sp. โดยใช้ก้านมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆต่อไปได้
3. สามารถช่วยลดปัญหาการกำจัดวัสดุเหลือทิ้งและเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ ก้านมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 มันสำปะหลัง (ฐิติมา, 2542)

### 2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชไร่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2550 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง 7 ล้านไร่ กระจายปลูกทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคเหนือ ในพื้นที่ 48 จังหวัดมีผลผลิตรวมประมาณ 20 ล้านตัน เป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ให้แก่เกษตรกรมากเป็นอันดับ 4 รองจากยางพารา อ้อย และข้าว

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีจุดเด่นในด้านการค้าในตลาดโลก คือ เป็นพืชที่มีกระบวนการผลิตที่สะอาด จนได้รับการยอมรับว่าเป็นสินค้าสีเขียว (green product) และเป็นพืชที่ไม่มีการตัดต่อสารพันธุกรรม (non GMOs) มันสำปะหลังเป็นแหล่งผลิตคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญของประชากรโลกในเขตร้อน ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังส่งออกที่สำคัญได้แก่ มันอัดเม็ด มันเส้น และแป้ง ปัจจุบันแป้งมันสำปะหลังถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่อเนื่องหลายประเภท เช่น แป้งแปรรูป กรดมะนาว ผงชูรส สารให้ความหวาน เป็นต้น

ในภาวะวิกฤตด้านพลังงานเชนปัจจุบัน รัฐบาลสนับสนุนให้มีการตั้งโรงงานผลิตบิวทานอลจากมันสำปะหลังเพื่อนำมาผสมกับน้ำมันเบนซิน เรียกว่า “ก๊าซโซฮอล์” มีออกเทนสูงเทียบเท่าน้ำมันเบนซิน 95 มันสะหลังจึงมีบทบาททางด้านพลังงานทดแทนเพิ่มขึ้น

### 2.1.2 พฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง (ดนัย, 2537)

มันสำปะหลังหรือที่เรียกกันทั่วไปเป็นภาษาอังกฤษว่า cassava เป็นพืชที่จัดได้ว่าเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญที่สุด มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา โดยเฉพาะในอเมริกาใต้แถบประเทศ เปรู เม็กซิโก กัวเตมาลา และฮอนดูรัส ซึ่งสันนิษฐานว่ามีการปลูกมันสำปะหลังประมาณ 3,000-7,000 ปีมาแล้ว ต่อมาได้ขยายไปทั่วเขตร้อนของทวีปอเมริกา และได้ขยายไปสู่แหล่งอื่นๆ ของโลก โดยชาวปอร์ตุเกส และชาวสเปน นำมันสำปะหลังจากประเทศเม็กซิโก มายังประเทศฟิลิปปินส์ประมาณคริสต์ศตวรรษที่ 17 และชาวฮอลแลนด์นำมายังอินโดนีเซียจากประเทศสุรินัมประมาณคริสต์ศตวรรษที่ 18

สำหรับประเทศไทยนั้น ไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่า มีการนำมันสำปะหลังเข้ามาปลูกเมื่อใดแต่คาดว่ามีการนำมันสำปะหลังเข้าสู่ประเทศไทย จากประเทศมาเลเซียเมื่อราวปี พ.ศ. 2329 โดยเรียกชื่อต่างๆ ในระยะต่อมาว่า มันไม้ มันสำโรง คำว่า “สำปะหลัง” นั้น ภาษามาเลเซียและอินโดนีเซียเรียกว่า Ubikayu แปลว่า พืชที่มีรากขยายใหญ่ และไปคล้ายกับภาษาชาวตะวันตกว่า “สัมเปอ (sampeu)”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นักวิทยาศาสตร์ได้จัดมันสำปะหลังไว้เป็นหมวดหมู่ดังนี้ (ดนัย, 2537)

| | | |
|---|---|---|
| ORDER | : | GERANIALES OR EUPHORBIALES |
| CLASS | : | DICOTYLEDONEAE |
| SUB-CLASS | : | ARCHICHLAMYDEAE |
| FAMILY | : | ANGIOSPERMAE |
| TRIBE | : | MANIHOTEAE |
| GENUS | : | *MANIHOT* |

พืชเศรษฐกิจอื่นๆ ที่อยู่ใน Family เดียวกับมันสำปะหลัง ที่รู้จักกันดี ได้แก่ ละหุ่ง ยางพารา เป็นต้น ส่วนพืชจำพวกมันสำปะหลังที่อยู่ใน GENUS *Manihot* นั้นมีมากมายหลาย species ซึ่งบาง species ก็ใช้เป็นอาหารได้

สำหรับมันสำปะหลังที่ปลูกกันเป็นการค้าในปัจจุบันมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz. ในอดีตที่ผ่านมา มันสำปะหลังมีชื่อเดิมว่า *Manihot utilissima* Pohl. แต่ปัจจุบันไม่นิยมใช้กัน นอกจากนั้นสมัยก่อนยังแบ่งมันสำปะหลังเป็น ชนิดหวานกับชนิดขม โดยที่ *M. esculenta* เป็นชนิดหวาน *M. palmate* หรือ *M. dulcis* เป็นชนิดขม อย่างไรก็ตามปัจจุบันคงมีแต่ *M. esculenta* ส่วนจะเป็นชนิดหวานหรือขมจะแตกต่างกันที่พันธุ์

2.1.3 ลำต้น (ดนัย, 2537)

มันสำปะหลังมีลักษณะลำต้นและความสูงแตกต่างออกไปตามพันธุ์และสภาพแวดล้อม ลำต้นมีลักษณะเป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 1-5 เมตร มีอายุอยู่ได้นานหลายปี ทุกส่วนของลำต้นมันสำปะหลังจะมียางสีขาวข้น บางพันธุ์ลำต้นเป็นต้นเดี่ยวไม่มีการแตกกิ่ง แต่บางพันธุ์มีการแตกกิ่ง 2 กิ่ง แตกกิ่ง 3 กิ่ง บางพันธุ์อาจจะแตกกิ่งมาก แต่เท่าที่พบมามักจะแตกกิ่งไม่เกิน 4 กิ่ง พันธุ์ที่มีการแตกกิ่งมาก และแตกกิ่งหลายระดับจะมองเห็นเป็นพุ่มเตี้ย ความสูงของลำต้นจะตรงกันข้ามกับการแตกกิ่ง คือ พันธุ์ที่มีการแตกกิ่งมากจะเตี้ย ส่วนพันธุ์ที่แตกกิ่งน้อยจะสูง จำนวนของการแตกกิ่งจะมีจำนวนแตกต่างกัน การแตกกิ่งครั้งแรกจะเรียกว่า Primary branch ส่วนครั้งที่ 2 เรียกว่า Secondary branch จำนวนครั้งที่แตกกิ่งอาจมีมากกว่า 7 ครั้งก็มี ความสูงของการแตกกิ่งแตกต่างกันไปตามพันธุ์ บางพันธุ์แตก Primary branch ต่ำๆ เมื่ออายุน้อย บางพันธุ์อาจแตก Primary branch สูงเมื่ออายุมาก ระดับการแตกกิ่งจะมีตั้งแต่ หนึ่งระดับถึงสามระดับ (ดนัย, 2537)

ลำต้นมีสีต่างๆ มากมายแล้วแต่พันธุ์ เช่น สีเขียวเงิน สีเทาเงิน สีเหลือง และสีน้ำตาล เป็นต้น แต่ส่วนยอดมักจะเป็นสีเขียว ลำต้นมีเปลือกบางลอกออกง่าย

ลำต้นของมันสำปะหลังจัดเป็นพวกไม้เนื้ออ่อน ลักษณะภายในของลำต้นเหมือนกับพืชใบเลี้ยงคู่ทั่วๆ ไป ขณะที่ต้นยังอ่อนอยู่จะถูกหุ้มด้วยชั้นเซลล์ที่เรียกว่า Epidermis ชั้นข้างในประกอบด้วยส่วนที่เรียกว่า Cortex ซึ่งภายใน Cortex จะประกอบไปด้วยกลุ่มท่อน้ำท่ออาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Vascular bundle) เรียงกันอยู่เป็นวง ท่ออาหาร (Phloem) และท่อน้ำ (Xylem) แยกกันโดยส่วนของเนื้อเยื่อ Cambium เส้นกลางของลำต้นจะเห็นเป็นเนื้อไม้นุ่มๆ อุ้มน้ำ ซึ่งเป็นส่วนของ Parenchyma เรียกว่า Pith จะมีขนาดใหญ่ในขณะลำต้นยังอ่อน มีผลทำให้เปราะหักง่าย ส่วนต้นที่แก่แล้ว Pith จะมีขนาดเล็กกว่า บริเวณผิวของลำต้นจะมีการสะสมชั้นเนื้อเยื่อ (Cork layer) และส่วนของท่อน้ำ (Xylem) และจะเกิดมากขึ้นทำให้กลายเป็นเนื้อไม้ที่แข็งแรงเมื่ออายุมากขึ้น ลักษณะลำต้นของต้นมันสำปะหลังแสดงในรูปที่ 2.1

**รูปที่ 2.1** ต้นมันสำปะหลัง

**ที่มา :** http://kasetnana.blogspot.com/2013/04/5.html (วันที่สืบค้น 24 มกราคม 2560)

**2.1.4 ใบ** (ดนัย, 2537)

ใบของมันสำปะหลังเป็นใบเดี่ยว (Single leaf) รูใบ (Stomata) ส่วนมากจะอยู่ใต้ใบ แผ่นใบ (Lamina) จะเว้าเป็นแฉก (Lobe) ลึกแบบ Palmate มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ตามปกติจะมี 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร ใบที่อยู่ใกล้ช่อดอกมีขนาดเล็ก และมีจำนวนแฉกน้อยกว่าคือ มีเพียง 1-3 แฉกเท่านั้น รูปทรงของแฉกจะแตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์และค่อนข้างคงที่ในแต่ละพันธุ์เช่น เรียวยาว ป้อมสั้น หรือป้อมเป็นบางส่วน

เส้นกลางใบ (Midrib) จะมีสีแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ก้านใบ (Petioles) ก็เช่นเดียวกันจะมีสีแตกต่างกันไป เช่น สีเขียว ขาวหม่น แดง เขียวเหลือบแดง ม่วง ฯลฯ พันธุ์พื้นเมืองหรือระยอง 1 จะมีก้านใบสีเขียวเหลือบแดง พันธุ์ห้านาทีจะมีก้านใบสีแดงเข้มทั้งก้าน ก้านใบติดอยู่กับฐานของแผ่นใบเป็นรูปตัว V พยุงให้แผ่นใบอยู่ในแนวราบ ก้านใบยาวประมาณ 5-30 เซนติเมตร ยาวกว่าแผ่นใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก้านใบติดอยู่กับลำต้นโดยเรียงวนรอบลำต้น แบบ 2/5 Spiral phyllotaxy บริเวณยอดจะมีใบอ่อนที่ยังไม่คลี่หุ้มอยู่ โดยใบอ่อนจะมีสีต่างๆ กันไปตามพันธุ์ เช่น ม่วงอ่อน เขียวอ่อน หรือเขียวเข้ม เป็นต้น นอกจากนั้นก็ยังมีขน (Pubescence) ที่ใบอ่อนเหล่านี้ ซึ่งบางพันธุ์ก็มีมากบางพันธุ์มีน้อยหรือไม่มีเลย (ดนัย, 2537)

ลักษณะต่างๆ ของใบได้แก่ จำนวนแฉก รูปร่างของแฉก ความยาว ความกว้างของแฉก สีของก้านใบ สีของใบอ่อน ใบแก่ การมีขนหรือไม่มีขนของใบอ่อนสามารถนำไปใช้ในการจำแนกพันธุ์ต่างๆ ได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.2

**รูปที่ 2.2** ลักษณะใบของมันสำปะหลัง

**ที่มา :** http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=5&chap=4&page=t5-4-infodetail04.html (วันที่สืบค้น 24 มกราคม 2560)

**2.1.5 ดอก**

มันสำปะหลังเป็นพืชแบบ Monoecious คือมีทั้งดอกตัวผู้ (Staminate flower) และดอกตัวเมีย (Pistillate flower) อยู่ในช่อดอก (Inflorscence) เดียวกัน แต่ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่แยกดอกกัน ช่อดอกเป็นแบบ Panicle และเกิดที่จุดที่แตกกิ่งที่ยอดของต้น (Apical branch) ดังนั้นพันธุ์ที่ไม่มีการแตกกิ่งจึงไม่มีช่อดอก

ดอกตัวผู้จะมีขนาดเล็กกว่าและอยู่ที่ส่วนบนของช่อดอก ดอกตัวผู้มีกลีบเลี้ยง (Sepal) 5 อัน สีของกลีบเลี้ยงมีตั้งแต่ สีขาว ส้ม เขียว แดง และม่วง แต่ไม่มีกลีบดอก (Petal) แต่ละดอกมี 10 stamen จัดเรียงกันเป็นวง 2 วง วงในมี 5 stamen และมีก้าน (Filament) สั้น วงนอกมี 5 stamen และมีก้านยาวกว่าวงใน filament แยกไม่ติดกัน ดอกตัวผู้มีก้านดอก (Pedicel) ยาวประมาณ 0.5-1.0 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอกตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าดอกตัวผู้และเกิดอยู่ที่ส่วนล่างของช่อดอก ดอกตัวเมียประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 5 อัน ไม่มีกลีบดอก รังไข่ (Ovary) ประกอบด้วย 3 capsule มีสีตั้งแต่ สีขาว ส้ม เขียว แดง และม่วง แต่ละ capsule จะมี 1 ovule (ดนัย, 2537) รูปที่ 2.3 แสดงดอกของมันสำปะหลัง

**รูปที่ 2.3** ดอกของมันสำปะหลัง

**ที่มา :** http://www2.rdi.ku.ac.th/newweb/?p=17856 (วันที่สืบค้น 24 มกราคม 2560)

**2.1.6 รากและหัว**

มันสำปะหลังที่ปลูกด้วยท่อนพันธุ์จะมีระบบราก เป็นแบบ Adventitious Root System รากจะแตกออกมาจากส่วนปลายของรอยตัด อย่างไรก็ตามรากเกิดจากส่วนต่างๆ ของต้นได้ คือ จาก cambium จากตา จาก leat scar และจากส่วนโคนของ shoot รากมันสำปะหลังมี 2 ชนิดคือ รากจริง (True or Wiry roots) และรากสะสม (Modified or Storages roots) รากทั้ง 2 ชนิดนี้จะเจริญเติบโตลงไปในดิน โดยรากจริงจะเจริญเติบโตไปในทางด้านลึกมากกว่าด้านข้าง ซึ่งมีหน้าที่ดูดน้ำและอาหารเลี้ยงลำต้น และเป็นที่ยึดเหนี่ยวลำต้นไว้ด้วย ส่วนรากสะสมจะเจริญเติบโตไปในทางด้านข้างรอบๆ ต้นเป็นส่วนใหญ่ มักเกิดอยู่บริเวณโคนต้นในรัศมีประมาณ 60 เซนติเมตร

เมื่อมันสำปะหลังอายุได้ประมาณ 2 เดือนหลังจากปลูก จะมีการสะสมอาหารในรูปของแป้งไว้ที่รากสะสมเหล่านี้ ซึ่งเกิดจากการสะสมแป้งใน parenchyma cell เรียกรากสะสมนี้ว่าหัว และรากที่สะสมแป้งเหล่านี้จะค่อยขยายใหญ่ขึ้นตามอายุ โดยทั่วไปในต้นมันสำปะหลังด้านหนึ่งๆ จะมีรากสะสมอาหารหรือที่เรียกว่าหัวนี้อยู่ประมาณ 5-20 หัวต่อต้น และจำนวนหัวจะคงที่ไม่เพิ่มขึ้นอีกตลอดชั่วอายุการเก็บเกี่ยว หัวมันสำปะหลังจะเป็นที่สะสมแป้งเท่านั้น ไม่มีตา และไม่สามารถใช้ขยายพันธุ์ได้ (ดนัย, 2537)

จำนวนหัว รูปร่างของหัว ขนาด สี น้ำหนัก เปอร์เซ็นต์แป้งและปริมาณกรด HCN ในหัวจะแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ รูปร่างหรือรูปทรงของหัวมีตั้งแต่ Conical, Conical-cylindrical, Cylindrical, Fusiform irregular และรูปทรงที่รวมๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-15 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม สีเปลือกของหัวมีตั้งแต่สีขาว น้ำตาล และน้ำตาลอ่อน เป็นต้น เช่นพันธุ์พื้นเมือง ระยอง 1 ระยอง 60 จะมีเปลือกสีขาว ส่วนพันธุ์ห้านาที พันธุ์ระยอง 3 ระยอง 90 จะมีเปลือกสีน้ำตาล น้ำหนักของหัวอาจมีน้ำหนักมากกว่า 10 กิโลกรัมก็ได้โดยหัวจะหนักมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับพันธุ์ อายุ และสภาพแวดล้อม เปอร์เซ็นต์แป้งจะมีประมาณ 15-40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณกรด HCN ในเปลือกจะมีประมาณ 150-1,110 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักสด ในเนื้อจะมีปริมาณ 5-490 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักสด ปริมาณกรด HCN ในใบและที่เปลือกของหัวของมันสำปะหลังต่างพันธุ์กันมีความแตกต่างน้อยมาก แต่ปริมาณกรด HCN ในหัวจะแตกต่างกันมาก

เมื่อผ่าหัวมันสำปะหลังตามขวางจะเห็นว่ามีอยู่ 3 ส่วนด้วยกันคือ ส่วนของเปลือกชั้นนอก ส่วนของเปลือกชั้นใน และส่วนของเนื้อหัว

1. ส่วนของเปลือกชั้นนอกหรือผิว (Periderm) จะเป็นเยื่อบางๆ ซึ่งเป็นส่วนของ Cork layer และชั้น Epidermis cell ความหนา ลักษณะที่เรียบหรือขรุขระ และสีเปลือกชั้นนอกจะแตกต่างกันไป เช่นมีสีขาว น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแก่ ชมพู และครีม แตกต่างกันไปตามพันธุ์
2. ส่วนของเปลือกชั้นใน (Cortial region) จะอยู่ถัดเข้าไปมีความหนาประมาณ 1-3 มิลลิเมตร มักมีสีขาวหรือสีชมพูแต่อาจมีสีน้ำตาล ม่วง แตกต่างกันไปตามพันธุ์ ส่วนประกอบ ประกอบไปด้วยชั้นของเซลล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ Sclerenchyma, Cortical-parenchyma และ Phoem เปลือกชั้นในนี้เรียกว่า Cortex เมื่อรวมกับ Periderm เรียกรวมกันว่าเปลือก (Peel)
3. ส่วนของเนื้อหัว (Starchy flesh) หรือส่วนแกนกลาง (Large central pith) เป็นส่วนที่สะสมแป้งประกอบด้วย เซลล์ชนิดต่างๆ คือ Cambium, Parenchyma และ Xylem vessel ภายในเนื้อหัวประกอบด้วยแป้ง 20-40 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือจะเป็นน้ำ 60-80 เปอร์เซ็นต์ เนื้อหัวจะมีสีต่างๆ เช่น ขาว ครีม เหลือง และชมพู เป็นต้น (ดนัย, 2537)

ลักษณะของรากสะสมแสดงในรูปที่ 2.4

**รูปที่ 2.4** หัวของมันสำปะหลัง

**ที่มา :** http://www.vcharkarn.com/varticle/60649 (วันที่สืบค้น 24 มกราคม 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.1.7 การแบ่งชนิดของมันสำปะหลัง**

มันสำปะหลังที่ปลูกในแหล่งปลูกทั่วโลกและในประเทศไทย แบ่งเป็น 2 ชนิด (สิวาพร และคณะ, 2551) คือ

**1. ชนิดหวาน** (Sweet type)

เป็นมันสำปะหลังที่มนุษย์ใช้บริโภคได้ เพราะไม่มีรสขมและเป็นมันสำปะหลังที่มีกรดไฮโดรไซยานิคต่ำ เนื้อของมันสำปะหลังจะมีทั้งชนิดเนื้อร่วน นุ่ม และชนิดเนื้อแน่น เหนียว ในประเทศไทยไม่มีการปลูกเป็นพื้นที่ใหญ่ๆ เนื่องจากมีตลาดจำกัด ส่วนใหญ่จะปลูกรอบๆบ้าน หรือตามร่องสวน เพื่อบริโภคเองในครัวเรือนสามารถใช้หัวสดทำอาหารได้โดยตรง เช่น นำไปนึ่ง เชื่อม หรือทอด หรือเพื่อจำหน่ายตามตลาดสดในท้องถิ่นในปริมาณไม่มากซึ่งได้แก่ พันธุ์ห้านาที พันธุ์ระยอง 2 เป็นต้น

**2. ชนิดขม** (Bitter type )

เป็นมันสำปะหลังที่มีรสขม ไม่เหมาะต่อการบริโภคของมนุษย์หรือใช้หัวสดเลี้ยงสัตว์โดยตรง แต่จะใช้สำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปต่างๆ เช่น แป้งมัน มันอัดเม็ด แอลกอฮอล์ และเป็นมันสำปะหลังที่มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคสูง เป็นพิษมีรสขมและมีปริมาณแป้งสูงซึ่งได้แก่ พันธุ์ระยอง 1, พันธุ์ระยอง 3, พันธุ์ระยอง 5, พันธุ์ระยอง 60, พันธุ์ระยอง 90 และเกษตรศาสตร์ 50 เป็นต้น (สิวาพร และคณะ, 2551)

**2.1.8 ลักษณะประจำพันธุ์มันสำปะหลัง**

**1. พันธุ์ห้านาที**

เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่มีปลูกในประเทศไทย ปลูกกันมานานกว่า 200 ปี มีการปลูกเพื่อใช้รับประทาน มีชื่อเรียกอีกหลายชื่อ เช่น พันธุ์ญวน พันธุ์ยอดแดง และพันธุ์สวน พันธุ์นี้แพร่กระจายอยู่ในประเทศเพื่อนบ้านเช่น มาเลเซีย และอินเดีย

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนมีสีเขียวอ่อน ใบที่เจริญเต็มที่สีเขียวอ่อน ก้านใบสีแดงเข้ม ต้นสูงประมาณ 2.5-3.5 เมตร ลำต้นมีน้ำตาลอมเขียว แตกกิ่ง 1-3 ระดับ ระดับแรกสูงจากพื้นดินประมาณ 1.8 เมตร หัวยาวเรียว เปลือกนอกขรุขระสีน้ำตาลเข้ม เนื้อสีขาว มักจะไม่ออกดอก ภายใน 1 ปี ดอกและผลไม่ดก ถ้าปลูกในสภาพไร่ควรเก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 6-8 เดือน หากเกินกว่านั้นเนื้อจะมีเสี้ยนมากไม่เหมาะสมจะนำมาบริโภค แต่ถ้าปลูกในสภาพสวนเนื้อจะไม่เป็นเสี้ยน ดังรูป 2.5 (สิวาพร และคณะ, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ 2.5** มันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที

**ที่มา** : http://market.bansuanporpeang.com/product/ขายพันธุ์มัน5นาที (วันที่สืบค้น 30 มกราคม 2560)

2. **พันธุ์ระยอง 1**

เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ปลูกทั่วประเทศอยู่ในปัจจุบันนี้ มีการพัฒนาที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนสีม่วง ใบที่เจริญเติบโตเต็มที่สีเขียวอมม่วง ต้นสูงประมาณ 2.5-3.5 เมตร ลำต้นตั้งตรง มีสีเทาเงิน รอยแผลเป็นของใบใหญ่นูน แตกกิ่งน้อยประมาณ 0-1 ระดับ หัวยาวเรียว ผิวเรียบ เปลือกสีขาวนวล เนื้อสีขาว ส่วนใหญ่จะออกดอกติดผลเมื่ออายุเกิน 1 ปี มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 จะมีปริมาณแป้งไม่สูงประมาณ 18.3 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตหัวสดเฉลี่ย 2,000-3,000 กิโลกรัมต่อไร่ ดังรูป 2.6 (สิวาพร และคณะ, 2551)

**รูปที่ 2.6** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1

**ที่มา** : http://at.doa.go.th/cassvar/varR1.html (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. พันธุ์ระยอง 2**

พันธุ์ระยอง 2 มีชื่อเดิม CM – 305 – 21 หรือห้วยดง 6 ได้จากการนำเมล็ดลูกผสมที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ Mcol 113 กับพันธุ์ Mcol 22 ที่ศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (CIAT) ประเทศโคลัมเบีย ปลูกคัดเลือกที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองตั้งแต่ปี 2519 นำต้นที่คัดเลือกจากเมล็ดมาปลูกแบบต้นต่อแถว ให้ผลผลิตหัวสด และมีค่าดัชนีความเก็บเกี่ยวสูงกว่าพันธุ์ระยอง 1

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนสีเขียวอ่อน ใบที่เจริญเต็มที่สีเขียวอ่อนปนแดง ก้านใบสีเขียวอ่อนปนแดง ลำต้นสีน้ำตาลอ่อน ต้นสูงประมาณ 2.0-2.8 เมตร ลำต้นโค้ง แตกกิ่ง 0-1 ระดับการแตกกิ่ง ที่ระดับความสูงประมาณ 1.5 เมตร ขึ้นไป กิ่งทำมุมกว้าง 75-90 องศา หัวไม่ดก เปลือกนอกสีน้ำตาลอ่อน หัวสีเหลืองอ่อน (สิวาพร และคณะ, 2551)

**4. พันธุ์ระยอง 3**

พันธุ์ระยอง 3 มีชื่อเดิมว่า CM – 407 – 7 หรือห้วยโป่ง 4 ได้จากการนำเมล็ดลูกผสมที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ Mmex 55 กับพันธุ์ Mven 307 ที่ศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (CIAT) ประเทศโคลัมเบีย ปลูกคัดเลือก

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนสีเขียวอ่อน ใบอ่อนมีสีเขียวอ่อน ใบแหลมแบบใบหอก ก้านใบสีเขียวอ่อนปนแดง ต้นสีน้ำตาลอ่อน แตกกิ่งมาก คือแตกกิ่ง 1-4 ระดับ แต่กิ่งแรกที่ 80 เซนติเมตร สูงจากพื้นที่ต้นคอนข้างเตี้ย สูงประมาณ 1.3-1.8 เมตร หัวยาวเรียวแหลม เปลือกนอกสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในสีขาว ออกดอกได้หลายครั้งภายใน 1 ปี มีดอกและผลดก ดังรูป 2.7 (สิวาพร และคณะ, 2551)

**รูปที่ 2.7** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 3

**ที่มา** : http://at.doa.go.th/cassvar/varR1.html (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**5. พันธุ์ระยอง 60**

พันธุ์ระยอง 60 มีชื่อเดิมว่า CMR24 – 63 – 43 ซึ่งได้รับการผสมพันธุ์ระหว่าง Mcol 1684 กับพันธุ์ระยอง 1 ในปี พ.ศ. 2530 ได้รับรองพันธุ์เป็นพันธุ์แนะนำจากคณะกรรมการวิจัยกรมวิชาการเกษตรให้ชื่อว่าพันธุ์ระยอง 60 เพื่อร่วมเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช ในวโรกาสวันมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 5 รอบ

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนสีม่วงเขียว ใบอ่อนม่วงเขียว ใบแหลมแบบใบหอก เส้นใบสีน้ำตาล ก้านใบสีม่วงเขียว ลำต้นสีน้ำตาลอ่อน มีการแตกกิ่งเมื่อต้นสูงจากพื้นดินประมาณ 1.7 เมตร ความสูงของต้นประมาณ 2.7 เมตร มีลำต้นขนาดใหญ่เหมือนพันธุ์ระยอง 1 การเกิดหัวรวมกันแน่น ทำให้ง่ายต่อการขุด ผิวภายนอกของหัวสีน้ำตาลอ่อน เนื้อสีขาวครีม ดังรูป 2.8 (สิวาพร และคณะ, 2551)

**รูปที่ 2.8** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 60

**ที่มา** : http://kasetnana.blogspot.com/2013/04/60.html (วันที่สืบค้น 30 มกราคม 2560)

**6. พันธุ์ระยอง 90**

พันธุ์ระยอง 90 มีชื่อเดิมว่า (CMC 76 V43) 21 – 1 ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ CMC 76 กับ V43 ได้รวบรวมข้อมูลที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองตั้งแต่ปี พ.ศ. 2521-2532 ได้รับรองพันธุ์ ชื่อ พันธุ์ระยอง 90 เป็นการร่วมเฉลิมพระเกียรติ ปีที่สมเด็จพระศรีนครินทร์ทราบรมราชชนนีทรงมีพระชนมายุครบ 90 พรรษา

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนสีม่วงเขียว ใบอ่อนสีเขียวแก่ ใบแหลมแบบใบหอก ก้านใบสีเขียวอ่อน ต้นสีน้ำตาลอ่อน แตกกิ่งเมื่อต้นสูงประมาณ 0.7 เมตร ต้นสูงประมาณ 1.7 เมตร ลำต้นมีลักษณะโค้ง การเกิดหัวรวมกัน ผิวภายนอกของหัวสีน้ำตาลเข้ม เนื้อสีขาว ดังรูป 2.9 (สิวาพร และคณะ, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ 2.9** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 90

**ที่มา** : http://www.farmkaset.org/html5/contents.aspx?con_id=266 (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

**7. พันธุ์ระยอง 5**

พันธุ์ระยอง 5 ได้มาจากการผสมพันธุ์และคัดเลือกที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองเมื่อปี 2525 ระหว่างพันธุ์ 27-77-11 กับพันธุ์ระยอง 3 นำเมล็ดมาเพาะและปลูกคัดเลือก และนำมาทดสอบไร่เกษตรกรจนได้พันธุ์ดี

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนสีเขียวอม ใบที่เจริญเต็มที่มีสีเขียวแก่ ก้านใบสีแดงเข้ม ต้นสูงประมาณ 1.7 เมตร แตกกิ่งเมื่อสูง 1-1.2 เมตร การเกิดหัวรวมกัน สีภายนอกสีน้ำตาลอ่อน เนื้อสีขาว ออกดอกได้ภายใน 1 ปี ดอกและผลค่อนข้างดก และ ให้ลูกผสมที่ดี ดังรูป 2.10 (สิวาพร และคณะ, 2551)

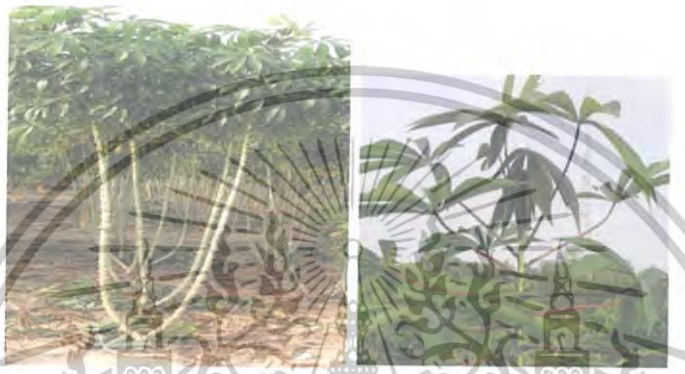
**รูปที่ 2.10** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5

**ที่มา** : http://kasetnana.blogspot.com/2013/04/5.html (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**8. พันธุ์ระยอง 72**

มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 เกิดที่โคนพันธุ์ CMR33-57-81 ที่คัดได้จากการผสมข้ามระหว่างพันธุ์ระยอง 1 กับระยอง 5 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองหลังจากการคัดเลือกเบื้องต้นแล้วนำมาประเมินผลผลิตและความดีเด่นตามขั้นตอนของการปรับปรุงพันธุ์ในศูนย์วิจัยพืชไร่ สถานีทดลองพืชไร่ และแหล่งปลูกต่างๆ พบว่าเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น ในจังหวัดมหาสารคาม บุรีรัมย์ มุกดาหาร ร้อยเอ็ด นครราชสีมา และกาฬสินธุ์ ดังรูป 2.11 (สิวาพร และคณะ, 2551)



**รูปที่2.11** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72

**ที่มา** : http://kasetnana.blogspot.com/2013/05/72.html (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

**9. พันธุ์ระยอง 7**

เดิมมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 7 มีชื่อว่าพันธุ์ CMR35-48-196 เป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่าง CMR30-71-25 กับ OMR29-20-118 เมื่อปี 2535 ได้ผ่านการคัดเลือกครั้งที่ 1 และ 2 เข้าเปรียบเทียบเบื้องต้นมาตรฐานในท้องถิ่น ไร่เกษตรกร และทดสอบพันธุ์ในไร่เกษตรกร จำนวนแปลงทดลอง 2 แปลง พบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ CMR35-48-196 ให้ผลผลิตหัวสดและปริมาณแป้งในหัวสดหรือเชื้อแป้งมากที่สุด โดยให้ผลผลิตหัวสด 28.8 เปอร์เซ็นต์ และผลผลิตแป้ง 1,659 กิโลกรัมต่อไร่

**ลักษณะประจำพันธุ์**

- เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับปลูกปลายฤดูฝน เนื่องจากให้ความงอกเร็ว เปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงกว่าพันธุ์มาตรฐานที่เกษตรกรนิยมปลูกทุกพันธุ์ จึงเป็นโอกาสให้เจริญเติบโตได้เร็วในช่วงระยะแตกของการเจริญเติบโตคือในช่วงอายุ 1-2 เดือนหลังปลูก ซึ่งในขณะนั้นดินยังคงมีความชื้นอยู่ หลังจากนั้นจะอยู่ในช่วงฤดูแล้งยาวนาน 4-5 เดือน
- ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์มาตรฐานที่เกษตรกรนิยมปลูกทุกพันธุ์ โดยให้ผลผลิตหัวสด 6.08 ตัน ต่อไร่ สูงกว่าพันธุ์ระยอง 90, ระยอง 5, เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 เท่ากับ 14, 14, 12 และ 12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ให้ผลผลิตแป้ง 1.71 ตันต่อไร่ สูงกว่าพันธุ์สูง ระยอง 90, ระยอง 5,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 เท่ากับ 17, 24, 16 และ 26 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลผลิตมันเส้น 2.35 ตันต่อไร่ สูงกว่าพันธุ ระยอง 90, ระยอง 5, เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 เท่ากับ 15, 19, 14 และ 19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

- ให้ปริมาณแป้งในหัวสดสูงกว่าพันธุ์มาตรฐานที่เกษตรกรนิยมปลูกทุกพันธุ์ โดยให้ปริมาณแป้งในหัวสด 27.7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พันธุ์ ระยอง 90, ระยอง 5, เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 ให้ปริมาณแป้งในหัวสดเท่ากับ 26.8, 25, 26.6 และ 23.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
- เมื่อใช้หัวสดเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลให้ปริมาณเอทานอลมากกว่า 1,026 ลิตรต่อไร่ สูงกว่าพันธุ์ระยอง 90, ระยอง 5, เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 ดังรูป 2.12 (สิวาพร และคณะ, 2551)

**รูปที่2.12** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 7

**ที่มา** : http://kasetnana.blogspot.com/2013/04/7.html (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

**10. พันธุ์ระยอง 9**

มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 เป็นลูกผสมปี 2535 ได้จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง 2 สายพันธุ์ คือ CMR31-19-23 เป็นแม่และ OMR29-20-118 เป็นพ่อ ผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง และประเมินศักยภาพของพันธุ์ในพื้นที่ภาคตะวันออกและภาคตะวันออกแยงเหนือรวมทั้งสิน 38 แปลงทดลอง ระหว่างปี 2535-2542 สายพันธุ์ระยอง 9 ให้ผลผลิตแป้งและผลผลิตมันแห้งสูง ในปี 2544-2547 ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองจึงร่วมมือกับสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยในการประเมินผลผลิตเอทานอลจากสายพันธุ์ระยอง 9 ร่วมกับลูกผสมชุดเดียวกันนี้อีก 2 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับพันธุ์มาตรฐาน ได้แก่ ระยอง 5 ระยอง 72 ระยอง 90 และเกษตรศาสตร์ 50 ในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้มันเส้นเป็นวัตถุดิบ

แล้วคัดเลือกพันธุ์ให้ผลผลิตเอทานอลสูงจากระดับห้องปฏิบัติการ 2 พันธุ์ คือ สายพันธุ์ระยอง 9 และพันธุ์ระยอง 90 ไปทดลองผลิตเอทานอลในระดับโรงงานต้นแบบขนาดกำลังผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1,500 ลิตร ที่ใช้หัวสดเป็นวัตถุดิบ พบว่า สายพันธุ์ระยอง 9 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าพันธุ์ระยอง 90 สายพันธุ์ระยอง 9 จึงเหมาะสำหรับอุตสาหกรรมเอทานอล และผลิตภัณฑ์แปรรูปอื่นๆ ได้แก่ แป้งมัน มันเส้น และมันอัดเม็ด

**ลักษณะประจำพันธุ์**

- ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ลำต้นสีน้ำตาลอ่อน ถึงสีน้ำตาลอมเหลือง ความสูง หัวสีน้ำตาล 235 เซนติเมตร ลำต้นสูงตรง โดยทั่วไปไม่ค่อยมีการแตกกิ่ง ในพื้นที่ที่มีการแตกกิ่งจะแตกกิ่งที่ระดับความสูง 160-180 เซนติเมตร กิ่งทำมุมแคบ 45-60 องศา มีจำนวนลำที่ใช้ทำพันธุ์ 1-3 พันธุ์ต่อต้น ก้านใบสีเขียวอ่อนอมชมพู ใบกลางเป็นรูปใบหอก ใบและยอดอ่อนสีเขียวอ่อน หัวสีเขียวอ่อน เนื้อของหัวสีขาว

- ลักษณะทางเกษตรศาสตร์ให้ผลผลิตหัวสด 4.9 ตันต่อไร่สูงกว่าพันธุ์ระยอง 5 ร้อยละ 3 เมื่อเก็บเกี่ยวในฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์แป้ง 24.4 เปอร์เซ็นต์มันแห้ง 42.9 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตมันแห้ง 2.11 ตันต่อไร่ เมื่อเก็บเกี่ยวในฤดูแล้ง เปอร์เซ็นต์แป้งจะสูงขึ้นเป็น 28-30 เปอร์เซ็นต์

- ลักษณะทางเคมี เมื่ออายุ 8 เดือน 12 เดือนและ 18 เดือน มีแป้งจากการวิเคราะห์ทางเคมี 28.9 30.8 และ 29.3 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณเอทานอล 191 ลิตร 208 ลิตร และ 194 ลิตร จากหัวมันสด 1 ตัน ดังรูป 2.13 (สิวาพร และคณะ, 2551)

**รูปที่ 2.13** มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9

ที่มา : http://kasetnana.blogspot.com/2013/05/9.html (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

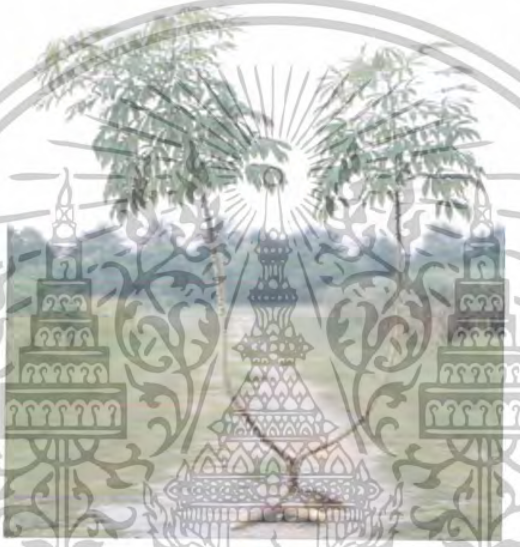
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**11. พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50**

พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีชื่อเดิมว่า MKUC 28-77-3 ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ระยอง 1 และพันธุ์ (CMC76dV43) 21-1 หรือพันธุ์ระยอง 90 ที่สถานวิจัยศรีราชาของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ยอดอ่อนสีม่วง ไม่มีขน ใบที่เจริญเต็มที่มีสีเขียวอมม่วง ต้นสูงประมาณ 2.0-3.0 เมตร ลำต้นโค้งมีสีเทาเงินแตกกิ่งน้อย หัวมีขนาดสม่ำเสมอ เปลือกสีน้ำตาลอ่อน เนื้อสีขาว ส่วนใหญ่ไม่พบการติดดอกออกผลภายใน 1 ปี ดอกและผลไม่ดก ดังรูป 2.14 (สิวาพร และคณะ, 2551)



**รูปที่ 2.14** มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50

**ที่มา** : http://kasetnana.blogspot.com/2013/05/9.html (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

**12. พันธุ์ศรีราชา 1**

พันธุ์ศรีราชา 1 ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ MKU 2- 162 กับระยอง 1 โดยผสมที่สถานีวิจัยศรีราชา จังหวัดชลบุรี ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปี พ.ศ. 2526

**ลักษณะประจำพันธุ์**

สีของยอดอ่อน ก้านใบ และใบใกล้เคียงกับพันธ์ระยอง 1 และใบใกล้เคียงกับพันธุ์ระยอง 1 แตกต่างจากพันธุ์ระยอง 1 คือ แผ่นใบกว้างของพันธุ์ศรีราชา 1 จะเป็นรูปหอก ส่วนของพันธุ์ระยอง 1 จะมีรอยคอดและโป่งบริเวณปลายเล็กน้อย และพันธุ์ศรีราชา 1 สีภายนอกของหัวสีขาวนวล เนื้อเป็นสีครีม ดังรูป 2.15 (สิวาพร และคณะ, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ 2.15** มันสำปะหลังพันธุ์ศรีราชา 1

**ที่มา** : http://www2.rdi.ku.ac.th/newweb/?cat=1489 (วันที่สืบค้น 31 มกราคม 2560)

**13. พันธุ์ห้วยบง 60**

มันสำปะหลังพันธุ์ใหม่ ห้วยบง 60 เป็นพันธุ์มันสำปะหลังที่พัฒนาโดยความร่วมมือของนักวิชาการจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร) และมูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย พันธุ์ใหม่นี้เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ระยอง 5 และเกษตรศาสตร์ 50 ตั้งแต่ พ.ศ. 2534 โดยมีรหัสชื่อเดิมคือ สายพันธุ์ MKUC 34-114-206 และเข้าสู่ขบวนการปรับปรุงพันธ์พืช โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ ตั้งแต่ พ.ศ. 2535-2540 และทำการทดสอบพันธุ์ใน พ.ศ. 2541-2544 ในท้องที่ 10 จังหวัดสำคัญที่มีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังมาก ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี สระแก้ว จันทบุรี ระยอง และกาญจนบุรี รวมจำนวน 30 การทดลอง

ผลการทดลองพันธุ์พบว่า สายพันธุ์ MKUC 34-114-206 ให้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ย 5,751 กิโลกรัม/ไร่ โดยมีแป้งในหัวเฉลี่ย 25.4% ทั้งนี้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ยที่ได้สูงกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดในประเทศอยู่ 369 กิโลกรัม/ไร่ หรือสูงกว่า 70% นอกจากนี้พันธ์ดังกล่าวมีเสถียรภาพของผลผลิตและปริมาณแป้งในหัวสูง ตลอดจนคุณสมบัติแป้งของพันธุ์นี้มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้ง นอกจากนั้นเป็นพันธุ์ที่งอกดี ลำต้นสูงใหญ่ สามารถคลุมวัชพืชได้ดี ตลอดจนเป็นลูกผสมของพันธุ์ที่นิยมปลูกอยู่แล้ว จึงมีศักยภาพที่จะเป็นพันธุ์ที่ประสบความสำเร็จสมควรที่จะขยายพันธุ์ส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกกันต่อไป

**ลักษณะประจำพันธุ์**

ความสูง 180-250 ซม. ยอดสีม่วงอ่อน ก้านใบสีเขียวอมม่วง ลำต้นสีเขียวเงิน สีเปลือกหัวน้ำตาล สีเนื้อหัวสีขาว ดังรูปที่ 2.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ 2.16** มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60

**ที่มา** : http://www2.rdi.ku.ac.th/newweb/?p=18098 (วันที่สืบค้น 5 กุมภาพันธ์ 2560)

**14. มันสำปะหลังพันธุ์ CMR35-22-196**

มันสำปะหลังพันธุ์ CMR35-22-196 เป็นมันสำปะหลังสำหรับอุตสาหกรรม ที่ได้จากการผสมข้าม โดยใช้พันธุ์ระยอง 5 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงเป็นแม่ และพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง คือ พันธุ์ OMR29-20-118 เป็นพ่อ เริ่มดำเนินการในปี 2535 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ผ่านการคัดเลือกและประเมินศักยภาพของพันธุ์ที่ศูนย์วิจัย ศูนย์บริการวิชาการ และไร่เกษตรกร ในจังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญในภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวม 14 จังหวัด จำนวน 38 แปลงทดลอง ในปี 2535-2542 พบว่า ให้ผลผลิตแป้งและผลผลิตมันแห้งสูง เป็นที่พอใจของเกษตรกร อย่างต่อเนื่องและเป็นที่รู้จักในชื่อที่เรียกกันทั่วไปว่า “พันธุ์เขียวปลดหนี้” คำว่า “เขียว” มาจากสีของลำต้น นอกจากนี้ยังมีเอกชนนำต้นพันธุ์ไปจำหน่ายให้เกษตรกรโดยใช้ชื่อว่า “พันธุ์มังกรหยก” ด้วย

**ลักษณะประจำพันธุ์**

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ลำต้นสีเขียวเงิน ความสูงประมาณ 170-220 เซนติเมตร ลำต้นโค้งเล็กน้อย มีน้ำหนักต้นดี มีการแตกกิ่งที่ระดับความสูงใกล้ยอด กิ่งทำมุม 60-90 องศากับลำต้นมีจำนวนลำที่ใช้ทำพันธุ์ 1-3 ลำต่อต้น ส่วนใหญ่มี 2 ลำ ก้านใบสีเขียวอมแดง ใบกลางเป็นรูปใบหอก ใบแก่สีเขียวเข้ม ยอดอ่อนสีน้ำตาลอมเขียว เปลือกนอกของหัวสีน้ำตาล เนื้อของหัวสีขาว

2. ลักษณะทางเกษตรศาสตร์ ให้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ย 4.77 ตันต่อไร่ ใกล้เคียงกับพันธุ์ระยอง 50 เมื่อเก็บเกี่ยวในฤดูฝน มีเปอร์เซ็นต์แป้ง 25.8 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตแป้ง 1.25 ตันต่อไร่ มีเปอร์เซ็นต์มันแห้ง 42.8 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตมันแห้ง 20 ตันต่อไร่ เมื่อเก็บเกี่ยวในฤดูแล้ง เปอร์เซ็นต์แป้งสูงขึ้นเป็น 29-32 เปอร์เซ็นต์ ดังรูป 2.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

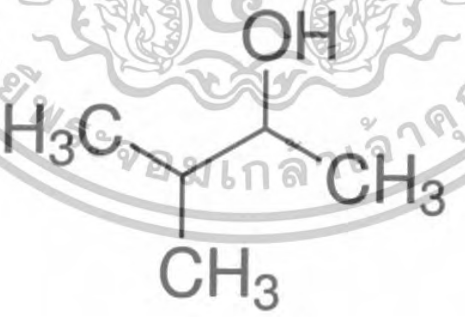
**รูปที่ 2.17** มันสำปะหลังพันธุ์ CMR35-22-196

**ที่มา** : http://www.kasetporpeang.com/forums/index.php?topic=192.0 (วันที่สืบค้น 5 กุมภาพันธ์ 2560)

## 2.2 บิวทานอล (Butanol)

### 2.2.1 คุณสมบัติของบิวทานอล

บิวทานอล หรือ บิวทิลแอลกอฮอล์เป็นสารที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 4 คาร์บอนอะตอม จัดอยู่ในกลุ่มอะลิฟาติกแอลกอฮอล์ (4-carbon Aliphatic Alcohol) เป็นไฮโดรคาร์บอนสายตรง มีสูตรโมเลกุล $C_4H_9OH$ และมีโครงสร้างทางเคมี ดังรูปที่ 2.18 บิวทานอลเป็นสารที่ไม่ติดสี ติดไฟได้ เป็นของเหลวที่มีคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำเล็กน้อย (Slightly Hydrophobic Liquid) สามารถรวมกับสารทำละลายอินทรีย์อื่น ได้เกือบทั้งหมดอย่างสมบูรณ์ แต่สามารถแยกออกจากน้ำ หรือสารเคมีอื่นๆ ที่เป็นแอลกอฮอล์กลุ่มเดียวกัน เช่น เมทานอล เอทานอล และโพรพานอล (ชลติยาและคณะ, 2555)




**รูปที่ 2.18** โครงสร้างทางเคมีของบิวทานอล

**ที่มา :** http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/110949?lang=en&region=TH (วันที่สืบค้น 24 มกราคม 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.2 การใช้บิวทานอลเป็นเชื้อเพลิงเหลว

ไบโอบิวทานอล เป็นบิวทานอลที่ผลิตได้จากกระบวนการทางชีวภาพ สามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงเหลวในเครื่องยนต์ได้ในอนาคตอันใกล้ บิวทานอลจัดเป็นสารที่มีข้อดีกว่าเอทานอลหลายประการ เมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมี รวมถึงคุณสมบัติทางระดับพลังงาน กล่าวคือไบโอบิวทานอลมีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับก๊าซโซลีน (น้ำมันเบนซิน) มากกว่าเอทานอล เมื่อเปรียบเทียบในปริมาณที่เท่ากันเครื่องยนต์จะใช้เอทานอลหมดเร็วกว่าบิวทานอล นอกจากนี้บิวทานอลมีความเป็นขั้วต่ำกว่าจึงสามารถผสมกับก๊าซโซลีนโดยทั่วไปในอัตราผสมใดก็ได้ การใช้ บิวทานอลไม่ต้องปรับเปลี่ยนเครื่องยนต์ ถึงแม้ว่ารถยนต์ใช้บิวทานอลสูงกว่าก๊าซโซลีน แต่พบว่าการใช้ไบโอบิวทานอลมีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรคาร์บอน และการปลดปล่อยสารพิษ $NO_x$ ลดลงมาก ซึ่งเป็นเรื่องสำคัญต่อสิ่งแวดล้อมโลก

ข้อได้เปรียบของการใช้บิวทานอลมากกว่าเอทานอล คือ

1. การระเหย (Volatility) ต่ำกว่า จึงเป็นพิษน้อยกว่า (มีค่า Reid Vapor Pressure (RVP) ต่ำกว่า 7.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกันเอทานอล)
2. บิวทานอลไม่ดูดซับความชื้น (จึงมีค่า Hygroscopicity ต่ำกว่า)
3. บิวทานอลมีค่าการกัดกร่อนต่ำกว่า
4. การใช้บิวทานอลปลอดภัยกว่าเอทานอล เนื่องจากมีค่าการติดไฟสูงกว่า และมีแรงดันเป็นไอต่ำกว่า
5. มีค่าออกเทนสูงกว่า
6. บิวทานอลมีค่าพลังงานสูงกว่าเอทานอล โดยบิวทานอลมีค่า 110,000 BTU ต่อแกลลอน ในขณะที่เอทานอลมีค่า 84,000 BTU ต่อแกลลอน
7. สามารถผสมรวมกับทั้งก๊าซโซลีนและดีเซลได้สมบูรณ์

ดังนั้นจึงทำให้การใช้บิวทานอลเป็นเชื้อเพลิงมีความปลอดภัย รวมทั้งอุปกรณ์ การเก็บ และการเติมบิวทานอลยังสามารถใช้อุปกรณ์ที่ใช้ในสถานีเติมน้ำมันและรถยนต์โดยไม่ต้องปรับเปลี่ยนใดๆ เลย ในขณะที่การผสมเอทานอลให้อยู่ในระบบต้องจำกัดให้อยู่ในช่วงเวลาสั้นๆจึงเหมาะสม อีกทั้งบิวทานอลยังไม่กระทบต่อระบบการเก็บและการเติมของเชื้อเพลิงเหลวเหล่านี้อีกด้วย (ชนิกาและคณะ, 2555)

## 2.3 กระบวนการผลิตตัวทำละลาย อะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล ด้วยกระบวนการหมัก

### 2.3.1 รูปแบบของกระบวนการหมัก

กระบวนการหมักประกอบด้วย 2 ระยะที่แตกต่างกัน โดยสอดคล้องกันกับกลไกการสร้างผลิตภัณฑ์ 2 ลักษณะด้วย กล่าวคือในระยะแรกจะมีการผลิตกรดอินทรีย์ อันได้แก่ กรดบิวทิริก และกรดอะซิติก ในช่วงแรก ซึ่งเป็นเหตุให้ค่าพีเอชในน้ำหมักลดลง ช่วงนี้นิยมเรียกว่า ช่วงของการผลิต

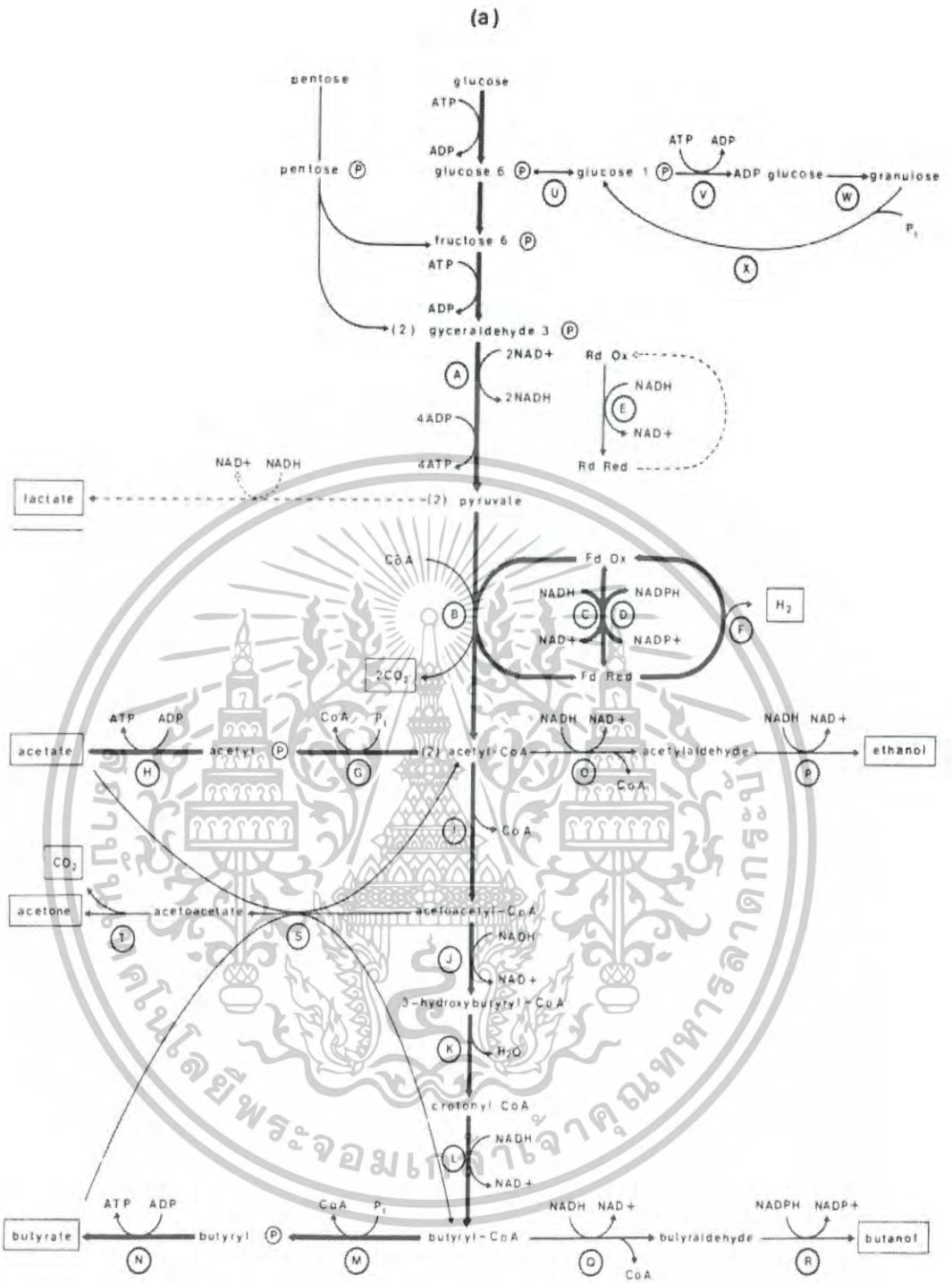
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอินทรีย์ หรือ Acidogenesis หลังจากนั้นระยะที่สองซึ่งเป็นช่วงของการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ อันได้แก่ อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ซึ่งปกติจะเกิดขึ้นภายหลัง ในช่วงนี้ค่าพีเอชของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และจะมีการนำกรดอินทรีย์ที่ผลิตได้ในช่วงแรกมาใช้เป็นบางส่วน ระยะที่สองนี้นิยมเรียกว่า ระยะของการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ หรือ Solventogenesis นอกจากนี้ในระหว่างกระบวนการหมักยังมีการผลิตแก๊สไฮโดรเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ออกมาตลอดกระบวนการด้วย (สุนทร และอภิชัย, 2555)

**2.3.2 ชีวเคมีของกระบวนการหมัก**

รูปแบบของการหมักแบบกะของแบคทีเรียในกลุ่ม *Clostridium* sp. สามารถแบ่งได้เป็น 2 ระยะ ได้แก่ ระยะของการสร้างกรดอินทรีย์ (Acidogenic phase) และระยะของการสร้างตัวทำละลายอินทรีย์ (Solventogenic phase) วิถีทางชีวเคมีของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนอนุพันธ์ของสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรต ให้กลายเป็นกรดอินทรีย์ และตัวทำละลายอินทรีย์ รวมทั้งแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สไฮโดรเจนด้วย ดังแสดงในรูปที่ 2.19 ทั้งนี้ น้ำตาลในกลุ่ม Hexose (C6) จะถูกดึงเข้าสู่วิถีของ Embden-Meyerhof glycolytic pathway (EMP) ในระหว่างเกิดเมทาบอลิซึมของแบคทีเรีย เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดไพรูวิก โดยน้ำตาล 1 โมเลกุล จะสามารถเปลี่ยนเป็นกรดไพรูวิกได้ 2 โมเลกุล พร้อมกับมีการปลดปล่อยพลังงาน ATP 2 โมเลกุล และ $NADH+H^+$ จำนวน 2 โมเลกุลด้วย ส่วนน้ำตาล Pentose (C5) จะถูกเมทาบอไลท์ด้วยวิถี Pentose phosphate เกิดการสร้าง Fructose-6-phosphate และ Glycoceraldehyde-3-phosphate ตามลำดับ ก่อนจะเข้าสู่วิถี Embden-Meyerhof glycolytic ต่อไป กรดไพรูวิก ที่สร้างขึ้นจากวิถี EMP จะถูกเปลี่ยนเป็น Acetyl-CoA คาร์บอนไดออกไซด์ และ Reduce feredoxin โดยเอนไซม์ Pyruvateferredoxin oxidoreductase ที่มีตัวเร่งปฏิกิริยาเป็น Coenzyme A (CoA) ทั้งนี้ Acetyl-CoA ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาดังกล่าวจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นของทุกการสร้างผลผลิตในกระบวนการหมัก โดย Acetyl-CoA 2 โมเลกุลจะถูกเปลี่ยนเป็น Acetoacetyl-CoA ซึ่งต่อมาจะถูกใช้ในการสร้างกรดบิวทิริกโดยจะทำให้ค่าพีเอชของน้ำหมักลดลงในช่วงนี้ นอกจากนี้ Acetoacetyl-CoA ยังถูกใช้เพื่อสร้าง Acetate ด้วย ซึ่งต่อมา Acetate จะถูกเปลี่ยนเป็นอะซิโตนและคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยเอนไซม์ในระบบ Acetoacetate decarboxylase ปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาที่กลับไม่ได้ ทั้งนี้กลไกการผลิตอะซิโตนนั้นเพื่อป้องกันการผลิตกรดบิวทิริกในปริมาณที่เป็นพิษและช่วยกำจัด 2 ปฏิกิริยาที่สร้าง $NAD^+$ ด้วย ซึ่งถ้าต้องการสร้าง $NAD^+$ แบคทีเรียจะมีกลไกในการเปลี่ยน Butyrate กลับไปเป็น Butyryl-CoA แล้ว Butyryl-CoA จะถูกลดรูปเป็นบิวทานอลต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าการผลิตบิวทานอลจะมากกว่าการผลิตเอทานอลและแก๊สไฮโดรเจนอย่างมาก สำหรับเอทานอลจะถูกสร้าง Acetoacetyl-CoA เช่นกัน ผ่าน 2 ปฏิกิริยา โดยเริ่มจาก Acetoacetyl-CoA ถูกเปลี่ยนเป็น Acetaldehyde โดยเอนไซม์ Acetaldehyde dehydrogenase ก่อนที่ Acetaldehyde จะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลด้วยเอนไซม์ Ethanol dehydrogenase พร้อมกับการใช้ $NADH + H^+$ ถึง 2 โมเลกุลเพื่อสร้าง $NAD^+$ ด้วย (สุนทรและอภิชัย, 2555) รูปที่ 2.19 แสดงชีวเคมีของกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.19** วิถีทางชีวเคมีของแบคทีเรีย *C. acetobutylicum* ปฏิกิริยาที่แสดงด้วยลูกศรชนิดหนาเกิดในระยะของการสร้างกรดอินทรีย์ (Acidogenic phase) ปฏิกิริยาที่แสดงด้วยลูกศรชนิดบางเกิดในระยะของการสร้างตัวทำละลายอินทรีย์ (Solventogenic phase)

**ที่มา :** สุนทร และอภิชัย (2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หมายเหตุ :** เอนไซม์ต่างๆแสดงตามตัวอักษรดังต่อไปนี้ (A) glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; (B) pyruvate-ferredoxin oxidoreductase; (C) NADH-ferredoxin oxidoreductase; (D) NADPHferredoxin oxidoreductase; (E) NADH rubredoxin oxidoreductase; (F) hydrogenase; (G) phosphate acetyltransferase (phosphotransacetylase); (H) acetate kinase; (i) thiolase (acetyl-CoA acetyltransferase); (J) 3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase; (K) crotonase; (L) butyryl-CoA dehydrogenase; (M) phosphate butyltransferase (phosphotransbutyrylase); (N) butyrate kinase; (O) acetaldehyde dehydrogenase; (P) ethanol dehydrogenase; (Q) butyraldehyde dehydrogenase; (R) butanol dehydrogenase; (S) acetoacetyl-CoA:acetate/butyrate:CoA transferase; (T) acetoacetate decarboxylase; (U) phosphoglucomutase; (V) ADP-glucose pyrophosphorylase; (W) granulose (glycogen) synthase; (X) granulose phosphorylase

**2.3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในกระบวนการเพาะเลี้ยง**

ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนสภาพจากการผลิตกรดอินทรีย์ไปเป็นการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์และการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการเพาะเลี้ยงสูงสุด ในการผลิตบิวทานอลจำเป็นต้องมีการควบคุมสภาพแวดล้อมให้มีความเหมาะสม โดยมีองค์ประกอบปัจจัยสำคัญต่างๆ ดังนี้

**1. สารตั้งต้นและความเข้มข้นของสารอาหาร**

ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลเป็นสิ่งสำคัญในการหมักอะซิโตน บิวทานอลและเอทานอล ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำ (ต่ำกว่า 20 กรัมต่อลิตร) การหมักจะมุ่งไปสู่กระบวนการสร้างกรด (Acidogenesis phase) โดยผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้เพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามถ้าความเข้มข้นสูงๆ (สูงกว่า 60 กรัมต่อลิตร) กระบวนการจะผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากกว่าและที่ความเข้มข้นสูงกว่า 80 กรัมต่อลิตร น้ำตาลจะไม่ถูกหมักซึ่งเป็นผลมาจากการยับยั้งของผลิตภัณฑ์ (Product inhibition) ขณะที่ความเข้มข้นสูงถึง 120 กรัมต่อลิตร กิจกรรมการหมักจะเกิดขึ้นได้เพียงเล็กน้อยซึ่งอาจเป็นเพราะการยับยั้งของวัตถุดิบ (Substrate inhibition) (สุนทร และอภิชัย, 2555)

**2. อุณหภูมิ**

อุณหภูมิในการหมักมีผลต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์อย่างมาก อัตราการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักโดยใช้น้ำตาลเป็นวัตถุดิบนั้นจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วงระหว่าง 30-33 องศาเซลเซียส แต่จะลดลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ผลที่คล้ายกันนี้ถูกพบในการหมักโดยใช้อาหารสังเคราะห์ (Synthetic medium) (สุนทร และอภิชัย, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. ออกซิเจน**

จากการศึกษาเชื้อ *Clostridium* sp. เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน การสัมผัสกับออกซิเจนในการหมักไม่เป็นอันตรายถ้าเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆ อย่างไรก็ตามถ้าสัมผัสกับออกซิเจนมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 40-60 ไมโครโมลาร์ ความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสของเชื้อจุลินทรีย์จะลดลง และการเจริญ การสังเคราะห์ DNA RNA และโปรตีนจะหยุดชะงัก และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีอากาศ พบว่า มีอัตราการผลิดกรดบิวทาเรท แต่ไม่พบอัตราการผลิตอะซิเตทหรือมีการผลิตลดลง รวมถึงมีการลดลงของ ATP ในเซลล์ด้วย อย่างไรก็ตามสภาวะการเจริญและเมทาบอลิซึมของเชื้อจุลินทรีย์จะกลับคืนสู่สภาพเดิมเมื่อเข้าสู้สภาวะไม่มีออกซิเจนอีกครั้ง (สุนทร และอภิชัย, 2555)

**4. ความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช)**

ระดับความเป็นกรดด่างในน้ำหมักเป็นตัวกำหนดการใช้น้ำตาลของจุลินทรีย์ โดยที่หากน้ำหมักมีความเป็นกรดด่างต่ำ แสดงว่าผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ของการเพาะเลี้ยงเป็นกรด ในทางกลับกันถ้ารักษาความเป็นกรดด่างไว้ที่ค่าต่ำๆ ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นเป็นตัวทำละลาย ช่วงความกรดด่างอยู่ในช่วงกว้าง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และสภาวะอื่นๆในการเพาะเลี้ยง ช่วงความเป็นกรดด่างที่พบการสร้างสารละลายมักอยู่ในช่วง 3.8-5.5 (สุนทร และอภิชัย, 2555)

## 2.4 เชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล

อนุกรมวิธานของเชื้อ *Clostridium* sp. เป็นดังนี้

Kingdom: Bacteria

Division: Firmicutes

Class: Clostridia

Order: Clostridiale

Family: Clostridiaceae

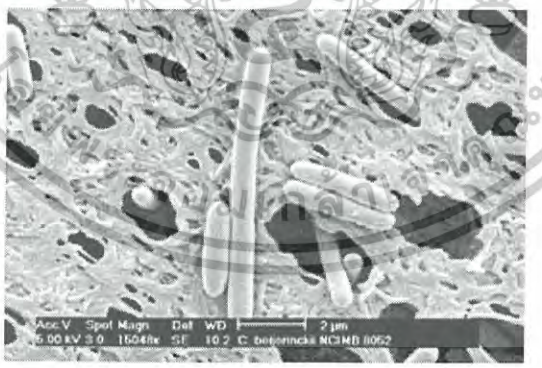
Genus: *Clostridium*

เชื้อ *Clostridium* sp. แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อน มีความสามารถในการเคลื่อนที่ได้และสามารถสร้างสปอร์ชนิดเอนโดสปอร์ (endospore) โดยสปอร์มีรูปร่างได้ทั้งกลมและรี การสร้างสปอร์ของแบคทีเรีย จะทำให้แบคทีเรียสามารถทนทานอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ สามารถพบแบคทีเรียชนิดนี้ได้ในรูปสปอร์ กระจายทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ ของเสีย ลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ ทั้งนี้บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ (Exotoxin) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ได้ เช่น *C. tetani* *C. botulinum* เป็นต้น อย่างไรก็ตามในช่วงศตวรรษที่ 20 เชื้อ *Clostridium* sp. ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีความสามารถในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ โดยเฉพาะสายพันธุ์ *C. acetobutylicum* *C. beijerinckii* และ *C. saccharobutylicum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากที่กล่าวมาในข้างต้นแบคทีเรีย *Clostridium* sp. สามารถใช้น้ำตาลได้หลากหลายชนิด เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมัก โดยวัตถุดิบที่ถูกใช้เป็นสารตั้งต้นแบบดั้งเดิมในกระบวนการหมักอะซิโตน บิวทานอล และ เอทานอลทางการค้านั้น ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวไรย์ เป็นต้น ทั้งนี้วัตถุดิบเหล่านั้นมีราคาค่อนข้างสูง จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาวัตถุดิบทางเลือกใหม่ที่มีราคาถูกกว่า เช่น วัตถุดิบประเภทแป้ง (แป้งสาคู แป้งมันฝรั่ง และแป้งมันสำปะหลัง) ของเสียจากการเกษตร วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และ Dried distiller's grain and soluble (DDGS) เป็นต้น นอกจากจะเป็นการใช้ประโยชน์จากของเสียทางการเกษตรแล้วยังเป็นการช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมอีกทางหนึ่ง ทำให้ไม่มีปัญหาในเรื่องของการขาดแคลนวัตถุดิบในการหมัก

*C. beijerinckii* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ และมันจะแยกได้จากตัวอย่างดิน โดย *C. beijerinckii* NCIMB 8052 เป็นเชื้อที่สามารถย่อยน้ำตาลได้ จัดเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Strictly anaerocic) มีรูปร่างเป็นแท่ง มีแฟลกเจลลายื่นออกมารอบๆ เซลล์ (Peritrichous flagella) ในระหว่างการหมักจะผลิตกรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดแลคติก แก๊สไฮโดรเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล จึงได้รับความสนใจในด้านไบโอเทคโนโลยี เพื่อนำมาใช้ในการผลิตตัวทำละลายพวกบิวทานอล อะซิโตน และไอโซโพรพานอล โดยสามารถเจริญเติบโตได้ดีและใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ราคาถูก จึงสามารถนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมได้จริง การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของเซลล์ในวงจรชีวิตคือ ในช่วง early exponential เซลล์จะมีรูปร่างเป็นแท่งยาว ในช่วงการผลิตกรดซึ่งจะอยู่ในช่วง stationary เซลล์จะสั้นลง และอ้วนขึ้น (Jones และ Woods, 1986) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยาของ *Clostridium beijerinckii* แสดงดังรูปที่ 2.20



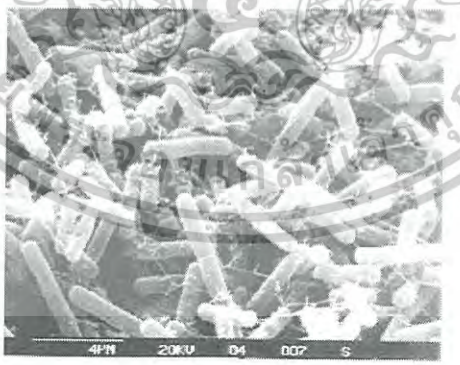

**รูปที่ 2.20** ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย *Clostridium beijerinckii*
**ที่มา**: http://genome.jgi.doe.gov/clobe/clobe.home.html (วันที่สืบค้น 7 ก.ค 60)

*C. saccharobutylicum* มีรูปร่างเป็นแท่ง ตรงปลายมน ขนาดเฉลี่ย 1.4 × 6.3 ไมโครเมตร เชื้ออาจอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ในตอนเริ่มต้นย้อมติดสีแกรมบวก เมื่อแก่จะย้อมติดสีแกรมลบ ช่วงท้ายของ Exponential เซลล์จะมีลักษณะบวมมีรูปร่างเป็นกระบอกยาสูบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Cigar shaped) และจะหลั่งเมือกหรือแคปซูลออกมานอกเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างนี้เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนเมทาบอลิซึมจากช่วงการผลิตกรดไปเป็นช่วงการผลิตตัวทำละลาย มีเอนโดสปอร์เป็นรูปไข่ขนาด 1.1-1.8 x 1.7-3.9 ไมโครเมตร ขนาดโคโลนีบนอาหาร CBM มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร นูน สีเหลือง ผิวเรียบ ขอบกลม สามารถเจริญในอุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตตัวทำละลายคือ 30-34 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมคือ 6.2-7.0 สามารถหมักน้ำตาลได้หลายชนิดเช่น อะราบิโนส ไซโลส กลูโคส แมนโนส เซลโลไบโอส แลคโตส มอลโตส เป็นต้น ในอุตสาหกรรมนำมาใช้ในการหมักเพื่อผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล จากนั้นตาลหรือแป้ง การผลิตในอุตสาหกรรมมักใช้โมลาสเสริมไนโตรเจน โดยมากใช้โมลาสที่มีน้ำตาลหมักได้ 6-7.5% ที่อุณหภูมิ 29-33 องศาเซลเซียส พีเอช 5.2-6.4 มีผลได้ตัวทำละลาย 27-33% ได้ความเข้มข้นของตัวทำละลายประมาณ 17-20 กรัมต่อลิตร เป็นบิวทานอลประมาณ 55- 74% (Keis และคณะ, 2001)

*C. acetobutylicum* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Obligate anaerobic bacteria) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive) มีรูปร่างเป็นแท่ง (Rods shape) ขนาด 0.6-0.9 x 2.4-4.7 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลารอบๆเซลล์ (Peritrichous flagella) สร้างเอนโดสปอร์รูปไข่ (Ovel) มีตำแหน่งของสปอร์ค่อนข้างไปทางปลายเซลล์ข้างใดข้างหนึ่ง ดังรูปที่ 2.21 ไม่มีเอกโซสปอเรียม (Exosporium) ไม่มีรยางค์ (Appendage) ผนังเซลล์ประกอบด้วย DL-diaminopimelic acid ลักษณะโคโลนีเป็นแบบกลม (Circular) ขอบไม่เรียบ (Irregular) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-5 ไมโครเมตร สีของโคโลนีเป็นสีครีม ผิวเป็นมัน และโปร่งแสง (สุนทร และอภิชัย, 2555) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยาของ *Clostridium acetobutylicum* แสดงดังรูปที่ 2.21




**รูปที่ 2.21** ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum*
**ที่มา**: https://www.e-education.psu.edu/egee439/node/648
(วันที่สืบค้น 24 มกราคม 2560)

วงจรชีวิตและการเจริญของแบคทีเรีย *C. acetobutylicum* สามารถแบ่งได้ 4 รูปแบบ ซึ่งมีลักษณะการเจริญที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน และสอดคล้องกับการสร้างผลิตภัณฑ์ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การเจริญในสภาวะปกติ (Vegetative cell) จะพบเซลล์ที่มีรูปร่างเป็นท่อน (Rods shape) ซึ่งอาจจะพบในลักษณะที่เป็นเซลล์เดี่ยว (Single cell) หรืออยู่กันเป็นคู่ (Pair) ตลอดจนอยู่เรียงกันเป็นสายโซ่ยาวก็ได้

2. รูปร่างแบบคลอสติเดีย (Clostridia) เซลล์จะมีลักษณะคล้ายกระบอกยาสูบ (Cigar shape) การเจริญในขั้นนี้ เซลล์จะมีการสร้างสารพวก Granulose สะสมภายในเซลล์ทำให้เซลล์เกิดการพองขึ้น

3. Forespores จะเกิดขึ้นในกรณีที่สภาวะแวดล้อมเริ่มไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้เซลล์เริ่มมีการสร้าง Forespores และจะถูกพัฒนาเป็นสปอร์ต่อไป

4. รูปแบบสปอร์ (Spore) เป็นขั้นที่เซลล์สร้างโครงสร้างที่เรียกว่า สปอร์ เพื่อให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ต่อได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

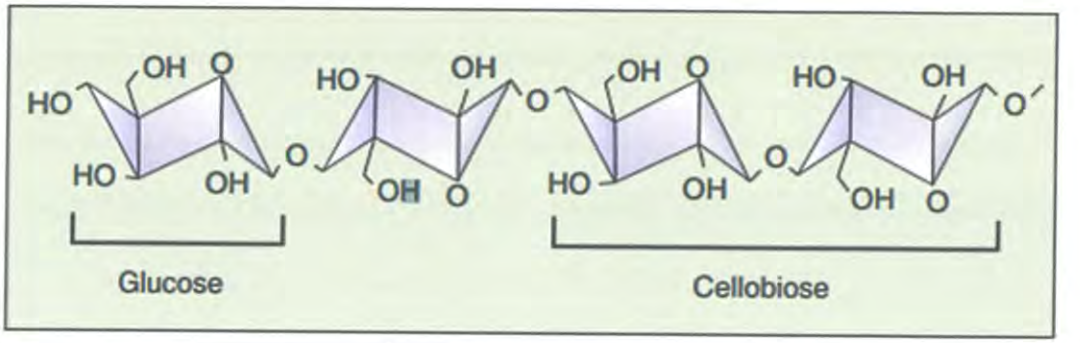
## 2.5 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใย

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเส้นใยจากไม้สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550)

### 2.5.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็นสารพอลิแซคคาไรด์ (Polysaccharides) เส้นตรงที่ประกอบด้วยหน่วยของกลูโคส (anhydroglucose unit) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-ไกลโคซิดิก ในตำแหน่งที่ 1 และตำแหน่งที่ 4 ของกลูโคสที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล ($\beta$-1,4 glycosidic linkage) โดยหน่วยย่อยของเซลลูโลสที่เกิดจากการรวมกันของหน่วยกลูโคสจำนวน 2 หน่วย จะเรียกว่า เซลโลไบโอส (Cellobiose unit) แสดงดังรูปที่ 2.22 ซึ่งส่วนปลายเซลโลไบโอสจะประกอบด้วยส่วนรีดิวซิงค์ (Reducing end group; C-1) ซึ่งเป็นส่วนที่ง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยา และส่วนของนอนรีดิวซิงค์ (Non-Reducing end group; C-4) ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาโดยทั่วไประดับการเกิดพอลิเมอไรเซชั่น (degree of polymerization; DP) ของเซลลูโลสจะเกิดจากการรวมกันของหน่วยกลูโคสจำนวน ประมาณ 1000-3000 หรือ 4000 หน่วย จึงมีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ ซึ่งลักษณะการจัดเรียงตัวของโครงสร้างโมเลกุลเซลลูโลสสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ คือแบบผลึก (crystalline) และแบบอสัญรูป (amorphous) โดยทั่วไปโครงสร้างของเซลลูโลสจะมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ จึงทำให้เซลลูโลสมีความเป็นผลึกสูง อุณหภูมิในการหลอมตัวจึงสูงมาก มักจะเกิดการสลายตัวก่อนถึงอุณหภูมิหลอมตัวโครงสร้างแบบผลึกของเซลลูโลสจะทำให้การซึมผ่านของสารละลายเกิดได้ยากกว่าลักษณะโครงสร้างแบบอสัญรูป จึงทำให้ลักษณะโครงสร้างแบบอสัญรูปมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ง่ายขึ้นเซลลูโลสในธรรมชาติจะมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่างกัน ซึ่งการกระจายน้ำหนักโมเลกุลของเซลลูโลสจะมีความสำคัญต่อสมบัติทางกายภาพ โดยเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ไม่ดี (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.22** โครงสร้างของเซลลูโลส
ที่มา : Chen (2014)

เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเนื้อไม้ซึ่งมีปริมาณมากที่สุด คือ ประมาณร้อยละ 40 ของเนื้อไม้ ทั้งในไม้ใบแคบหรือไม้ตระกูลสน (softwood) และไม้ใบกว้าง (hardwood) โดยทั่วไปจะพบเซลลูโลสอยู่ ร่วมกับลิกนิน เพนโตแซน กัมแทนนิน ไขมันและสารที่ทำให้เกิดสีในต้นไม้ โดยเซลลูโลสจะทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเส้นใยและให้ความแข็งแรงกับต้นไม้ เซลลูโลสสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ตามขนาดของโมเลกุลหรือระดับการเกิดพอลิเมอไรเซชั่น คือ (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550)

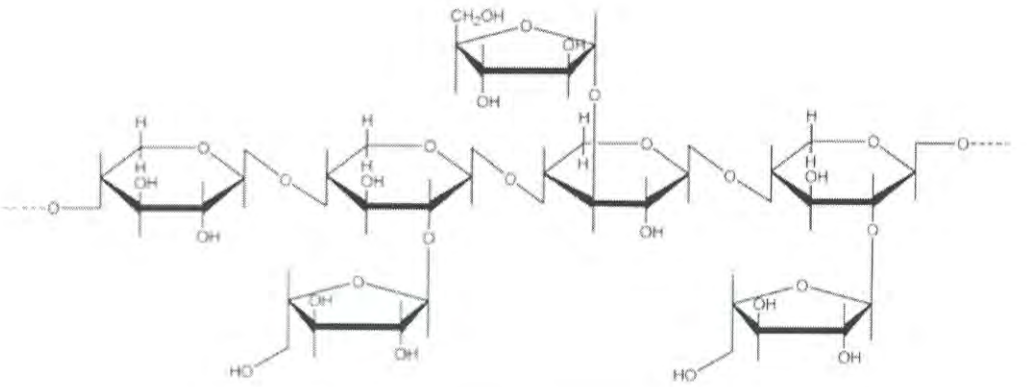
1. แอลฟา เซลลูโลส (Alpha cellulose; DP > 90)
2. เบต้า เซลลูโลส (Beta cellulose; DP = 15-90)
3. แกมม่า เซลลูโลส (Gamma cellulose; DP < 15)

คุณสมบัติที่สำคัญประการหนึ่งของเซลลูโลส คือ เซลลูโลสจะไม่ละลายในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์สะเทิน (neutral organic solvent) เช่น เบนซีน (benzene) แอลกอฮอล์ (alcohol) และอีเทอร์ (Ether) แต่จะละลายได้ดีในกรดเกลือและกรดกำมะถันเข้มข้น ซึ่งความคงทนของเซลลูโลสต่อกรดหรือเอนไซม์จะขึ้นกับโครงสร้างแบบ อสัญรูป เมื่อนำเซลลูโลสไปทำปฏิกิริยาทางเคมีจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทำให้คุณสมบัติของเซลลูโลสเปลี่ยนไป จึงสามารถนำเซลลูโลสไปใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตพลาสติก น้ำตาล เจล ฟิล์ม เส้นใยชนิดใหม่ และสารเคลือบ เป็นต้น (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550)

### 2.5.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีลักษณะคล้ายเซลลูโลส แต่จะประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่แตกต่างกัน 5 ประเภท คือ กลูโคส (glucose) กาแลกโตส (galactose) แมนโนส (mannose) อะราบิโนส (arabinose) ไซโลส (xylose) รวมทั้งกรดกลูโคโลนิก (glucolonic acid) และกรดกาแลกทูโรนิก (galacturonic acid) แสดงดังรูปที่ 2.23 เฮมิเซลลูโลสมีสูตรทางเคมี คือ $(C_6H_{12}O_5)_{2n}$ (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.23 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

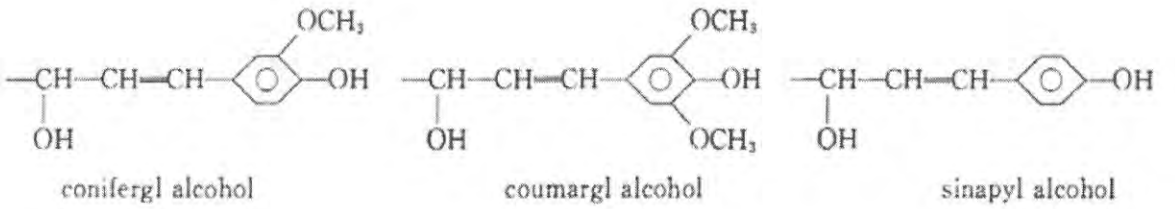
ที่มา : รัชพล (2558)

โดยปกติจะพบเฮมิเซลลูโลสอยู่รวมปะปนกับเซลลูโลส และสารอื่นๆ เช่น ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส ที่พบในไม้เนื้อแข็ง (Hardwood) ได้แก่ ไซเลน (Xylan) และเฮมิเซลลูโลสที่พบในไม้เนื้ออ่อน (Softwood) ได้แก่ กลูโคแมนแนน (Glucomannan) โดยเฮมิเซลลูโลสจะทำหน้าที่เป็นสารยึดเซลลูโลสไว้ด้วยกันและทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงให้กับเส้นใย เฮมิเซลลูโลสสามารถละลายในตัวทำละลายและทำปฏิกิริยาได้ง่ายกว่าเซลลูโลส ดังนั้นเฮมิเซลลูโลสจะเสื่อมสภาพได้ง่ายและสลายตัวได้ดีกว่าเซลลูโลส (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550)

### 2.5.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนอะโรมาติกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง โดยประกอบด้วยหน่วยพื้นฐานที่มีโครงสร้างวงแหวนของฟีนิลโพรเพน (phenylpropane) เชื่อมต่อกันเป็นลักษณะ 3 มิติกับกลุ่มของโพรเพน (Propane) และวงแหวนเบนซีน (Benzene ring) โดยมีการจัดเรียงตัวเป็นแบบอสัญรูป แม้ว่าลิกนินในพืชหรือต้นไม้จะไม่มีโครงสร้างที่แน่นอนชัดเจน แต่ลิกนินจะมีโครงสร้างจากหน่วยพื้นฐานหลัก 3 ส่วนคือ คอนนิเฟอริล แอลกอฮอล์ (coniferyl alcohol) พารา-คูมาริล แอลกอฮอล์ (p-coumaryl alcohol) และซินาพิล แอลกอฮอล์ (sinapyl alcohol) ลิกนินจะทำหน้าที่เป็นสารยึดหรือทำหน้าที่เป็นกาวเชื่อมประสานระหว่างเส้นใยและให้ความแข็งแรงกับเนื้อเยื่อของไม้ จึงมักพบลิกนินอยู่ร่วมกับเซลลูโลส โดยจะพบมากในส่วนของมิดเดิลลาเมลล่า (Middle lamella) โดยทั่วไปลิกนินจะไม่ละลายน้ำ ไม่มีสมบัติด้านความยืดหยุ่น แต่จะมีสมบัติเป็นเทอร์โมพลาสติก (Thermoplastic) คือ มีอุณหภูมิที่อ่อนตัวอยู่ในช่วง 120-200 องศาเซลเซียส เพราะฉะนั้นต้นไม้ที่มีปริมาณลิกนินสูงจึงมีความแข็งแรงทนทานมากกว่าพืชหรือต้นไม้ที่มีปริมาณลิกนินในเนื้อไม้ต่ำ ลิกนินจะถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ลิกเนส (Lignase) หรือ ลิกนินเนส (Ligninase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในเชื้อราไวท์รอท (White rot) (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550) รูปที่ 2.24 แสดงโครงสร้างของลิกนิน

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.24** โครงสร้างของลิกนิน
ที่มา : Chen (2014)

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุนทร และอภิชัย (2555) ได้ศึกษาการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล โดยกระบวนการหมักแบบกะ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนร่วมกับยีสต์เหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยใช้แบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 โดยการทดลองได้ศึกษาผลของการควบคุมพีเอชที่แตกต่างกันในช่วงพีเอช 4.5-6.5 และได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังในช่วง 20-80 กรัมต่อลิตร รวมทั้งศึกษาผลของการใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่แตกต่างกันที่มีผลต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรีย *Cl. Acetobutylicum* TISTR 1462 สามารถใช้แป้งมันสำปะหลังได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการทดลองแบบกะที่ไม่มีการควบคุมพีเอชสามารถผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้ 14.33 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในการทดลองที่มีการควบคุมค่าพีเอชในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์พบว่า ที่พีเอช 5.5 มีการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์สูงสุดคือ 20.08 กรัมต่อลิตร จากผลของความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองในช่วง 20-80 กรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังที่ 60 กรัมต่อลิตร มีการผลิตตัวทำละลายสูงสุด 14.33 กรัมต่อลิตร

กำไล และคณะ (2559) ได้ศึกษาการผลิตบิวทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยการใช้กรดและด่างเจือจางในกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการหมักแบบรวมการย่อยในขั้นตอนเดียว โดยการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริก และโซเดียวไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 ละ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พร้อมการกวน พบว่ากรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) สามารถลดความหนืดระหว่างการปรับสภาพลงอย่างเห็นได้ชัด และได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 0.23 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง ที่เวลา 180 นาที จากนั้นเข้าสู่กระบวนการหมักแบบรวมการย่อยและการหมักในขั้นตอนเดียว ด้วยการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.01 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และเชื้อยีสต์ผงสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* 1.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) โดยปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.5 พบว่าได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 90.9 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลังที่เวลา 180 นาที และได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.32 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่เวลา 36 ชั่วโมงเป็นต้นไป ผลลัพธ์ที่ได้แสดงให้เห็นว่ากากมันสำปะหลังสดเป็นวัตถุดิบทางชีวภาพที่มีศักยภาพสูงในการผลิตเอทานอล ซึ่งเมื่อปรับสภาพก่อนนำไปเข้ากระบวนการหมักแบบ SSF จะทำให้มีประสิทธิภาพในการหมักเท่ากับ 90.62 เปอร์เซ็นต์

อาภาณี (2553) ได้นำซังข้าวโพดมาปรับสภาพเพื่อจำกัดปริมาณตัวยับยั้งเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพเอนไซม์ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยใช้กรดซัลฟิวริกเจือจางภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที) ให้ผลผลิตน้ำตาล 24.79 กรัมต่อลิตร หลังจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ให้ผลผลิตน้ำตาล 22.37 กรัมต่อลิตร น้ำตาลรวมสุดท้ายทั้งหมด 47.11 กรัมต่อลิตร ดังนั้นการปรับสภาพวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เพื่อให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและจากการศึกษาการผลิตบิวทานอลของเชื้อ *Clostridium beijirinckii* TISTR1461 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ พบว่าได้ปริมาณอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลรวม 20.58 กรัมต่อลิตร

อังคณา (2552) ได้ศึกษาการผลิตบิวทานอลจากฟางข้าว พบว่าองค์ประกอบของฟางข้าวประกอบด้วย เซลลูโลส 39% เฮมิเซลลูโลส 27% ลิกนิน 12% และเถ้า 11% จากการศึกษาการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้กรดซัลฟูริ โซเดียมไฮดรอดไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือสามารถกำจัดลิกนินได้มากที่สุด และเปลี่ยนฟางข้าวเป็นไซแลนและกลูแคนได้สูงกว่าการใช้กรดซัลฟิวริก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หลังจากนั้นนำมาไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1% (v/v) ภายใต้อุณหภูมิและความดันสูง (121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณฟางข้าวต่อปริมาณกรดซัลฟิวริกคือ 1 กิโลกรัมต่อ 1.67 ลิตร ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด 105 กรัมต่อลิตร และจากการศึกษาองค์ประกอบของสูตรอาหารที่มีผลกระทบหลักต่อการผลิตบิวทานอลของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* สายพันธุ์ JCM 1419 พบว่าเมื่อศึกษาส่วนประกอบของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตบิวทานอลโดยใช้วิธี Central Composite Design (CCD) พบว่าส่วนประกอบของอาหารที่ดีที่สุดประกอบด้วยกลูโคสที่อยู่ในน้ำคั้นฟางข้าว 70.27 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 7.03 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 2.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อศึกษาผลของสภาวะในการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตบิวทานอล ได้แก่ อุณหภูมิในการหมัก พีเอชเริ่มต้น และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ผลปรากฏว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบกะในสภาวะไร้อากาศที่ทำให้เชื้อ *C. acetobutylicum* สายพันธุ์ JCM 1419 สามารถผลิตบิวทานอลได้สูงที่สุด 2.64 กรัมต่อลิตร คือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 6.0 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง

Al-Shorgani และคณะ (2015) ได้นำน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันปาล์มมาใช้ผลิตบิวทานอลด้วยกระบวนการหมักอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล แบบไร้ออกซิเจน โดยเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564) ในอาหารที่ทำจากน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันปาล์มดิบแบบไม่เติมสารเสริม แล้วศึกษาผลของพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มความเร็วในการกวน และปริมาณของหัวเชื้อ ผลการทดลองพบว่า เมื่อให้พีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อเท่ากับ 5.8 บ่มหัวเชื้อที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการกวน 100 รอบต่อนาที และใช้หัวเชื้อ 15% (v/v) จะผลิตบิวทานอลได้มากที่สุด และเผยว่าหากมีน้ำมันปาล์มดิบ ในน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันปาล์มจะส่งผลเสียต่อการสังเคราะห์บิวทานอล ซึ่งจะสามารถผลิตบิวทานอลได้สูงสุด 0.9 กรัมต่อลิตร และ ABE สูงสุด 2.09 กรัมต่อลิตรเมื่อทำการหมักในสภาวะที่เหมาะสมและปราศจากน้ำมันปาล์มดิบ

Li และคณะ (2014) ได้ศึกษาการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล จากแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่สามารถทนต่อบิวทานอลได้ จากการแยกเชื้อทำให้ได้เชื้อกลายพันธุ์ที่สามารถทนบิวทานอลความเข้มข้น 35 กรัมต่อลิตรได้ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ปกติที่ทนบิวทานอลได้ 20 กรัมต่อลิตร และจากการเปรียบเทียบ 16s rDNA ทำให้ทราบว่าเชื้อที่ได้คือเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* โดยภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเชื้อจะสามารถผลิตตัวทำละลายอินทรีย์และบิวทานอลได้สูงสุด 23.6% และ 24.3% ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าสายพันธุ์ปกติ และได้ศึกษาผลของแมงกานีสต่อการหมัก ABE โดยพบว่า ความเข้มข้นของแมงกานีสที่เหมาะสมต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์และบิวทานอลคือ 0.015 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะผลิตบิวทานอลและตัวทำละลายอินทรีย์ได้ความเข้มข้น 14.34±0.81 กรัมต่อลิตร และ 22.58±1.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งได้บิวทานอลและตัวทำละลายอินทรีย์สูงกว่าการทดลองชุดควบคุมถึง 14.2% และ 32.9% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตบิวทานอลกับความทนบิวทานอลได้ โดยเชื้อที่สามารถทนบิวทานอลได้จะสามารถผลิตบิวทานอลได้มากขึ้น

Pang และคณะ (2016) ได้ศึกษาการผลิตบิวทานอล ด้วยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) โดยเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* GX01 ใช้ชานอ้อยที่ปรับสภาพวิธีการต่างๆ เพื่อหาวิธีการปรับสภาพที่ดีที่สุด และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Thermoascun aurantiacun* GS 7-2-4 ผลการทดลองพบว่าการปรับสภาพด้วยเบส NaOH ให้ผลที่ดีที่สุด โดยสามารถกำจัดลิกนินออกได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ แต่มีปริมาณของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมากกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการศึกษาการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์พบว่า ปริมาณของชานอ้อยที่เหมาะสมสำหรับการย่อยด้วยเอนไซม์คือ 60 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์จากเชื้อ *Thermoascun aurantiacun* GS 7-2-4 คือ 60 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 10 FPU ต่อกรัมของแข็ง เมื่อนำส่วนใสที่ได้จากการย่อยไปใช้เลี้ยงเชื้อแบบกึ่งกะ) พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในการหมักมีผลต่อการหมักบิวทานอลโดยที่อัตราการนำอาหารถังหมักเท่ากัน ปริมาณของ ABE และบิวทานอลจะลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาล และการผลิต ABE และบิวทานอลก็จะลดลงเมื่อเพิ่มอัตราการนำอาหารเข้า แต่ที่ความเข้มขนของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากัน เมื่อลดอัตราการฟีดจะทำให้มีการผลิต ABE และบิวทานอลเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถผลิตบิวทานอลได้สูงสุด 14.17 กรัมต่อลิตร และผลิต ABE ได้สูงสุด 21.11 กรัมต่อลิตร จากน้ำตาลทั้งหมด 68.89 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Li และคณะ (2016) ได้ศึกษาการเพิ่มการผลิตบิวทานอลจากเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* SE25 ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นสารตั้งต้น เพื่อเร่งการเปลี่ยนเฟสโดยการควบคุมพีเอชของการหมัก โดยนักวิจัยพบว่าการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นสารตั้งต้นแทนกลูโคสทำให้ระยะเวลาในการเปลี่ยนเฟสจากเฟสการผลิตกรดไปเป็นเฟสการผลิตตัวทำละลายช้ากว่าเดิม 12 ชั่วโมง จึงได้ทำการควบคุมพีเอชของการหมักเพื่อลดระยะเวลาลง จากการทดลองกำหนดพีเอชเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6 หลังจากนั้นเมื่อค่า $OD_{600}$ ถึง 1.4 จะทำการเติม $CaCO_3$ ความเข้มข้น 3.0 กรัมต่อลิตร ลงไปในน้ำหมัก ส่งผลให้พีเอชของการหมักค่อยๆลดลง ผลการทดลองพบว่าที่สภาวะนี้สามารถลดระยะเวลาในการหมักลงเหลือ 12 ชั่วโมง ซึ่งน้อยกว่าการทดลองที่ไม่มีการควบคุมพีเอช 14.3% และผลิตบิวทานอลได้ 16.24±0.70 กรัมต่อลิตร มีผลได้ 0.26 กรัมต่อกรัม ใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 72 ชั่วโมง โดยมีปริมาณบิวทานอลและผลได้มากกว่าการทดลองที่ไม่มีการควบคุมพีเอช 25.3% และ 18.2% ตามลำดับ $CaCO_3$ ส่งผลดีต่อการผลิตบิวทานอลแต่ไม่มีผลต่อการผลิตเอทานอล เนื่องจากมีคาร์บอเนตทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ และมี $Ca^{2+}$ ที่ทำให้ผลิตบิวทานอลได้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3

# วิธีดำเนินงานวิจัย

## 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

### 3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้จากตะกอนดินในแหล่งน้ำนิ่งภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยเก็บกล้าเชื้อในกลีเซอรอล 20% ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

### 3.1.2 สารเคมี

กลูโคส (Glucose)

กรดอะซิติก (Acetic acid)

กรดบิวทิริก (Butyric acid)

กรดซิตริก (Citric acid)

กลีเซอรอล (Glycerol)

กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

กรดซัลฟิวริก ($H_2SO_4$)

เคซีน ไฮโดรไลเซต (Casein hydrolysate)

ซิสเทอีน-ไฮโดรคลอริกโมโนไฮเดรต (Cystein-HCL.$H_2O$)

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

เซลโลไบโอส (Cellobiose)

ไซโลส (Xylose)

ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($K_2HPO_4$)

เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

บิวทานอล (Butanol)

ปิโตรเลียมอีเทอร์

โพแทสเซียมไดไฮโดเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$)

เมทานอล (Methanol)

ยีสต์สกัด (Yeast extract)

วุ้น (Agar)

สารละลายฟีนอลเข้มข้นร้อยละ 5

อะซิโตน (Acetone)

อะซิเตต บัฟเฟอร์ (Acetate buffer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร Reinforced clostridial

เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol)

เอนไซม์ ACCELLERASE1500 จากบริษัท Siam Victory Chemicals จำกัด

เอนไซม์แอลฟ่าอะไมเลส จาก Sigma-Aldrich.

เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส จาก Sigma-Aldrich.

แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 90

3,5-dinitrosalicylic acid

Nutrient broth

### 3.1.3 อุปกรณ์

กระดาษกรอง

กระดาษวัดพีเอช

กระบอกตวง

กรวยกรองบุชเนอร์

กรวยเทสาร

กล้องจุลทรรศน์

ขวดเก็บตัวอย่าง

ขวดดูแรน

ขวดน้ำกลั่น

ขวดปรับปริมาตร

ขวดรูปชมพู่

คิวเวต

เครื่องเขย่าสาร

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

เครื่องปั่นเหวี่ยง

เครื่องผสมสาร (Vortex)

เครื่องบด ยี่ห้อ Retsch รุ่น SK100

เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

จานเพาะเชื้อ

จุกสำลี

จุกยางดูดสาร

ตะแกรงร่อน

เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

ตะเกียงแอลกอฮอล์

ตู้บ่มเชื้อ

ตู้ปลอดเชื้อ

ตู้เย็น

ตู้อบลมร้อน 78 และ 180 องศาเซลเซียส

ถังก๊าซไนโตรเจนและก๊าซผสม

โถดูดความชื้น

แท่งแก้วคนสาร

บีกเกอร์

ปิเปตต์ทริป

แผ่นดูดอากาศ (Anaerobic cult)

พาสเจอร์ปิเปตต์

ฟลาสก์

ลูปเขี่ยเชื้อ

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

หลอดทดลอง

หลอดที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยง 15 มิลลิลิตร

หลอดทดลองฝาเกลียว

แอนแอโรบิกแชมเบอร์(Anaerobic chamber)

แอนแอโรบิกจาร์ (Anaerobic jar)

อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

ออโต้ปิเปตต์ขนาด 1,5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.4 ก้านมันสำปะหลัง

ก้านมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 81 นำมาจากไร่มันสำปะหลัง ตำบลปอพาน อำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม ประเทศไทย ส่วนที่นำมาเป็นส่วนที่เหลือจากการเพาะปลูกหนึ่งท่อนยาวประมาณ 50-60 เซนติเมตร

## 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

### 3.2.1 อาหาร Reinforced Clostridial (Difco™)

อาหารที่ใช้ในการเก็บรักษาหัวเชื้อ *Clostridiam acetobutylicum* มีส่วนประกอบดังนี้

| | | |
|---|---|---|
| เปปโตน | 10 | กรัม |
| Beef extract | 10 | กรัม |
| ยีสต์สกัด (Yeast extract) | 3 | กรัม |
| Dextrose | 5 | กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) | 5 | กรัม |
| Soluble starch | 1 | กรัม |
| ซีสเทอีน ไฮโดรคลอริก (Cystein HCl) | 0.5 | กรัม |
| โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate) | 3 | กรัม |
| วุ้น | 0.5 | กรัม |

ชั่งอาหาร Reinforced Clostridial 38 กรัม ละลายในน้ำบริสุทธิ์ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 3.2.2 อาหาร T6

อาหาร T6 ซึ่งดัดแปลงจากอาหาร TYA ตามการรายงานของ Ogata และคณะ (1993) มีส่วนประกอบดังนี้

| | |
|---|---|
| ทริปโตน (Tryptone) | 6.0 กรัมต่อลิตร |
| ยีตส์สกัด (Yeast extract) | 2.0 กรัมต่อลิตร |
| ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | 0.5 กรัมต่อลิตร |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0.3 กรัมต่อลิตร |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.01 กรัมต่อลิตร |
| แอมโมเนียมอะซิเตต | 3.0 กรัมต่อลิตร |
| Cysteine hydrochloride | 0.5 กรัมต่อลิตร |
| น้ำตาลกลูโคส (Glucose) | 30.0 กรัมต่อลิตร |

ละลายในน้ำบริสุทธิ์ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.3 การเตรียมก้านมันสำปะหลัง

ทำการปอกเปลือกก้านมันสำปะหลังออกจนหมด จากนั้นหั่นก้านมันสำปะหลังเป็นชิ้นเล็กขนาด 1-2 เซนติเมตร และนำไปตากแดดร้อนจัดจนกว่าชิ้นก้านมันสำปะหลังจะแห้งสนิท แล้วนำมาบดด้วยเครื่องบดละเอียด (Retsch, รุ่น SK100) จากนั้นนำตัวอย่างที่บดละเอียดมาร่อนด้วยตะแกรงร่อน Mesh no. 50 ที่มีขนาดช่อง 300 ไมโครเมตร จากนั้นเก็บผงของก้านมันสำปะหลังใส่ถุง มัดให้สนิท และเก็บในโถดูดความชื้น

## 3.4 การปรับสภาพก้านมันสำปะหลัง

### 3.4.1 การปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น

ชั่งก้านมันสำปะหลังปริมาณ 10 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่าง นำไปนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็น นำสารละลายตัวอย่างมากรองด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนของเหลวที่ได้ไว้เพื่อนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS ตามหัวข้อที่ 3.7.3.1 นำส่วนของแข็งที่ได้ไปอบให้แห้งสนิท แล้วนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

### 3.4.2 การปรับสภาพด้วยสารละลายกรด

ชั่งก้านมันสำปะหลังปริมาณ 10 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่าง นำไปนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็น นำสารละลายตัวอย่างมากรองด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนของเหลวที่ได้ไว้เพื่อนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS นำส่วนของแข็งไปปรับพีเอชโดยล้างด้วยน้ำกลั่นจนกว่าพีเอชของน้ำล้างจะเป็นกลาง

### 3.4.3 การปรับสภาพด้วยสารละลายเบส

ชั่งก้านมันสำปะหลังปริมาณ 10 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่าง นำไปนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็น นำสารละลายตัวอย่างมากรองด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนของเหลวที่ได้ไว้เพื่อนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS นำส่วนของแข็งไปปรับพีเอชโดยล้างด้วยน้ำกลั่นจนกว่าพีเอชของน้ำล้างจะเป็นกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.5 กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์

### 3.5.1 การย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

นำตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนตัวอย่างแห้งสนิท จากนั้นเติมเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักแห้งของก้านมันสำปะหลังที่ปรับสภาพด้วยเบส กรด และน้ำ จากนั้นทำการปรับพีเอชให้เป็น 5.0 แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรลงในตัวอย่าง 1 กรัม บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS

### 3.5.2 การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส

นำก้านมันที่เตรียมจากหัวข้อที่ 3.3 มาปริมาณ 15 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปปรับสภาพด้วยหม้อนึ่งความดันไอ โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงให้เหลือ 50 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 ปริมาตร 3.30 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง แล้วลดอุณหภูมิให้เหลือ 60 องศาเซลเซียส แล้วเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.015 ปริมาตร 13.30 มิลลิลิตร บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเข้าตู้เย็นทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นเก็บตัวอย่างจากส่วนใสที่ไม่มีตะกอน แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) ตามหัวข้อที่ 3.7.3.1

### 3.5.3 การย่อยด้วยเอนไซม์ผสม

นำก้านมันสำปะหลังที่บดแล้วขนาด 300 ไมโครเมตร 15 กรัม และน้ำ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันในขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปปรับสภาพด้วยหม้อนึ่งความดันไอ โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิให้เหลือ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ร้อยละ 0.05 ปริมาตร 3.30 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วลดอุณหภูมิให้เหลือ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ร้อยละ 0.015 ปริมาตร 13.30 มิลลิลิตร และเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เวลา 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.6 การผลิตบิวทานอล

### 3.6.1 การเตรียมหัวเชื้อ

ทำโดยถ่ายเชื้อ *Clostridium* sp. ที่เก็บรักษาไว้ในกลีเซอรอล 20% ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาถ่ายเชื้อลงบนอาหารแข็ง Reinforced Clostridial นำไปบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารแข็ง T6 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร นำไปบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจนในแอนแอโรบิกจาร์ (Anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการเปลี่ยนถ่ายเชื้อ ลงในอาหาร T6 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร และบ่มที่สภาวะเดิม นำไปใช้เป็นหัวเชื้อ

### 3.6.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp.

ทำการทดลองในฟลาสก์ที่สภาวะนิ่ง โดยใช้ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร และทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.6.1 ร้อยละ 10 (ปริมาตร 20 มิลลิลิตร) ลงในอาหาร T6 ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ให้ได้ปริมาตรรวม 200 มิลลิลิตร ใช้เป็นชุดควบคุม เปรียบเทียบกับผลของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลัง โดยเลือกใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้สูงสุดจากวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม ซึ่งปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ 50 กรัมต่อลิตร เป็นชุดทดลอง จากนั้นบ่มในแอนแอโรบิกแชมเบอร์ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 12 24 36 48 60 72 84 96 108 และ 120 ชั่วโมง โดยแต่ละครั้งจะทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงเพื่อนำตะกอนเซลล์มาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง นำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) และวิเคราะห์ความเป็นกรดด่างด้วยพีเอชมิเตอร์

โดยการเก็บตัวอย่างในแต่ละครั้ง มีการเติมอาหาร T6 ที่มีแหล่งน้ำตาลจากก้านมันสำปะหลังและกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ในชุดทดลองและชุดควบคุม ตามลำดับ โดยถ่ายอาหารปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการปรับปริมาตรอาหารให้เท่าเดิม

## 3.7 การวิเคราะห์

### 3.7.1 การวิเคราะห์แบบปริมาณกลุ่มสารของก้านมันสำปะหลัง

#### 3.7.1.1 ปริมาณความชื้น (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)

อบภาชนะอะลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำออกมาวางไว้ในโถดูดความชื้นและทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักภาชนะอะลูมิเนียมด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งก้านมันสำปะหลัง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงในภาชนะอะลูมิเนียม จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ โดยขณะอบเปิดฝาถ้วยออก เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครบกำหนดเวลานำถ้วยออกมาวางไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น และนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณความชื้นดังสูตรต่อไปนี้

**การคำนวณ**

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{(w_1 - w_2)}{(w_3)} \times 100$$

กำหนดให้ $w_1$ = น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

$w_2$ = น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

$w_3$ = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

**3.7.1.2 ปริมาณโปรตีน (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000)**

ชั่งก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นปริมาณ 1-2 กรัม ลงในหลอดย่อยเติมคะตะลิสต์ 1 เม็ด และเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20-25 มิลลิลิตร ขึ้นกับปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ ปล่อยให้ทำปฏิกิริยาจนไม่รุนแรง เขย่าเบาๆ ทำการเปิดเครื่องย่อย สวมเครื่องดักจับไอกรดบนส่วนบนของหลอดย่อย และเปิดเครื่องดักจับไอกรดโดยทำในตู้ดูดควัน ทำการสวมหลอดย่อยแล้วกดปุ่มเริ่มทำงานที่เครื่องย่อย เพื่ออุณหภูมิได้ 420 องศาเซลเซียสทำการย่อยต่ออีก 2 ชั่วโมง จนตัวอย่างเป็นสารละลายสีเขียวใส เมื่อสารละลายเย็นลงแล้ว เปิดเครื่องกลั่นตั้งค่าระบบการทำงานของเครื่อง โดยต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และน้ำกลั่นเพื่อทำการกลั่น จากนั้นล้างเครื่องด้วยน้ำกลั่นโดยใช้ระบบการทำงานของเครื่อง ตวงสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร พร้อมหยดอินดิเคเตอร์ นำหลอดย่อยตัวอย่างประกอบเข้ากับเครื่องกลั่น และวางขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายกรดบอริก ไว้ใน Platform ปิด Safety door ทำการกลั่นเป็นเวลา 4 นาที เมื่อครบเวลา นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้สารละลายสีชมพูอ่อน จากนั้นคำนวณร้อยละไนโตรเจนดังนี้

**การคำนวณ**

$$\%\ \text{ไนโตรเจน} = \frac{(\text{ปริมาตร } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้ไทเทรต} - \text{ปริมาตร } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้ไทเทรต Blank}) \times 0.1 \times 0.014}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

%โปรตีน = %ไนโตรเจน x 6.25 (conversion factor)

**3.7.1.3 ปริมาณไขมัน (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000)**

นำบีกเกอร์ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น และทิ้งให้เย็น นำไปชั่งแล้วบันทึกน้ำหนัก ชั่งตัวอย่างมา 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองใส่ลงในทิมเบิ้ล เปิดเครื่องสกัดและเครื่องทำความเย็น นำทิมเบิ้ลที่มีตัวอย่างวางลงในที่ใส่ทิมเบิ้ล จากนั้นนำเข้าเครื่องสกัดไขมัน ตวงปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตรเกินพอ ทำการสกัดประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นเทสารละลายที่อยู่ในฟลาสก์สกัดไขมันที่เหลือใส่บีกเกอร์ที่อบและชั่งน้ำหนักแล้ว จากนั้นนำบีกเกอร์ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อระเหยปิโตรเลียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้

อีเทอร์เหลือแต่ไขมันที่สกัดได้ นำออกมาใส่โถดูดความชื้น รอจนเย็น จากนั้นนำบีกเกอร์ไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก แล้วนำไปคำนวนตามสูตรดังต่อไปนี้

**การคำนวณ**

$$\%\text{ไขมัน} = \frac{(w_3 - w_2)}{w_1} \times 100$$

$w_1$ = น้ำหนักตัวอย่าง

$w_2$ = น้ำหนักบีกเกอร์

$w_3$ = น้ำหนักบีกเกอร์ + น้ำหนักไขมัน

3.7.1.4 ปริมาณเยื่อใยหยาบ (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000 และ Ceirwyn, 1995)

นำครูซิเบิ้ลแก้วสำหรับวิเคราะห์เยื่อใยหยาบไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นแล้วทิ้งให้เย็น ชั่งและบันทึกน้ำหนักไว้ นำตัวอย่างที่ผ่านการวิเคราะห์ความชื้นและสกัดไขมันแล้วใส่ลงในครูซิเบิ้ลประมาณ 1 กรัม วางครูซิเบิ้ลแก้วลงในหลุมที่อยู่บนตัวเครื่องมือสกัดเส้นใย เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.01 นอร์มอล ที่ทำให้ร้อนไว้ก่อนแล้วเทลงในทอแล้วคอนเดนเซอร์ไปประมาณ 150 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 30 นาที กรองเอาสารละลายออก (เปิดลิ้นไปที่ vacuum) ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร (ในการล้างแต่ละครั้งให้เปิดลิ้นไปที่ pressure เพื่อให้อากาศผ่านฐานของถ้วยแก้วทำให้ส่วนผสมของถ้วยแล้วคลุกเคล้ากันโดยตลอด) เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.23 นอร์มอล ที่ทำให้ร้อนลงไปประมาณ 150 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 30 นาที กรองเอาสารละลายด่างออก แล้วล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำกลั่นเย็น 1 ครั้ง จากนั้นทำให้แห้งโดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง นำภาชนะที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งและบันทึกน้ำหนัก แล้วนำไปคำนวณตามสูตร

**การคำนวณ**

$$\%\text{เยื่อใยหยาบ} = \frac{(F_1 - F_2)}{F_3} \times 100$$

$F_1$ = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

$F_2$ = น้ำหนักของครูซิเบิ้ลแก้วและตัวอย่างหลังการอบ (กรัม)

$F_3$ = น้ำหนักของครูซิเบิ้ลแก้วและตัวอย่างหลังการเผา (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

(ส่งวิเคราะห์ที่ฝ่ายปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)

#### 3.7.2.1 ปริมาณเซลลูโลส (Soest และคณะ, 1991)

หาปริมาณเซลลูโลสโดยวิธี Detergent analysis วิเคราะห์หาได้โดยผลต่างระหว่าง ADF และ ADL

**วิธีวิเคราะห์หา Acid Detergent Fiber (ADF)**

นำครูซิเบิ้ลขนาด 50 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นแล้วทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก จากนั้นชั่งตัวอย่างที่แห้งบดละเอียดขนาด 300 ไมโครเมตร ใส่ในบีกเกอร์ปากกลมเรียบ แล้วเติมสารละลาย Acid Detergent นำไปต้มให้ร้อน ตวงใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร นำไปทำการย่อยหรือ reflux นานเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย หลังจากนั้นทำการกรองโดยเทสารละลายในบีกเกอร์ลงครูซิเบิ้ลที่ชั่งน้ำหนักแล้วที่ต่อกับเครื่องกรองดูดสุญญากาศ ล้างตัวอย่างที่อยู่ในบีกเกอร์ด้วยขวดฉีดน้ำร้อนจนกระทั่งตัวอย่างส่วนที่เหลือทั้งหมดลงในครูซิเบิ้ลจนหมด ล้างตัวอย่างที่อยู่ในครูซิเบิ้ลจนหมดฟอง จากนั้นล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างครูซิเบิ้ลด้วยน้ำร้อนอีก 1-2 ครั้ง โดยใช้ขวดฉีดน้ำร้อน แล้วดูดน้ำออกด้วย vacuum pump ล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง หรือจนกระทั่งสารละลายที่ไหลออกจากครูซิเบิ้ลไม่มีสี นำครูซิเบิ้ลที่มีตัวอย่างไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง นำครูซิเบิ้ลที่มีตัวอย่างออกจากตู้อบ เอาใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาค่า ADF จากนั้นนำครูซิเบิ้ลที่มีตัวอย่างเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้นแล้วทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักหาเถ้า

**การคำนวณ**

$$\%ADF = \frac{D-B}{S} \times 100$$

D = น้ำหนักครูซิเบิ้ล + ADF (กรัม)

B = น้ำหนักครูซิเบิ้ล (กรัม)

S = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**วิธีวิเคราะห์หา Acid Detergent Lignin (ADL)**

นำครูซิเบิ้ลที่มีตัวอย่างซึ่งวิเคราะห์หา ADF แล้ว มาเติมสารละลาย $H_2SO_4$ ร้อยละ 72 ที่เย็น (20 องศาเซลเซียส) ลงไป ประมาณครึ่งครูซิเบิ้ล จากนั้นนำไปวางลงในถาดสแตนเลส ใช้แท่งแก้วคนให้ทั่วเพื่อให้ตัวอย่างแยกจากกันไปจับตัวเป็นก้อน โดยมีน้ำกลั่นที่อยู่ในถาดสแตนเลสระดับต่ำกว่าระดับของแผ่น Fritted glass รักษาอุณหภูมิของครูซิเบิ้ลในถาดสแตนเลสที่ 20-30 องศาเซลเซียส คอยเติมสารละลายร้อยละ 72 $H_2SO_4$ เมื่อสารละลายในครูซิเบิ้ลแห้ง คนเป็นระยะๆ ใช้เวลาย่อยนาน 3 ชั่วโมงจากนั้นนำไปล้างเอาสารละลายกรดออกแล้วล้างด้วยน้ำร้อนโดยใช้น้ำร้อน 1400 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ขวดฉีดน้ำไล่ตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างครูซิเบิ้ลให้หมด แล้วฉีดล้างครูซิเบิ้ลอีกครั้งหนึ่ง นำครูซิเบิ้ลพร้อมตัวอย่างที่ย่อยแล้วไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาใส่โถดูดคามชื้น ทิ้งให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก ซึ่งจะเรียกว่า $w_1$ นำครูซิเบิ้ลไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น เมื่อเย็นแล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักซึ่งจะเรียกว่า $w_2$

**การคำนวณ**

$$\%\text{Lignin} = \frac{(w_1 - w_2)}{S} \times 100$$

$S$ = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

$w_1$ = น้ำหนักครูซิเบิ้ล + น้ำหนักเยื่อใยหลังการอบ (กรัม)

$w_2$ = น้ำหนักครูซิเบิ้ล + น้ำหนักเถ้าหลังการอบ (กรัม)

$$\%\text{Cellulose} = \%\text{ADF} - \%\text{ADL}$$

**3.7.2.2 ปริมาณเฮมิเซลลูโลส (Soest และคณะ, 1991)**

ผลต่างระหว่าง NDF และ ADF คือ ปริมาณเฮมิเซลลูโลสโดยประมาณ (รวมโปรตีนที่ติดอยู่ที่ผนังเซลล์บ้าง)

**วิธีวิเคราะห์หา Neutral Detergent Fiber (NDF)**

นำครูซิเบิ้ลขนาด 50 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นและทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก จากนั้นชั่งตัวอย่างที่แห้งบดละเอียดขนาด 300 ไมโครเมตร ใส่ในบีกเกอร์ปากกลมเรียบ (ใส่ $Na_2SO_3$ 0.5 กรัม ในตัวอย่างที่มีคิวตินสูง) แล้วนำสารละลาย Neutral Detergent Fiber ไปต้มให้ร้อนประมาณ 5 นาที ตวงใส่ในบีกเกอร์ที่มีตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร นำไปทำการย่อยประมาณ 5 นาที แล้วทำการกรอง โดยเทสารละลายบีกเกอร์ลงในครูซิเบิ้ลที่ชั่งน้ำหนักแล้วที่ต่อติดกับเครื่องดูดสุญญากาศ ล้างตัวอย่างที่อยู่ในบีกเกอร์ด้วยขวดฉีดน้ำร้อน จนกระทั่งตัวอย่างส่วนที่เหลือทั้งหมดลงในครูซิเบิ้ลจนหมด ล้างตัวอย่างที่อยู่ในครูซิเบิ้ลจนหมดฟอง จากนั้นล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างครูซิเบิ้ลด้วยน้ำร้อนอีก 1-2 ครั้ง โดยใช้ขวดฉีดน้ำร้อน แล้วดูดน้ำออกด้วย vacuum pump ล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง หรือจนกระทั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายที่ไหลออกจากครูซิเบิ้ลไม่มีสี นำครูซิเบิ้ลที่มีตัวอย่างไปอบในตู้อบ อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง นำครูซิเบิ้ลที่มีตัวอย่างออกจากตู้อบ เอาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักที่คงที่ จากนั้นนำครูซิเบิ้ลที่มีตัวอย่างเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้นแล้วปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนักหาเถ้า

**การคำนวณ**

$$\%NDF = \frac{(A-B)}{S} \times 100$$

NDF (cell content) = 100 - %NDF

A = น้ำหนักครูซิเบิ้ล + NDF (กรัม)

B = น้ำหนักครูซิเบิ้ล (กรัม)

S = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

$$\%\text{ เถ้าที่ไม่ละลายใน neutral detergent} = \frac{(C-B)}{S} \times 100$$

เมื่อ C = น้ำหนักครูซิเบิ้ล + เถ้า

%Hemicellulose = %NDF - %ADF

**3.7.3 การวิเคราะห์ทางเคมี**

**3.7.3.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (ดัดแปลงจากวิธีของ Miller และคณะ, 1959)**

นำส่วนใสที่ไม่มีตะกอนมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตารีดิวซ์โดยวิธี 3,5 dinitrosalicylic acid (DNS) ทำการเจือจางตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นนำตัวอย่างแต่ละการเจือจางมาปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย DNS ลงไป 3 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกราฟกลูโคสมาตรฐาน ซึ่งเตรียมโดยวิธีดังต่อไปนี้

เตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส โดยน้ำสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DNS ลงไป 3 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.7.3.2 น้ำหนักชีวมวลแห้ง**

ทำการอบแห้งหลอดปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักหลอดและนำตัวอย่างมาปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมลงไป และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้เซลล์ตกตะกอน เก็บส่วนใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ วิเคราะห์ปริมาณสารผลิตภัณฑ์และวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง จากนั้นล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นจำนวน 2 ครั้ง แล้วจึงนำหลอดปั่นเหวี่ยงที่มีเซลล์อยู่ไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ทำการชั่งน้ำหนักหลอดและคำนวณน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นหน่วยกรัมต่อลิตร

**การคำนวณ**

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}) \times 1000}{10}$$

**3.7.3.3 การวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลหลังการย่อยก้านมันสำปะหลัง โดยใช้เครื่อง HPLC**

นำส่วนใสที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังมาเจือจาง 10 เท่า จากนั้นนำมาทำการวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลโดยใช้เครื่อง HPLC (High Perfoemance Liduid Chomatography) โดยใช้กลีเซอรอลร้อยละ 5 สำหรับเป็น Internal standard กรองสารละลายตัวอย่างด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมโครเมตร ให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines Fermentation Monitor เส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) คือ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 mM อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ Column oven ทำงานที่ 65 องศาเซลเซียส โดยวัดค่า refractive index ด้วยเครื่องวัดการหักเหของแสง และฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของสารที่มี Retention time ตามสารมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ไว้ล่วงหน้า หาความเข้มข้นของสารต่างๆโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

**3.7.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณบิวทานอลและสารอินทรีย์อื่นๆ**

นำส่วนใสที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดบิวทิริก โดยใช้เครื่อง HPLC ใช้สารละลายกรดซิตริกร้อยละ 2 สำหรับเป็น Internal standard กรองสารละลายตัวอย่างด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมโครเมตร ให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณบิวทานอล อะซิโตน เอทานอล กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดบิวทิริก โดยใช้คอลัมน์ Amines Fermentation Monitor เส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 mM อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ Column oven ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส โดยวัดค่า refractive index ด้วยเครื่องวัดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หักเหของแสง และฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของสารที่มี Retention time ตามสารมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ไว้ล่วงหน้า หาความเข้มข้นของสารต่างๆโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

**3.7.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ**

ทุกการทดลองทำอย่างต่ำ 3 ซ้ำและนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (IBM SPSS Statistics เวอร์ชั่น 20) วิเคราะห์ตาราง ANOVA และค่าความแปรปรวนที่ค่าความเชื่อมั่นอยู่ที่ $p < 0.05$ เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยใช้วิธีของ Duncan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4

# ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

## 4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของก้านมันสำปะหลัง

ทำการเตรียมก้านมันสำปะหลังที่จะนำมาวิเคราะห์ โดยการปอกเปลือก ตากให้แห้งสนิท บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด Retsch รุ่น SK100 แล้วนำไปร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่องเท่ากับ 300 ไมโครเมตร จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยวิธีการทางเคมี ซึ่งจะวิเคราะห์ทั้งหมด 5 องค์ประกอบใหญ่ คือ ความชื้น (Moisture) ปริมาณโปรตีนหยาบ (Crude protein) ปริมาณไขมันหยาบ (Crude fat) ปริมาณเยื่อใยหยาบ (Crude fiber) และองค์ประกอบที่ไม่ละลายในสารละลาย detergent ที่เป็นกลาง ซึ่งได้แก่ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin) โดยผลการวิเคราะห์ที่ได้ทั้งหมดแสดงในตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1** องค์ประกอบของก้านมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง

| การวิเคราะห์ | ร้อยละของน้ำหนักก้านมันสำปะหลัง | ดัดแปลงการวิเคราะห์จากวิธี |
|---|---|---|
| ความชื้น | 7.85 | AOAC (1990) |
| ปริมาณโปรตีนหยาบ | 0.74 | AOAC (2000) |
| ปริมาณไขมันหยาบ | 0.46 | AOAC (2000) |
| ปริมาณเยื่อใยหยาบ | 38.67 | AOAC (2000) และ Ceirwyn, (1995) |
| ปริมาณเซลลูโลส | 22.48 | Van Soest,. และคณะ (1991) |
| ปริมาณเฮมิเซลลูโลส | 4.43 | Van Soest, และคณะ (1991) |
| ปริมาณลิกนิน | 9.38 | Van Soest, และคณะ (1991) |

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของสุนทรและอภิชัย (2555) ที่ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบจากมันสำปะหลัง (แป้งมัน กากมัน และมันเส้น) พบว่าในกากมันสำปะหลังมีความชื้นร้อยละ 7.56 โปรตีนร้อยละ 1.77 ไขมันร้อยละ 0.41 และเยื่อใยหยาบร้อยละ 14.08 พบว่ามีปริมาณเยื่อใยหยาบแตกต่างกัน เนื่องจากกากมันที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นส่วนเหลือทิ้งจากการทำแป้ง แต่พบว่างานวิจัยของณัฐพงษ์ และเศรษฐวัชร (2558) ศึกษาองค์ประกอบของมันสำปะหลัง พบร้อยละของเยื่อใยหยาบมากกว่าคือ ร้อยละ 27.75 และจากงานวิจัยของพรรณวิไล (2545) ที่ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโซสในชีวมวลต่างๆ พบว่าในก้านมันสำปะหลังมีเซลลูโลส ร้อยละ 32.2 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 13.85 และลิกนินร้อยละ 26.96 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบว่ามีปริมาณร้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละของเซลลูโลสใกล้เคียงกัน แต่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสและลิกนินต่างกัน เนื่องจากปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จะมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และภาวะการเจริญเติบโตของพืชนั้น นอกจากนี้ในงานวิจัยของผู้จัดทำได้มีการกำจัดลิกนินออกโดยการปอกเปลือกด้านนอกของก้านมันสำปะหลังออก ทำให้มีร้อยละของลิกนินต่ำกว่า

## 4.2 การปรับสภาพก้านมันสำปะหลังและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

จากการนำก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 300 ไมโครเมตร มาทำการปรับสภาพก่อนการย่อย โดยปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1.0 โมลาร์ สารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์ และน้ำกลั่น โดยใช้ตัวอย่าง 10 กรัม และสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยปรับสภาพด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังปรับสภาพแล้วกรองแยกตะกอนไปอบให้แห้งเพื่อนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลสต่อไป ส่วนของเหลวนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS แสดงในตารางที่ 4.2 รูปที่ 4.1

**ตารางที่ 4.2** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนของเหลวจากการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1M และน้ำกลั่น โดยปรับสภาพด้วยวิธีหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

| การปรับสภาพ | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| กรด | $50.74^{a} \pm 0.18$ |
| เบส | $0.22^{c} \pm 0.02$ |
| น้ำ | $4.79^{b} \pm 0.21$ |

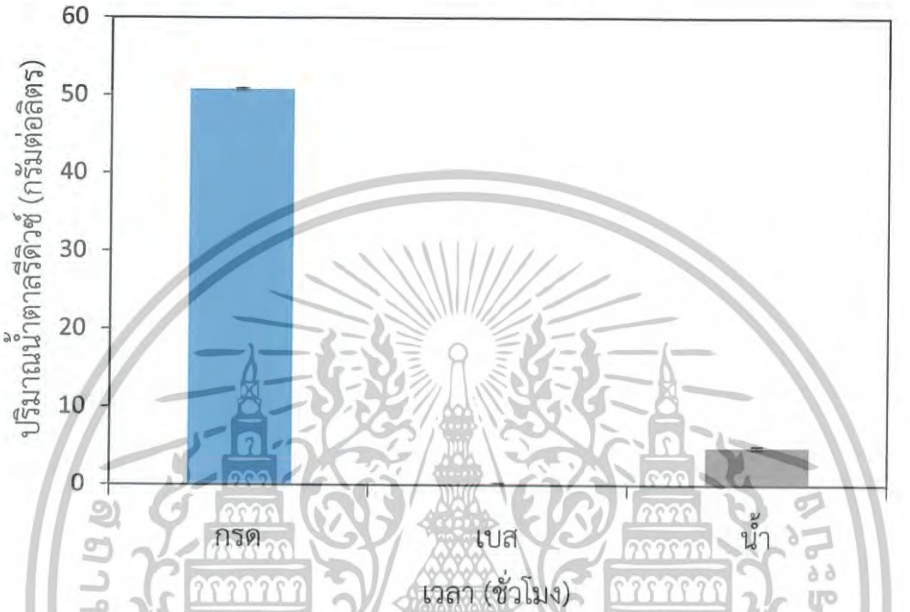
**หมายเหตุ** a b และ c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการทดลอง ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.1 พบว่าการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดคือ 50.74 กรัมต่อลิตร การปรับสภาพด้วยน้ำกลั่นพบน้ำตาลรีดิวซ์ 4.79 กรัมต่อลิตร และการปรับสภาพด้วยเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์พบน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุดคือ 0.22 กรัมต่อลิตร โดยจากงานวิจัยของรัชพล (2554) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลเสทผักตบชวาโดยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตเอทานอล ผลการทดลองพบว่ากรดสามารถแยกเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสได้ดีกว่า ทำให้มีปริมาณน้ำตาลออกมาด้วย แต่หากมีกรดเหลือในปฏิกิริยามากเกินไปจะทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้น้ำตาลไซโลสเปลี่ยนไปเป็น furfural และน้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็น 5-hydroxy methylfurfural (5-HMF) ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักเอทานอล ส่วนการใช้เบสจะสามารถแยกลิกนินได้ดี และมีปริมาณน้ำตาลไซโลส กลูโคส และสารประกอบที่เป็นพิษเช่น furfural และ 5-HMF ในปริมาณน้อยมาก ส่วนการปรับสภาพโดยน้ำกลั่นนั้นให้ปริมาณองค์ประกอบของเส้นใยที่ไม่แตกต่างกับการใช้เบสอย่างมีนัยสำคัญ




**รูปที่ 4.1** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนของเหลวจากการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ และน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ( กรด, เบส, น้ำกลั่น)

ต่อมาทำการย่อยส่วนของแข็งก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริก เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ และน้ำกลั่น ที่อบแห้งแล้ว ด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังการย่อย พบว่าส่วนของแข็งก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 13.76 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 38 รองลงมาคือส่วนของแข็งก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบสได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 10.94 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ส่วนการปรับสภาพด้วยกรดได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณน้อยที่สุดคือ 3.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.2

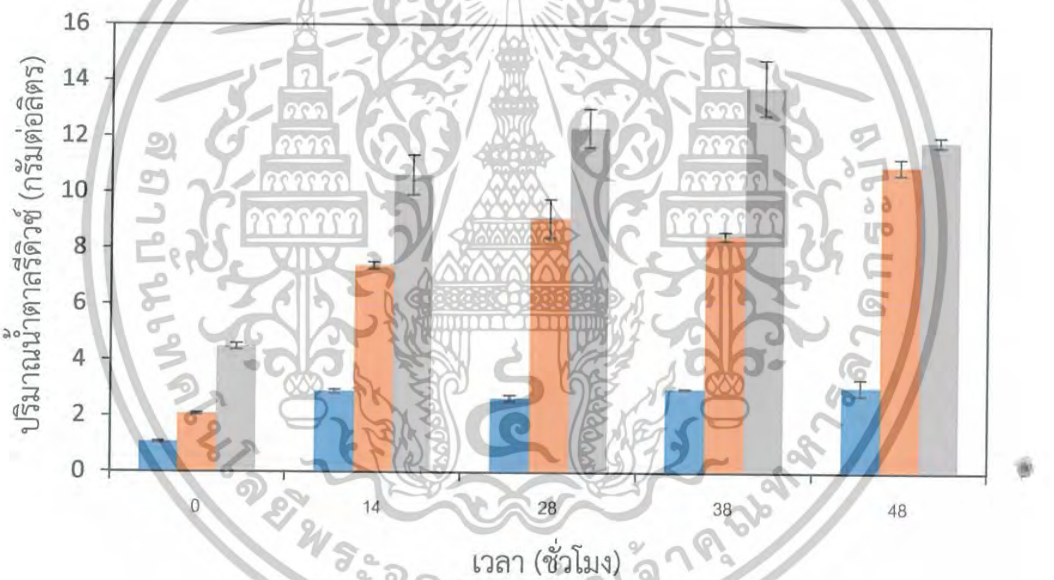
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยส่วนของแข็งก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| การปรับสภาพ | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ในชั่วโมงที่ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 14 | 24 | 38 | 48 |
| กรด | $1.06^{c}$ ±0.03 | $2.88^{ab}$ ±0.07 | $2.64^{b}$ ±0.12 | $2.98^{a}$ ±0.02 | $3.05^{a}$ ±0.29 |
| เบส | $2.07^{d}$ ±0.04 | $7.38^{c}$ ±0.12 | $9.07^{b}$ ±0.70 | $8.46^{b}$ ±0.15 | $10.94^{a}$ ±0.29 |
| น้ำกลั่น | $4.48^{d}$ ±0.11 | $10.62^{c}$ ±0.71 | $12.32^{b}$ ±0.68 | $13.76^{a}$ ±1.00 | $11.83^{ab}$ ±0.18 |

**หมายเหตุ** a b c และ d ในแถวแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน




**รูปที่ 4.2** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DNS ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยตะกอนก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสอเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ( กรด, เบส, น้ำกลั่น)

จากตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในของเหลวจากการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ACCELLERASE 1500 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรด เบส และน้ำกลั่น พบว่าการปรับสภาพด้วยสารละลายกรด มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด เนื่องจากเส้นใยเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสนั้นถูกแยกออกมาในขั้นตอนการปรับสภาพในปริมาณมาก ส่วนการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่นและเบส เมื่อนำส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของแข็งที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลสนั้นมีปริมาณน้ำตาลที่ใกล้เคียงกัน เนื่องจากสามารถเปิดโครงสร้างโดยการแยกลิกนินออกจากเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสได้เช่นเดียวกัน

## 4.3 การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส

เนื่องจากการใช้เอนไซม์เซลลูเลสย่อยก้านมันสำปะหลังแล้วได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณไม่เพียงพอต่อการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ จึงนำมาทดลองย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส โดยนำก้านมันสำปะหลังปริมาณ 10 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร มาปรับสภาพด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.05 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.30 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิลงเหลือ 60 องศาเซลเซียส แล้วเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.015 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 13.30 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำส่วนของเหลวมาวัดน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้คือ 34.85 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 6 ดังแสดงในตารางที่ 4.4

เมื่อเปรียบเทียบการใช้ย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลสกับเอนไซม์อะไมเลสพบว่า การใช้เอนไซม์อะไมเลสย่อยก้านมันสำปะหลังได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในก้านมันสำปะหลังมีแป้งเป็นส่วนประกอบในปริมาณมาก จึงได้ศึกษาการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมเพื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อไป

**ตารางที่ 4.4** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส

| เวลา (ชั่วโมง) | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 0 | $7.17^{c} \pm 0.39$ |
| 2 | $17.95^{b} \pm 0.53$ |
| 6 | $34.85^{a} \pm 0.75$ |

**หมายเหตุ** ชั่วโมงที่ 2 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ชั่วโมงที่ 6 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

a b และ c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.4 การย่อยด้วยเอนไซม์ผสม

จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมคือ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.05 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3.30 มิลลิลิตร บ่มที่ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง เอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.015 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 13.30 มิลลิลิตร และเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง โดยใช้ก้านมันสำปะหลัง 10 กรัมต่อน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร หลังจากย่อยแล้ว นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 38 เท่ากับ 47.90 และ 47.18 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังในตารางที่ 4.5 รูปที่ 4.3

**ตารางที่ 4.5** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมของแอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซเลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| เวลา (ชั่วโมง) | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 0 | $9.50^{e} \pm 0.92$ |
| 2 | $25.99^{d} \pm 0.67$ |
| 12 | $47.90^{a} \pm 0.39$ |
| 24 | $41.35^{c} \pm 0.48$ |
| 38 | $47.18^{a} \pm 0.73$ |
| 48 | $43.87^{b} \pm 0.67$ |

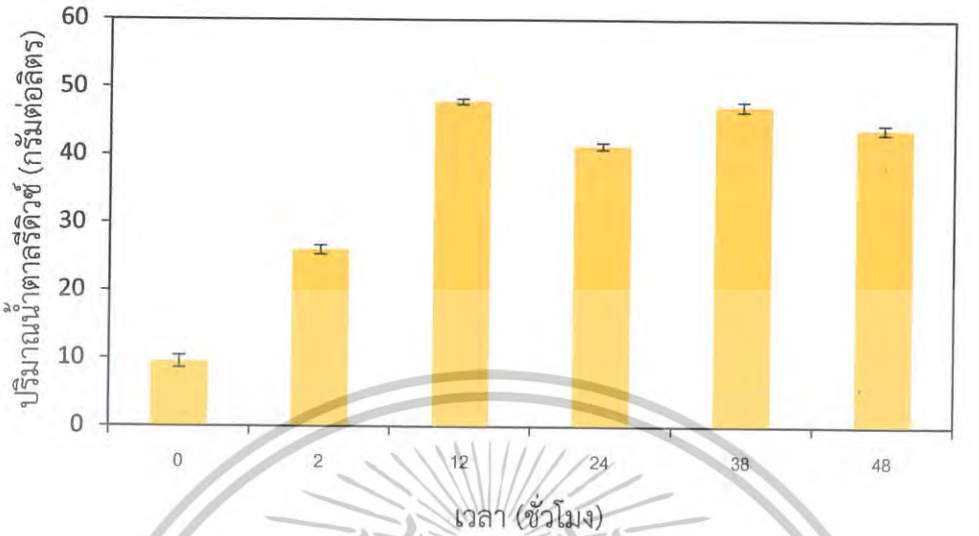
**หมายเหตุ** a b c d และ e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการศึกษาของณัฐพงษ์ และเศรษฐวัชร (2558) ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพและต้นทุนในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์ ซึ่งผลจากการศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์นั้น พบว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส หรือกลูโคอะไมเลสเพียงชนิดเดียวในการย่อยสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ปริมาณต่ำ แต่เมื่อใช้เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดในการย่อยกากมันสำปะหลัง พบว่าสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ในปริมาณสูง โดยสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุด 82.37 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจากตารางที่ 4.5 น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยต่อด้วยเอนไซม์ผสม 3 ชนิด พบน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณมากที่สุด เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์เซลลูเลส และอะไมเลสซึ่งได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 13.76 และ 34.85 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ จึงนำวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์ผสมมาใช้ย่อยก้านมันสำปะหลังเพื่อนำน้ำตาลที่ได้จากการย่อยไปเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ต่อไป




**รูปที่** 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DNS ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

## 4.5 การศึกษาชนิดของน้ำตาลหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม

จากการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังย่อยด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 วิธีการแล้ว พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ผสมได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จึงนำส่วนใสมาวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC โดยนำส่วนใสของตัวอย่างที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4.6 รูปที่ 4.4 ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 29.94 กรัมต่อลิตร น้ำตาลมอลโตส 3.54 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลไซโลส 2.30 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาประสิทธิภาพและต้นทุนในการย่อยกากมันสำาปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์ของณัฐพงษ์ และเศรษฐวัชร (2558) พบว่าการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์ผสม 3 ชนิดสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ปริมาณสูง เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลสที่ย่อยเม็ดแป้งที่เกาะอยู่บริเวณนอกเส้นใยของกากมันสำปะหลังให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสส่วนหนึ่ง และการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสได้ย่อยเส้นใยเซลลูโลส ทำให้เม็ดแป้งที่อยู่ด้านในเส้นใยหลุดออก เป็นผลให้แป้งถูกเอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยกลายเป็นน้ำตาลได้อีก

ดังนั้นจากตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.4 น้ำตาลที่พบในส่วนใสที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมมากที่สุดจึงเป็นน้ำตาลกลูโคส พบน้ำตาลมอลโตสในปริมาณเล็กน้อย เนื่องจากในก้านมันสำปะหลังมีแป้งอยู่มาก และอุณหภูมิที่ใช้บ่มคือ 50 องศาเซลเซียสไม่เหมาะสำหรับการทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทำให้

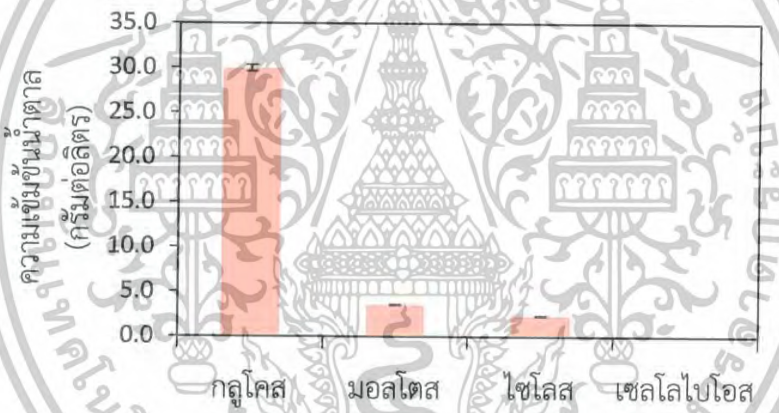
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ไม่สามารถย่อยแป้งให้หมดได้ และไม่พบน้ำตาลเซลโลไบโอส และพบน้ำตาลไซโลสในปริมาณเล็กน้อยเนื่องจากลำต้นก้านมันสำปะหลังมีเฮมิเซลลูโลสอยู่ในปริมาณไม่มาก

**ตารางที่ 4.6** ชนิดและปริมาณน้ำตาลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ของตัวอย่างก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ผสมของแอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส

| ชนิดน้ำตาล | ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| กลูโค | 29.94±0.37 |
| มอลโตส | 3.54±0.06 |
| ไซโลส | 2.30±0.05 |
| เซลโลไบโอส | - |

**หมายเหตุ** ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน




**รูปที่** 4.4 ชนิดและปริมาณน้ำตาลที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ผสมของแอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส

## 4.6 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ด้วยน้ำตาลกลูโคสสำหรับเป็นชุดควบคุม

### 4.6.1 การเจริญเติบโตของเชื้อ

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 โดยใช้น้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร และทำการเติมอาหารปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกช่วงที่เก็บตัวอย่าง ได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.5 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Clostridium* sp. ด้วยวิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ผลการทดลองพบว่าในชั่วโมงเริ่มต้นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.26 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 12 มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.14 กรัมต่อลิตร ต่อมาในชั่วโมงที่ 24 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 1.10 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 110 และมีปริมาณสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 120 เท่ากับ 2.56 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำหมัก จากการวิเคราะห์พบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 47.60 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 12 มีค่าเท่ากับ 47.21 กรัมต่อลิตร และเริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 24 เหลือ 37.79 กรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งที่เริ่มเพิ่มขึ้นในชั่วโมงนี้ จนถึงชั่วโมงที่ 86 มีน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุดที่ 19.19 กรัมต่อลิตร

ค่าพีเอชระหว่างการเพาะเลี้ยง พบว่าเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 0 มีค่าพีเอช 5.63 และมีค่าคงที่ในชั่วโมงที่ 12 และ 24 มีค่าความเป็นกรดด่าง 5.25 และ 5.45 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สอดคล้องกับปริมาณกรดที่มีมากในชั่วโมงเริ่มต้น จึงทำให้มีค่าพีเอชต่ำ ต่อมาในชั่วโมงที่ 38 มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 6.30 และคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 62 เนื่องจากในช่วงเวลานี้มีปริมาณกรดในน้ำหมักลดลง จากนั้นในชั่วโมงที่ 72 มีค่าพีเอชลดลงเล็กน้อยเป็น 6.07 ซึ่งคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 110 โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สอดคล้องกับปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงเวลานี้ และสุดท้ายในชั่วโมงที่ 120 มีค่าพีเอช 5.80

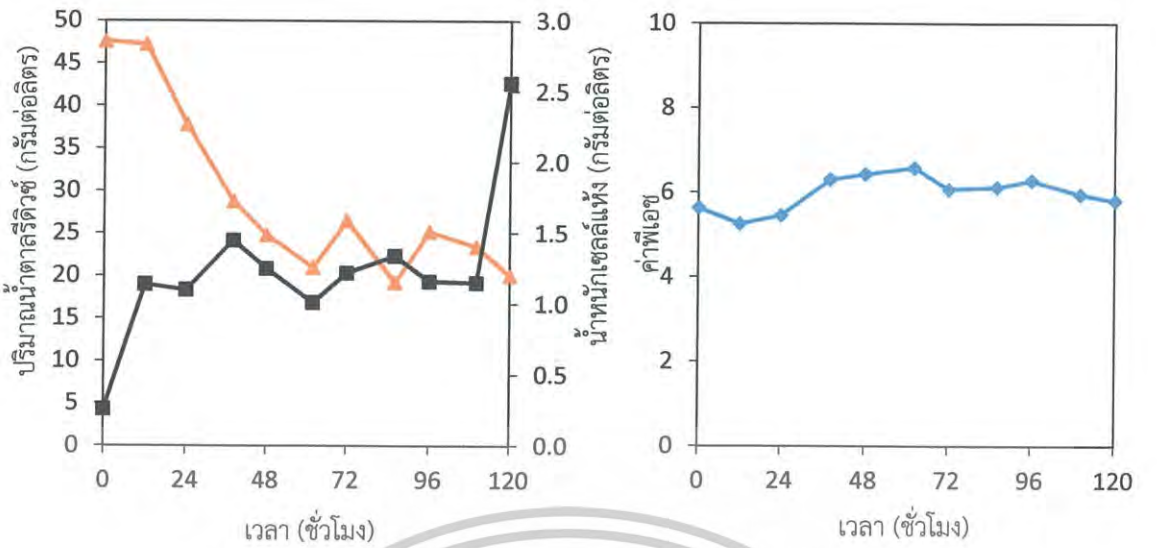
**ตารางที่ 4.7** ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าพีเอช ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* sp. ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งน้ำตาล

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) | ค่าพีเอช |
|---|---|---|---|
| 0 | $0.26^{c} \pm 0.10$ | $47.60^{a} \pm 1.07$ | $5.63^{efg} \pm 0.05$ |
| 12 | $1.14^{b} \pm 0.13$ | $47.21^{a} \pm 1.01$ | $5.25^{g} \pm 0.03$ |
| 24 | $1.10^{b} \pm 0.20$ | $37.79^{b} \pm 1.74$ | $5.45^{fg} \pm 0.20$ |
| 38 | $1.45^{b} \pm 0.58$ | $28.74^{c} \pm 1.72$ | $6.30^{abc} \pm 0.20$ |
| 48 | $1.25^{b} \pm 0.44$ | $24.79^{de} \pm 0.38$ | $6.43^{ab} \pm 0.14$ |
| 62 | $1.01^{b} \pm 0.15$ | $20.96^{f} \pm 0.29$ | $6.58^{a} \pm 0.14$ |
| 72 | $1.22^{b} \pm 0.22$ | $26.49^{d} \pm 0.89$ | $6.07^{bcd} \pm 0.00$ |
| 86 | $1.34^{b} \pm 0.07$ | $19.19^{f} \pm 1.43$ | $6.12^{bcd} \pm 0.38$ |
| 96 | $1.16^{b} \pm 0.22$ | $25.18^{de} \pm 0.64$ | $6.28^{abc} \pm 0.21$ |
| 110 | $1.15^{b} \pm 0.14$ | $23.40^{e} \pm 1.14$ | $5.95^{bde} \pm 0.37$ |
| 120 | $2.56^{a} \pm 0.40$ | $20.01^{f} \pm 0.25$ | $5.80^{def} \pm 0.40$ |

**หมายเหตุ** a b c d e f และ g ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่** 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าพีเอช และน้ำหนักเซลล์แห้งที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อ T6 ชุดควบคุม ที่มีน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ที่สภาวะนิ่ง ไร้ออกซิเจน อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ สัญลักษณ์ : ▲ น้ำตาลรีดิวซ์ ◆ พีเอช และ ■ น้ำหนักเซลล์แห้ง

**4.6.2 การสร้างผลิตภัณฑ์ของเชื้อ**

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เป็นชุดควบคุม โดยเก็บตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลามาปั่นเหวี่ยง เพื่อนำส่วนใสมาวิเคราะห์กรดอินทรีย์และตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่อง HPLC

วิเคราะห์กรดอะซิติก กรดบิวทิริก และกรดแลคติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร จากตารางที่ 4.8 และ รูปที่ 4.6 เวลาเริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 พบว่ามีกรดอะซิติก 2.75 กรัมต่อลิตร เนื่องจากในอาหารมีส่วนประกอบของแอมโมเนียมอะซิเตทปริมาณ 3 กรัมต่อลิตร จากนั้นมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 12 มีกรดอะซิติก 1.84 กรัมต่อลิตร และลดลงเหลือ 1.51 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 เพราะเชื้อสามารถนำกรดอะซิติกไปใช้ในเมทาบอริซึมผลิตบิวทานอล อะซิโตน และเอทานอล (ABE) และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 62 ต่อมามีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 1.72 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 และเพิ่มขึ้นอีกครั้งในชั่วโมงที่ 110 และ 120 ซึ่งมีปริมาณกรดอะซิติก 1.94 และ 2.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เนื่องจากในช่วงเวลานี้มีการผลิต ABE คงที่แล้ว

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดบิวทิริก พบว่าในชั่วโมงที่ 0 มีกรดบิวทิริก 0.52 กรัมต่อลิตร จากนั้นมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 เท่ากับ 2.52 กรัมต่อลิตร จากนั้นในชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณลดลงเป็น 1.56 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 86 มีปริมาณ 1.47 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นในชั่วโมงที่ 96 110 และ 120 ไม่สามารถตรวจพบกรดบิวทิริกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณกรดแลคติกที่วิเคราะห์ได้พบว่า ในชั่วโมงที่ 0 มีกรดแลคติก 0.13 กรัมต่อลิตร แล้วมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 24 เหลือ 0.10 กรัมต่อลิตร และลดลงอีกในชั่วโมงที่ 48 มีกรดแลคติก 0.06 กรัมต่อลิตร จากนั้น มีปริมาณเพิ่มจนสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 และในชั่วโมงที่ 110 และ 120 มีปริมาณลดลงเป็น 0.21 และ 0.26 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จากงานวิจัยของอังคณา (2553) ศึกษาการผลิตบิวทานอลของเชื้อ *Clotridium acetobutylicum* ATCC 824 โดยใช้น้ำอ้อยเป็นวัตถุดิบ พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง เชื้อเริ่มมีการใช้น้ำตาลเป็นจำนวนมาก เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดเป็นส่วนใหญ่ เมื่อมีปริมาณกรดมากพอเซลล์จะใช้น้ำตาลร่วมกับกรดเพื่อเปลี่ยนกรดบิวทิริกและอะซิติกไปเป็นตัวทำละลายบิวทานอล อะซิโตน และเอทานอล สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบ โดยจะเห็นได้ว่าปริมาณกรดทั้ง 3 ชนิดเริ่มลดลงหลังชั่วโมงที่ 12 และมีการสร้างตัวทำละลายเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาเดียวกัน

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ทั้ง 3 ตัว คืออะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล พบว่าในตอนเริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 มีบิวทานอล 0.66 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 12 ถึง 38 มีการผลิตบิวทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จาก 2.41 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 12 เป็น 9.40 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 38 และมีปริมาณคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 62 จากนั้นเชื้อผลิตบิวทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในชั่วโมงที่ 72 มีปริมาณบิวทานอล 10.71 กรัมต่อลิตร และคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 96 ในชั่วโมงที่ 120 มีบิวทานอลสูงสุดคือ 12.15 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับชั่วโมงที่ 110

ปริมาณอะซิโตนที่วิเคราะห์ได้ พบว่าในตอนเริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 ถึง 24 ไม่สามารถตรวจพบอะซิโตนได้ ต่อมาในชั่วโมงที่ 38 พบอะซิโตน 0.22 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 1.16 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 86 มีอะซิโตน 1.22 กรัมต่อลิตร จากนั้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 96 และ 110 เท่ากับ 2.36 และ 2.76 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สุดท้ายในชั่วโมงที่ 120 มีปริมาณอะซิโตนสูงสุดคือ 3.17 กรัมต่อลิตร

ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการวิเคราะห์พบว่า ในชั่วโมงที่ 0 มีเอทานอล 0.07 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณเพิ่มขึ้น ในชั่วโมงที่ 38 มีเอทานอล 0.13 กรัมต่อลิตร และคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 62 จากนั้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 มีเอทานอล 0.15 กรัมต่อลิตร

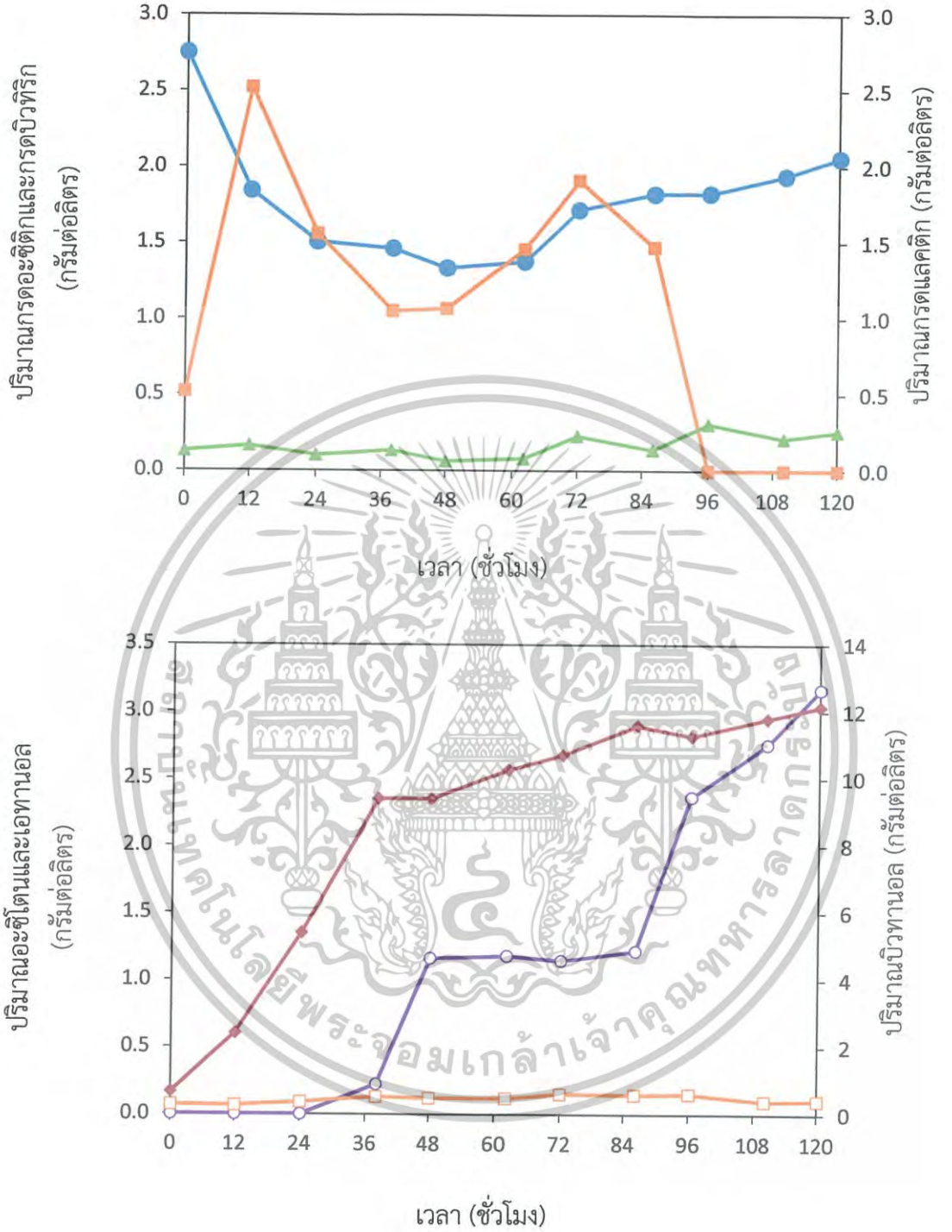
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.8** ความเข้มข้นของกรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดแลคติก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร

| เวลา (ชั่วโมง) | กรดอะซิติก | กรดบิวทิริก | กรดแลคติก | อะซิโตน | บิวทานอล | เอทานอล |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | $2.75^{a} \pm 0.15$ | $0.52^{e} \pm 0.03$ | $0.13^{de} \pm 0.02$ | $0.00^{e} \pm 0.00$ | $0.66^{g} \pm 0.07$ | $0.07^{f} \pm 0.00$ |
| 12 | $1.84^{bc} \pm 0.10$ | $2.52^{a} \pm 0.14$ | $0.16^{d} \pm 0.00$ | $0.00^{e} \pm 0.00$ | $2.41^{f} \pm 0.21$ | $0.07^{f} \pm 0.01$ |
| 24 | $1.51^{d} \pm 0.23$ | $1.56^{bc} \pm 0.92$ | $0.10^{ef} \pm 0.00$ | $0.00^{e} \pm 0.00$ | $5.40^{e} \pm 0.57$ | $0.09^{ef} \pm 0.01$ |
| 38 | $1.46^{d} \pm 0.11$ | $1.05^{cd} \pm 0.18$ | $0.13^{de} \pm 0.03$ | $0.22^{e} \pm 0.39$ | $9.40^{d} \pm 0.28$ | $0.13^{abc} \pm 0.01$ |
| 48 | $1.33^{d} \pm 0.05$ | $1.07^{cd} \pm 0.15$ | $0.06^{g} \pm 0.01$ | $1.16^{d} \pm 0.19$ | $9.40^{d} \pm 0.11$ | $0.12^{bcd} \pm 0.02$ |
| 62 | $1.38^{d} \pm 0.04$ | $1.46^{bc} \pm 0.10$ | $0.08^{fg} \pm 0.01$ | $1.18^{d} \pm 0.05$ | $10.27^{cd} \pm 0.19$ | $0.12^{cd} \pm 0.00$ |
| 72 | $1.72^{c} \pm 0.02$ | $1.91^{b} \pm 0.03$ | $0.23^{bc} \pm 0.03$ | $1.14^{d} \pm 0.02$ | $10.71^{bc} \pm 0.13$ | $0.15^{a} \pm 0.01$ |
| 86 | $1.82^{c} \pm 0.01$ | $1.47^{bc} \pm 0.55$ | $0.14^{de} \pm 0.01$ | $1.22^{d} \pm 0.12$ | $11.58^{ab} \pm 0.32$ | $0.15^{a} \pm 0.01$ |
| 96 | $1.83^{c} \pm 0.18$ | $0.00^{e} \pm 0.00$ | $0.31^{a} \pm 0.03$ | $2.36^{c} \pm 0.06$ | $11.27^{abc} \pm 1.12$ | $0.15^{a} \pm 0.04$ |
| 110 | $1.94^{bc} \pm 0.17$ | $0.00^{e} \pm 0.00$ | $0.21^{c} \pm 0.02$ | $2.76^{b} \pm 0.34$ | $11.79^{a} \pm 1.36$ | $0.10^{de} \pm 0.01$ |
| 120 | $2.06^{b} \pm 0.40$ | $0.00^{e} \pm 0.00$ | $0.26^{b} \pm 0.03$ | $3.17^{a} \pm 0.09$ | $12.15^{a} \pm 0.07$ | $0.10^{cde} \pm 0.03$ |

**หมายเหตุ** a b c d e f และ g ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน




**รูปที่ 4.6** ความเข้มข้นของ อะซิโตน บิวทานอล เอทานอล อะซิติก บิวทิริก และแลคติก ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ในอาหาร T6 ชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร สัญลักษณ์: ● กรดอะซิติก ■ กรดบิวทิริก ▲ กรดแลคติก ○ อะซีโตน ◆ บิวทานอล และ □ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.7 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ด้วยน้ำตาลที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม

### 4.7.1 การเจริญเติบโตของเชื้อ

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมปรับความเข้มข้นของน้ำตาลให้เป็น 50 กรัมต่อลิตร โดยนำส่วนใสที่ได้ไปต้มเพื่อระเหยน้ำออกทำให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร จากตารางที่ 4.9 และ รูปที่ 4.7 เห็นได้ว่าเริ่มต้นชั่วโมงที่ 0 มีน้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้น 50.82 กรัมต่อลิตร จากนั้นในชั่วโมงที่ 12 ลดลงเหลือ 42.26 กรัมต่อลิตร และลดลงเหลือ 34.04 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 38 และคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 62 และลดลงอีกครั้งที่ชั่วโมง 72 เหลือ 29.75 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 120 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 34.42 กรัมต่อลิตร

**ตารางที่ 4.9** ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าพีเอช ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Clostridium* sp. ในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งน้ำตาล

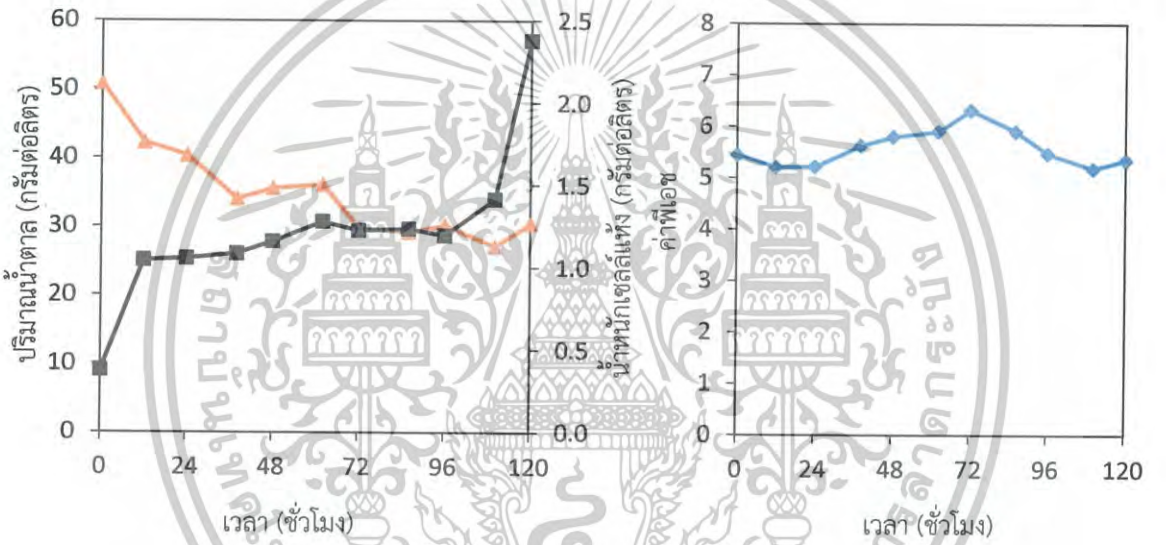
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) | ค่าพีเอช |
|---|---|---|---|
| 0 | $0.38^{d} \pm 0.09$ | $50.82^{a} \pm 1.42$ | $5.44^{d} \pm 0.02$ |
| 12 | $1.05^{c} \pm 0.07$ | $42.26^{b} \pm 0.35$ | $5.20^{ef} \pm 0.03$ |
| 24 | $1.06^{c} \pm 0.05$ | $40.35^{b} \pm 3.13$ | $5.21^{ef} \pm 0.12$ |
| 38 | $1.09^{c} \pm 0.26$ | $34.04^{c} \pm 0.25$ | $5.62^{c} \pm 0.12$ |
| 48 | $1.16^{c} \pm 0.03$ | $35.54^{c} \pm 0.55$ | $5.80^{b} \pm 0.10$ |
| 62 | $1.28^{bc} \pm 0.07$ | $36.07^{c} \pm 3.90$ | $5.90^{b} \pm 0.10$ |
| 72 | $1.23^{bc} \pm 0.09$ | $29.75^{de} \pm 0.42$ | $6.32^{a} \pm 0.00$ |
| 86 | $1.24^{bc} \pm 0.07$ | $29.19^{de} \pm 0.11$ | $5.91^{b} \pm 0.06$ |
| 96 | $1.20^{bc} \pm 0.12$ | $30.18^{d} \pm 0.38$ | $5.47^{d} \pm 0.08$ |
| 110 | $1.42^{b} \pm 0.06$ | $27.10^{e} \pm 0.35$ | $5.18^{f} \pm 0.13$ |
| 120 | $2.38^{a} \pm 0.16$ | $30.42^{d} \pm 0.32$ | $5.35^{de} \pm 0.07$ |

**หมายเหตุ** a b c d e f และ g ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 0.38 กรัมต่อลิตร จากนั้นในชั่วโมงที่ 12 เพิ่มขึ้นเป็น 1.05 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการทดลองในชุดควบคุมที่มีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาเดียวกันนี้ และในชั่วโมงที่ 38 น้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 1.09 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.96 กรัมต่อลิตร และคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 จากนั้นเพิ่มขึ้นอีกครั้งในชั่วโมงที่ 110 และเพิ่มสูงสุดในชั่วโมงที่ 120 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.38 กรัมต่อลิตร จากรูปที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าเมื่อน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลง เนื่องจากเชื้อนำน้ำตาลไปใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนค่าพีเอชเริ่มต้น 5.44 ในชั่วโมงที่ 0 และลดลงในชั่วโมงที่ 12 และ 24 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีการผลิตกรดบิวทิริกเพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.20 และ 5.21 ตามลำดับ และค่อยๆเพิ่มขึ้นจนสูงสุด 6.32 ในชั่วโมงที่ 72 และลดลงต่ำสุดในชั่วโมงที่ 110 มีค่า 5.18 สอดคล้องกับปริมาณกรดอะซิติก บิวทิริก และแลคติกที่เพิ่มสูงสุดในช่วงเวลานี้




**รูปที่ 4.7** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าพีเอช และน้ำหนักเซลล์แห้งที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อ T6 ชุดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ที่สภาวะนิ่ง ไร้ออกซิเจน อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ สัญลักษณ์: ▲ น้ำตาลรีดิวซ์ ■ น้ำหนักเซลล์แห้ง และ ◆ พีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.7.2 การสร้างผลิตภัณฑ์ของเชื้อ**

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* spp. ในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร โดยเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง มาปั่นเหวี่ยง เพื่อนำส่วนใสมาวิเคราะห์กรดอินทรีย์และตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลดังตารางที่ 4.10 รูปที่ 4.8 พบว่าในชั่วโมงเริ่มต้นมีกรดอะซิติก 3.91 กรัมต่อลิตร จากนั้นมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 2.65 กรัมต่อลิตร เนื่องจากในช่วงเวลานี้มีการผลิตบิวทานอลเพิ่มขึ้น จากนั้นมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 72 หลังจากนั้นมีปริมาณเพิ่มขึ้น และในชั่วโมงที่ 120 มีปริมาณกรดอะซิติกเท่ากับ 3.39 กรัมต่อลิตร

ปริมาณกรดบิวทิริกที่วิเคราะห์ได้ในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 0.61 กรัมต่อลิตร และมีค่าคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 24 ต่อมามีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 38 มีค่าเท่ากับ 0.93 กรัมต่อลิตร จากนั้นในชั่วโมงที่ 72 มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 1.85 กรัมต่อลิตร สุดท้ายในชั่วโมงที่ 110 และ 120 มีปริมาณสูงสุด คือ 3.97 และ 4.11 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณของกรดแลคติกที่วิเคราะห์ได้ในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 0.26 กรัมต่อลิตร แล้วเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณกรดแลคติก 2.03 กรัมต่อลิตร และลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 จนถึงชั่วโมงที่ 120 มีค่าต่ำสุดคือ 0.22 กรัมต่อลิตร

ในการวิเคราะห์เอทานอล ในชั่วโมงที่ 0 ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ หลังจากนั้นมีปริมาณเอทานอลในชั่วโมงที่ 12 เท่ากับ 0.27 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 0.34 กรัมต่อลิตร จากนั้น ในชั่วโมงที่ 62 มีปริมาณลดลงเป็น 0.13 กรัมต่อลิตร และคงที่ไปจนถึงชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก

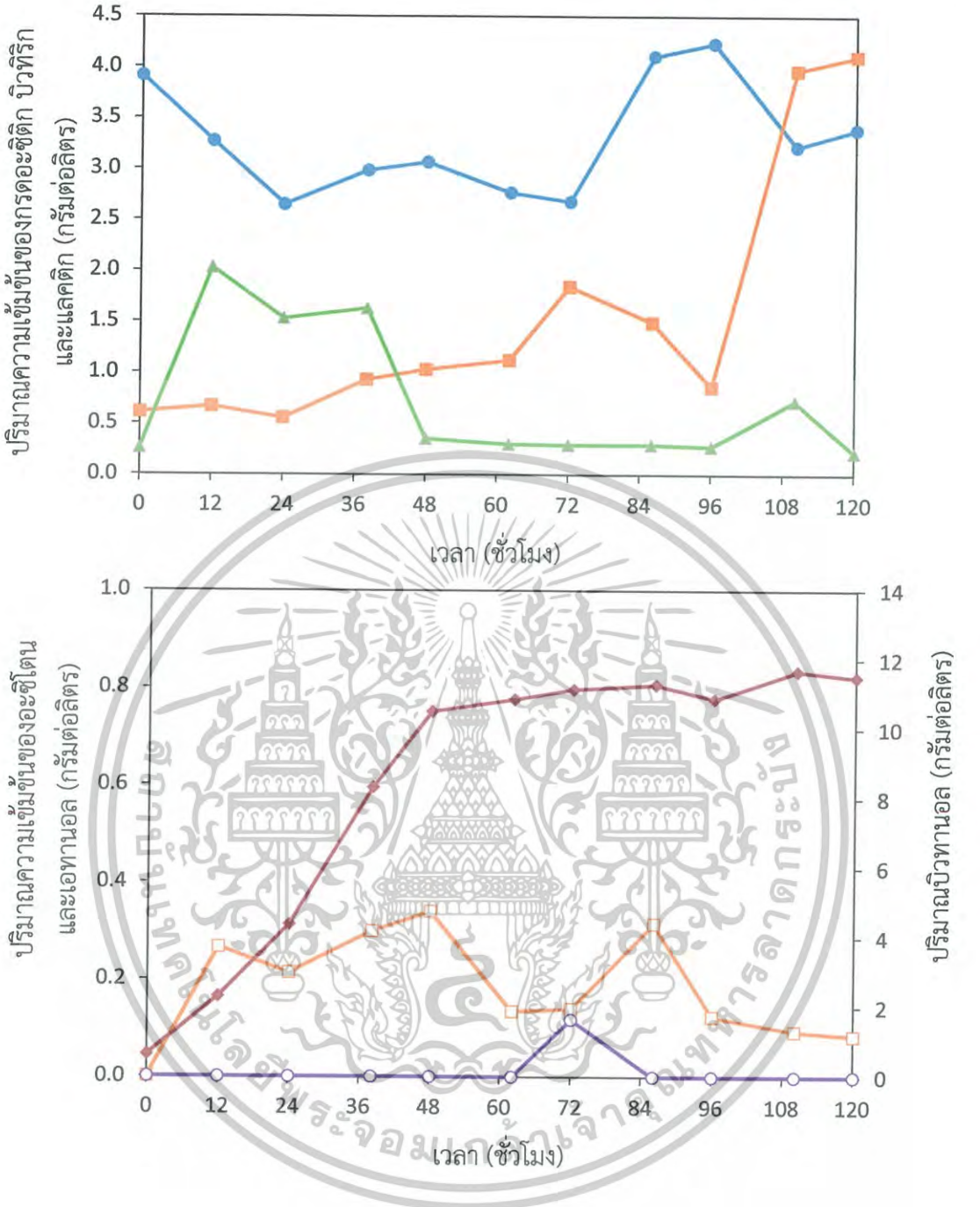
จากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารอินทรีย์ ในตารางที่ 4.11 รูปที่ 4.5 สามารถตรวจพบอะซิโตนได้ในชั่วโมที่ 72 มีปริมาณเท่ากับ 1.65 กรัมต่อลิตร เท่านั้น ส่วนปริมาณบิวทานอลในชั่วโมงที่ 0 เท่ากับ 0.63 กรัมต่อลิตร จากนั้นในชั่วโมงที่ 12 ถึง 38 มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว โดยในชั่วโมงที่ 12 มีบิวทานอล 2.31 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 24 เพิ่มขึ้นเป็น 4.39 กรัมต่อลิตร และชั่วโมงที่ 38 มีปริมาณบิวทานอล 8.33 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณบิวทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือ 10.51 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 96 จากนั้นมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 110 และ 120 เท่ากับ 11.68 และ 11.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยในการทดลองชุดควบคุมสามารถผลิตบิวทานอลได้สูงสุด เท่ากับ 11.59 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 86 เมื่อเปรียบเทียบกันแล้วพบว่า มีการผลิตบิวทานอลได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน จากงานวิจัยของสุนทรและอภิชัย (2555) ศึกษาการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล (เอบีอี) จากมันลำปะหลังโดยกระบวนการหมัก พบว่าเมื่อใช้วัตถุดิบทั้งกากมันและมันเส้นในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์นั้น แบคทีเรียจะผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้สูงสุดที่ 48 ชั่วโมง ขณะที่การใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งอาหารหลัก แบคทีเรียจะผลิตตัวทำละลายอินทรีย์สูงสุดที่ 60 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.10** ความเข้มข้นกรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดแลคติก อะซีโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม

| เวลา (ชั่วโมง) | กรดอะซิติก | กรดบิวทิริก | กรดแลคติก | อะซีโตน | บิวทานอล | เอทานอล |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | $3.91^{ab} \pm 0.15$ | $0.61^{f} \pm 0.02$ | $0.26^{d} \pm 0.01$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $0.63^{f} \pm 0.02$ | $0.00^{f} \pm 0.00$ |
| 12 | $3.27^{cd} \pm 0.29$ | $0.67^{ef} \pm 0.05$ | $2.03^{a} \pm 0.54$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $2.31^{e} \pm 0.43$ | $0.27^{b} \pm 0.01$ |
| 24 | $2.65^{e} \pm 0.44$ | $0.55^{f} \pm 0.08$ | $1.53^{b} \pm 0.59$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $4.39^{d} \pm 0.80$ | $0.21^{c} \pm 0.03$ |
| 38 | $2.99^{cde} \pm 0.46$ | $0.93^{def} \pm 0.03$ | $1.63^{b} \pm 0.27$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $8.33^{c} \pm 0.34$ | $0.30^{ab} \pm 0.03$ |
| 48 | $3.07^{cde} \pm 0.31$ | $1.03^{de} \pm 0.08$ | $0.35^{d} \pm 0.05$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $10.51^{b} \pm 0.72$ | $0.34^{a} \pm 0.02$ |
| 62 | $2.77^{de} \pm 0.10$ | $1.12^{cd} \pm 0.07$ | $0.30^{d} \pm 0.03$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $10.86^{ab} \pm 0.55$ | $0.13^{de} \pm 0.01$ |
| 72 | $2.68^{de} \pm 0.17$ | $1.85^{b} \pm 0.11$ | $0.29^{d} \pm 0.02$ | $1.65^{a} \pm 0.09$ | $11.15^{ab} \pm 0.69$ | $0.14^{d} \pm 0.09$ |
| 86 | $4.11^{a} \pm 0.36$ | $1.49^{bc} \pm 0.61$ | $0.29^{d} \pm 0.03$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $11.28^{ab} \pm 0.65$ | $0.32^{ab} \pm 0.08$ |
| 96 | $4.24^{a} \pm 0.52$ | $0.86^{def} \pm 0.02$ | $0.28^{d} \pm 0.02$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $10.87^{ab} \pm 0.09$ | $0.12^{de} \pm 0.00$ |
| 110 | $3.22^{cde} \pm 0.17$ | $3.967^{a} \pm 0.34$ | $0.72^{c} \pm 0.05$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $11.68^{a} \pm 0.31$ | $0.09^{de} \pm 0.01$ |
| 120 | $3.39^{bc} \pm 0.02$ | $4.11^{a} \pm 0.12$ | $0.22^{d} \pm 0.01$ | $0.00^{b} \pm 0.00$ | $11.50^{a} \pm 0.43$ | $0.09^{e} \pm 0.00$ |

**หมายเหตุ** a b c d e f และ g ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ค่าที่แสดงตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน




**รูปที่ 4.8** ความเข้มข้นของ อะซิโตน บิวทานอล เอทานอล อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ ในอาหาร T6 ชุดทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร สัญลักษณ์: ● กรดอะซิติก ■ กรดบิวทิริก ▲ กรดแลคติก ○ อะซิโตน ◆ บิวทานอล และ □ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด ปริมาณบิวทานอลที่ผลิตได้สูงสุด ปริมาณตัวทำละลายรวมสูงสุด ผลได้ และอัตราการผลิตบิวทานอล ของการทดลองชุดควบคุมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. และชุดทดลองที่ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมมาเปรียบเทียบกัน ดังในตารางที่ 4.11 พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดในเวลาเท่ากันคือ 120 ชั่วโมง โดยการทดลองชุดควบคุมมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.56 กรัมต่อลิตร ชุดทดลองมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.38 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ส่วนปริมาณบิวทานอลสูงสุดที่ผลิตได้ในการทดลองชุดควมคุมมีค่า 12.15 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ซึ่งต่างจากในชุดทดลองที่มีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 110 เท่ากับ 11.68 กรัมต่อลิตร เมื่อคำนวณปริมาณตัวทำละลายรวมในเวลาที่มีบิวทานอลสูงสุดของทั้งสองชุดทดลองพบว่า ชุดควบคุมมีปริมาณตัวทำละลายรวม 15.42 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าในชุดทดลองที่ผลิตตัวทำละลายรวมได้ 11.76 กรัมต่อลิตร เนื่องจากในชุดทดลองไม่มีการผลิตอะซิโตน แต่เมื่อเปรียบเทียบผลได้บิวทานอล และอัตราการผลิตบิวทานอลของทั้งสองชุดทดลองแล้วจะเห็นว่าการใช้น้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยก้านมันสำปะหลังมีผลได้ 0.57 กรัมต่อกรัม อัตราการผลิต 0.100 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนให้ผลได้ 0.44 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิต 0.096 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำตาลรีดิวซ์จากก้านมันสำปะหลังเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. สามารถผลิตบิวทานอลได้มากกว่าการใช้น้ำตาลกลูโคส โดยใช้ปริมาณน้ำตาล และเวลาที่เท่ากัน

**ตารางที่ 4.11** ปริมาณบิวทานอลที่ผลิตได้สูงสุด ปริมาณตัวทำละลายรวม ผลได้บิวทานอล และอัตราการผลิตบิวทานอล ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม

| ค่าพารามิเตอร์ของการหมัก | ชุดควบคุม | ชุดทดลอง |
|---|---|---|
| เวลา (ชั่วโมง) | 120 | 110 |
| ปริมาณบิวทานอลสูงสุด (กรัมต่อลิตร) | 12.15 ± 0.07 | 11.68 ± 0.31 |
| ปริมาณตัวทำละลายรวม (กรัมต่อลิตร) | 15.42 ± 0.02 | 11.76 ± 0.30 |
| ผลได้บิวทานอล (กรัมต่อกรัม) | 0.44 | 0.57 |
| อัตราการผลิตบิวทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) | 0.096 | 0.100 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลวิจัย

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้นสูงสุด เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. โดยก่อนการทดลองได้ทำการวิเคราะห์สารประกอบหลักของก้านมันสำปะหลังพบว่า มีความชื้นร้อยละ 7.85 ปริมาณโปรตีนหยาบร้อยละ 0.74 ปริมาณไขมันหยาบร้อยละ 0.46 ปริมาณเยื่อใยหยาบร้อยละ 38.67 ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 22.48 ปริมาณเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 4.43 และปริมาณลิกนินร้อยละ 9.38 จากนั้นทำการศึกษาการการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ แบ่งเป็นการใช้เอนไซม์เซลลูเลสย่อยก้านสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริก และเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ โดยมีน้ำกลั่นชุดควบคุม การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส และการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม

ผลการปรับสภาพที่เหมาะสมต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เมื่อนำส่วนใสที่ได้จากการปรับสภาพมาวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า การปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกให้น้ำตาลรีดิวซ์ในส่วนใสสูงสุด 50.74±0.18 กรัมต่อลิตร การปรับสภาพด้วยสารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์พบน้ำตาลในส่วนใสเพียง 0.22±0.02 กรัมต่อลิตร และจากการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่นพบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 4.79±0.21 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เปรียบเทียบน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังด้วยสารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์มีน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 10.94±0.29 กรัมต่อลิตร เห็นได้ว่าก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบสได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณน้อย จึงทำให้การย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด แต่ยังไม่พียงพอต่อการนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อ จากนั้นศึกษาการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์อะไมเลส โดยย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 2 ชั่วโมง และกลูโคอะไมเลส 4 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 34.85±0.75 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณมากกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

จากการศึกษาการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมของเซลลูเลส กลูโคอะไมเลส และแอลฟาอะไมเลส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในชั่วโมงที่ 38 เท่ากับ 47.18±0.73 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลส หรืออะไมเลสอย่างเดียว จึงเลือกวิธีการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม เพื่อนำน้ำตาลรีดิซว์ที่ได้มาเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์หาชนิดน้ำตาลหลังการย่อยโดยใช้เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) พบน้ำตาลกลูโคส 29.94±0.37 กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตร มอลโตส 3.54±0.06 กรัมต่อลิตร และ ไซโลส 2.30±0.05 กรัมต่อลิตร และไม่พบน้ำตาลเซลโลไบโอส

ต่อมานำส่วนใสที่ได้จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมมาปรับความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 50 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปใช้เพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* sp. ที่คัดแยกได้ เพื่อผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล และใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เป็นชุดควบคุม พบว่า ค่าพีเอชของทั้ง 2 ชุดการทดลองมีแนวโน้มเดียวกันคือ ลดลงและเพิ่มขึ้นในภายหลังเพียงเล็กน้อยระหว่างการเพาะเลี้ยง ผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า ในชุดทดลองเชื้อมีการนำน้ำตาลไปใช้เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์อย่างต่อเนื่อง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแล้วพบว่าเชื้อนำน้ำตาลไปใช้น้อยกว่าเล็กน้อย โดยในชุดทดลองมีน้ำตาลเหลือ 30.42±0.32 กรัมต่อ ส่วนชุดควบคุมมีน้ำตาลในชั่วโมงที่ 120 เท่ากับ 20.01 กรัมต่อลิตร

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ในอาหาร T6 ที่ใช้น้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมด้วยเครื่อง HPLC พบว่า มีการสร้างสารผลิตภัณฑ์กรดอะซิติก กรดบิวทิริก แลคติก อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล โดยพบกรดอะซิติกในอาหารตั้งแต่เริ่มต้นการหมักเท่ากับ 3.91± 0.15 กรัมต่อลิตร กรดบิวทิริกสูงสุด 4.11±0.12 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ปริมาณอะซิโตนพบในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 1.65±0.09 กรัมต่อลิตร พบเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.34±0.02 กรัมต่อลิตร และในชุดทดลองมีบิวทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 110 เท่ากับ 11.68±0.31 กรัมต่อลิตร ส่วนชุดควบคุมสามารถผลิตบิวทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 12.15±0.07 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ซึ่งมีบิวทานอลในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบผลได้และอัตราการผลิตบิวทานอลสูงสุดแล้วพบว่า ในชุดทดลองมีผลได้ 0.57 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตบิวทานอลสูงสุด 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนชุดควบคุมมีผลได้ 0.44 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิต 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าน้ำตาลรีดิวซ์จากก้านมันสำปะหลังที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ผสมสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนทดแทนน้ำตาลกลูโคสเพื่อผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม อาจเพิ่มความเข้มข้นหรืออัตราส่วนของเอนไซม์กับก้านมันสำปะหลัง เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้นและใช้เวลาในการย่อยลดลง

2. ในงานวิจัยครั้งนี้เลือกวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรคือลก้านมันสำปะหลัง หากต้องการวิจัยต่อยอดอาจเลือกส่วนอื่น หรือการเลือกก้านมันสำปะหลังที่ปรับสภาพได้ดีกว่าเช่น มีอายุเหมาะสม เลือกขนาดลำต้นที่ชัดเจน เพื่อให้ได้ผลการวิจัยดียิ่งขึ้น

3. งานวิจัยนี้ทำการทดลองในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการพัฒนาต่อยอดควรทำการเพาะเลี้ยงในถังหมัก ซึ่งมีกำลังการผลิตมากกว่าระดับฟลาสก์ สามารถควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงได้ดีกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2550. เทคโนโลยีของแป้ง. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 303 หน้า.

กำไล เลาหพัฒนาเลิศ กฤติธี แจ่มจำรูญ และลักขณา โกบปุเลา. 2559. การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยการใช้กรดและด่างเจือจางในกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการหมักแบบรวมการย่อยในขั้นตอนเดียว. การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2559.

ชนิกา อื้อพานิช ชมภูนุช วิรุณานนท์ และวรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2555. "ไบโอบิวทานอล: เชื้อเพลิงเหลวที่กำลังจะมาทดแทนเอทานอล" วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 22(3): 703-709

ฐิติกร พูลภัทรชีวิน. 2555. ปัญหาน้ำมันตอนที่ 1 สาเหตุแห่งปัญหาและผลกระทบต่อประเทศไทย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.gotoknow.org/posts/322272; (23 มกราคม 2560).

ฐิติมา วีระศิลป์. 2542. มันสำปะหลัง. หจก.เกษตรการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร. 13-22.

ณัฐพงษ์ ดิฐกุลชัยมงคล และเศรษฐวัชร ฉ่ำศาสตร์. 2558. "การศึกษาประสิทธิภาพและต้นทุนในการ ย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์". วารสารวิชาการประจอมเกล้าพระนครเหนือ 22(3): 703-709

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2550. น้ำมันแก๊สโซฮอล์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.eppo.go.th/images/Infromation_service/Publication/Book/Gasohal.pdf.; (23 มกราคม 2560).

รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2554. "การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลเสทผักตบชวาโดยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตบิวทานอล". E-Journal มหาวิทยาลัยศิลปากร. 4(1): 891-901

วิชิต พิมพ์สวัสดิ์. 2558. สถานการณ์มันสำปะหลังของไทยเดือนธันวาคม 2558. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.bot.or.th/Thai/MonetaryPolicy/NorthEastern/DocLib_Research /01--cassava_Condi_Dec2015.pdf.; (23 มกราคม 2560).

สุนทร กาญจนทวี และอภิชัย สาวิสิทธิ์. 2555. การศึกษาการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล (เอบีอี) จากมันสำปะหลังในกระบวนการหมัก. รายงานการวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชา เทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/4018/1/FulltExt+SUT3304-0-24-30.pdf.; (26 มิถุนายน 2560).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

อังคณา มุขพลอย. 2552. "สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตบิวทานอลจากสารสกัดฟางข้าวโดยเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* สายพันธุ์ JCM 1419". วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข. 2558. "การปรับสภาพผักตบชวาและการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอล". วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อาภาณี เหลืองนฤมิตชัย. 2553. โครงการวิจัยการสังเคราะห์บิวทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร: รายงานผลการวิจัย. กรุงเทพมหานคร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Al-Shorgani, N.K.N., H. Shukor, P. Abdeshahian, M.Y.M. Nazir, M.S. Kalil, A.A. Humid and W.M.W. Yusoff. 2015. Process optimization of butanol production by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564) using palm oil mill effluent in acetone–butanol–ethanol fermentation. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 4: 244-249.

Chen, H. 2014. Biotechnology of Lignocellulose Theory and Practice. Springer Publishong Company. USA. p.29-31.

Jones, D. and Woods, D. 1986. Acetone-Butanol Fermentation Revisited. Microbiological Review, 50(4): 484-524.

Keis, S., Shaheen, R., & Jones, D. T. 2001. Emended descriptions of *Clostridium acetobutylicum* and *Clostridium beijerinckii*, and descriptions of *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* sp. nov. and *Clostridium saccharobutylicum* sp. nov. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 51(6): 2095-2103.

Li, H., F.K. Ofosu, K. Li, Q. Gu, Q. Wang and X. Yu. 2014. Acetone, butanol, and ethanol production from gelatinized cassava flour by a new isolates with high butanol tolerance. Bioresource Technology. 172: 276-282.

Li, H., Q, Zhang., X, Yu., L, Wei. and Q, Wang. 2016. Enhancement of butanol production in *Clostridium acetobutylicum* SE25 through accelerating phase shift by different phases pH regulation from cassava flour. Bioresource Technology 201: 148-155.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Pang, Z., W, Lu., H. Zang., Z, Liang., J, Liang., L, Du., Ch, Duan. and J, Feng. 2016. Butanol production employing fed-batch fermentation by *Clostridium acetobutylicum* GX01 using alkali-pretreated sugarcane bagasse hydrolysed by enzymes from Thermoascus aurantiacus QS 7-2-4. Bioresource Technology 212: 82-91.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

## ข้อมูลการเตรียมสารและกราฟมาตรฐาน

### การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

**การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน**

- เตรียม stock น้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เตรียมโดยชั่งน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตต์น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร มาปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

- เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1000\ \mu g/mL\ (v_1) = (200\ \mu g/mL)(5\ mL)$$

$$v_1 = 1\ mL$$

ดังนั้นสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้กลูโคส 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

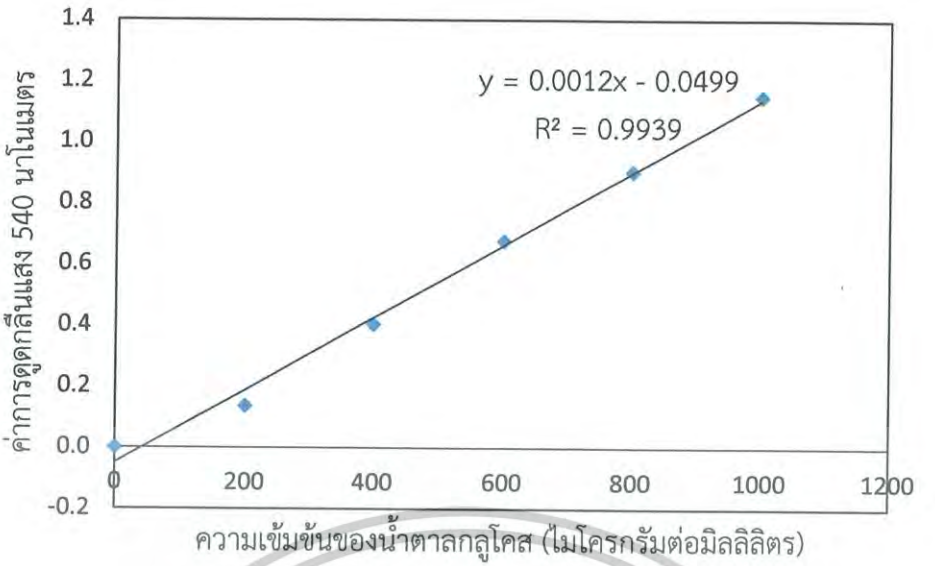
การเตรียมสารละลาย DNS (Dinitrosalicylic acid) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

ละลาย NaOH 10 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาณหนึ่ง (ไม่เกิน 600 มิลลิลิตร) ละลายจนหมด จากนั้นค่อยๆ เติม DNS 10 กรัม โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต (Sodium Potassium Tartrate) 200 กรัม เติมฟีนอล 0.2 กรัม และ $Na_2SO_3$ 0.5 กรัม โดยค่อยๆละลายสารเคมีแต่ละตัวจนหมด จึงค่อยเติมสารเคมีตามลำดับจนครบทุกตัว จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

**ตารางที่ ก.1** ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อทำการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

| ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร |
|---|---|
| 0 | 0 |
| 200 | 0.1355 |
| 400 | 0.4025 |
| 600 | 0.6760 |
| 800 | 0.9030 |
| 1000 | 1.1485 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ ก.1** กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี DNS

## การเตรียมสารละลายอินทรีย์มาตรฐานเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ HPLC

### การเตรียมสารละลายกรดอะซิติก (Acetic acid) มาตรฐาน

ความเข้มข้นของกรดอะซิติกคือ 99.98% มวลโมเลกุล 60.05 และความหนาแน่นที่ 25 °C คือ 1.05 คำนวณความเข้มข้นกรดอะซิติกจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C = \frac{10 \times \text{ความหนาแน่น} \times \text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น}}{\text{มวลโมเลกุล}} = \frac{10 \times 1.05 \times 99.8}{60.05} = 17.45 \text{ โมลาร์}$$

- เตรียมสารละลาย (Stock) กรดอะซิติกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(17.45\ M)(v_1) = (1.0\ M)(20\ ml)$$

$$v_1 = 1.15\ ml$$

- เตรียมสารละลาย (Standard) กรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(1.0\ M)(v_1) = (0.2\ M)(10\ ml)$$

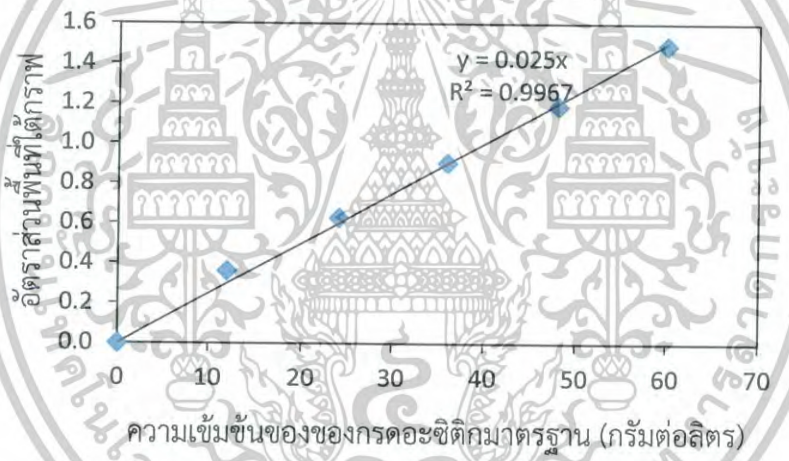
$$v_1 = 2\ ml$$

ดังนั้นสารละลายกรดอะซิติกมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จะต้องใช้กรดอะอะซิติก ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ก.2** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายกรดอะซิติกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นกรดอะซิติกมาตรฐาน (โมลาร์) | ความเข้มข้นกรดอะซิติกมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟกรดอะซิติก | พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟกรดอะซิติก/พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก |
|---|---|---|---|---|
| 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | 12.01 | 982447 | 2717155 | 0.3616 |
| 0.4 | 24.02 | 1691623 | 2696277 | 0.6274 |
| 0.6 | 36.03 | 2498789 | 2767550 | 0.9029 |
| 0.8 | 48.04 | 3538774 | 2986155 | 1.1851 |
| 1.0 | 60.05 | 4495976 | 3017263 | 1.4901 |




**รูปที่ ก.2** กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดอะซิติก ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

**การเตรียมสารละลายกรดบิวทิริก (Butiric acid) มาตรฐาน**

ความเข้มข้นกรดบิวทิริกคือ 99% มวลโมเลกุล 88.11 ความหนาแน่นที่ 25°C คือ 0.958 คำนวณความเข้มข้นกรดบิวทิริกจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C = \frac{10 \times \text{ความหนาแน่น} \times \text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น}}{\text{มวลโมเลกุล}} = \frac{10 \times 0.958 \times 99}{88.11} = 10.76 \text{ โมลาร์}$$

- เตรียมสารละลาย (Stock) กรดบิวทิริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(10.76\ M)(v_1) = (1.0\ M)(25\ ml)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$v_1$ = 2.32 ml

- เตรียมสารละลาย (Stardard) กรดบิวทิริกความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$c_1v_1 = c_2v_2$$

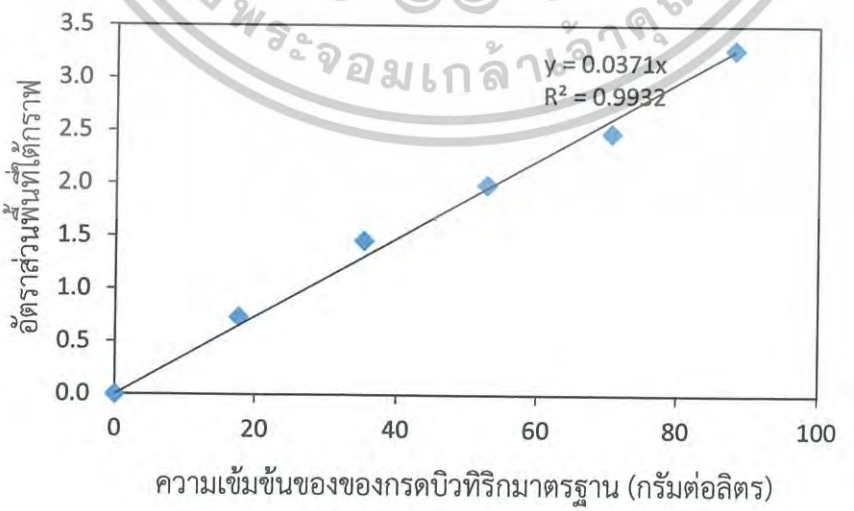
$$(1.0\ M)(v_1) = (0.2\ M)(10\ ml)$$

$$v_1 = 2\ ml$$

ดังนั้นสารละลายกรดบิวทิริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จะต้องใช้กรดบิวทิริกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ก.3** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายกรดบิวทิริกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นกรดบิวทิริกมาตรฐาน (โมลาร์) | ความเข้มข้นกรดบิวทิริกมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟกรดบิวทิริก | พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟกรดบิวทิริก/พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก |
|---|---|---|---|---|
| 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | 17.62 | 2028573 | 2764808 | 0.7337 |
| 0.4 | 35.24 | 4079808 | 2798637 | 1.4578 |
| 0.6 | 52.87 | 5520455 | 2774590 | 1.9897 |
| 0.8 | 70.49 | 6913946 | 2787546 | 2.4803 |
| 1.0 | 88.11 | 9159272 | 2795656 | 3.2763 |




**รูปที่ ก.3** กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดบิวทิริก ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การเตรียมสารละลายกรดแลคติก (Lactic acid) มาตรฐาน**

ความเข้มข้นกรดแลคติกคือ 85% มวลโมเลกุล 112.06 ความหนาแน่นที่ 25 °C คือ 1.27 คำนวณความเข้มข้นกรดแลคติกจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C = \frac{10 \times \text{ความหนาแน่น} \times \text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น}}{\text{มวลโมเลกุล}} = \frac{10 \times 1.25 \times 85}{112.06} = 9.63 \text{ โมลาร์}$$

- เตรียมสารละลาย (Stock) กรดแลคติกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(9.63\ M)(v_1) = (1.0\ M)(20\ ml)$$
$$v_1 = 2.08\ ml$$

- เตรียมสารละลาย (Stardard) กรดแลคติกความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

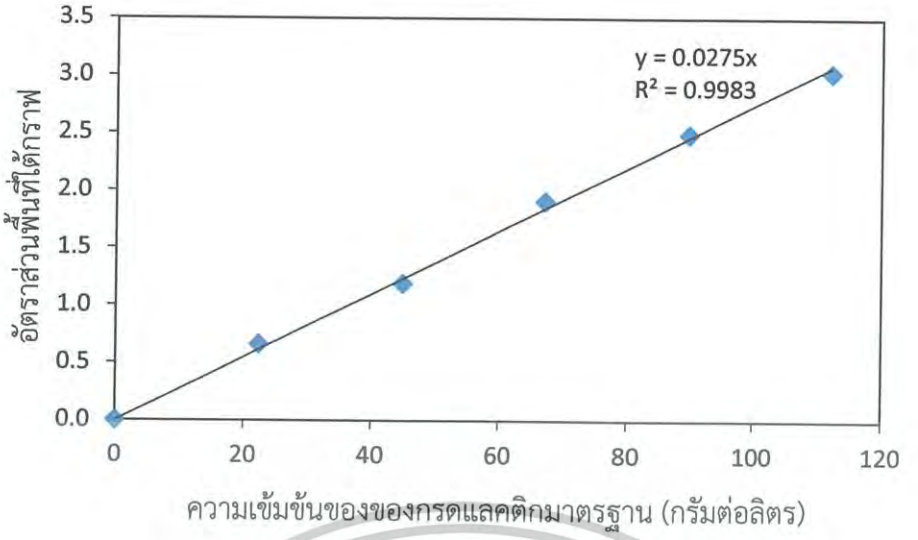
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(1.0\ M)(v_1) = (0.2\ M)(10\ ml)$$
$$v_1 = 2\ ml$$

ดังนั้นสารละลายกรดแลคติกมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ใช้กรดแลคติกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ก.4** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายกรดแลคติกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นกรดแลคติกมาตรฐาน (โมลาร์) | ความเข้มข้นกรดแลคติกมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟกรดแลคติก | พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟกรดแลคติก/พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก |
|---|---|---|---|---|
| 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | 22.41 | 1873179 | 2829642 | 0.6620 |
| 0.4 | 44.82 | 3347222 | 2813390 | 1.1898 |
| 0.6 | 67.24 | 5266410 | 2760530 | 1.9078 |
| 0.8 | 89.65 | 6937082 | 2784393 | 2.4914 |
| 1.0 | 112.06 | 8645968 | 2854851 | 3.0285 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ ก.4** กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแลคติก ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

**การเตรียมสารละลายอะซิโตน (Acetone) มาตรฐาน**

ความเข้มข้นอะซิโตนคือ 99.98% มวลโมเลกุล 58.05 และความหนาแน่นที่ 25°C คือ 0.791 คำนวณความเข้มข้นอะซิโตนจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C = \frac{10 \times \text{ความหนาแน่น} \times \text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น}}{\text{มวลโมเลกุล}} = \frac{10 \times 0.791 \times 99.98}{58.05} = 13.62 \text{ โมลาร์}$$

- เตรียมสารละลาย (Stock) อะซิโตนความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(13.62\ M)(v_1) = (1.0\ M)(25\ ml)$$
$$V_1 = 1.89\ ml$$

- เตรียมสารละลาย (Stardard) อะซิโตนความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

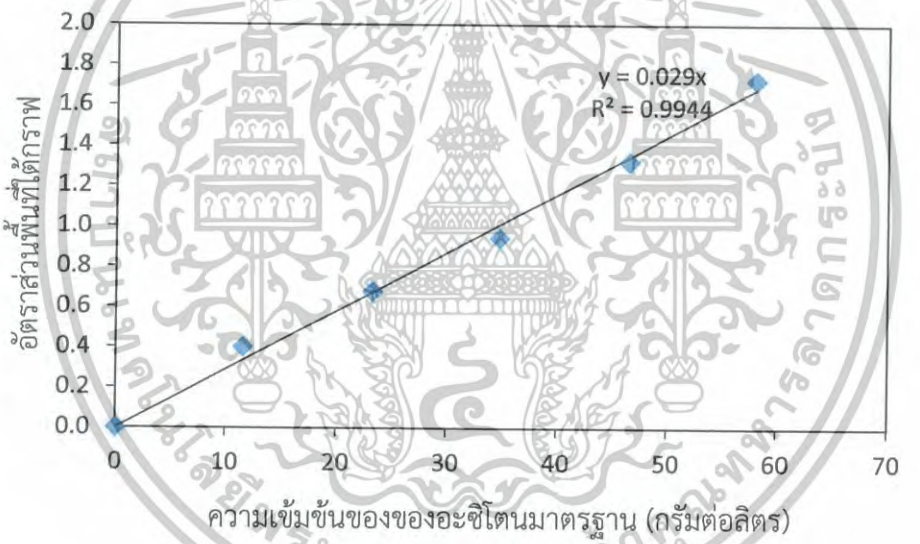
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(1.0\ M)(v_1) = (0.2\ M)(10\ ml)$$
$$V_1 = 2\ ml$$

ดังนั้นสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ใช้อะซิโตนความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ก.5** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายอะซิโตนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นอะซิโตนมาตรฐาน (โมลาร์) | ความเข้มข้นอะซิโตนมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟอะซิโตน | พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟอะซิโตน/พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก |
|---|---|---|---|---|
| 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | 11.61 | 485571 | 1212371 | 0.4001 |
| 0.4 | 23.22 | 911652 | 1345066 | 0.6778 |
| 0.6 | 34.83 | 1334731 | 1414571 | 0.9436 |
| 0.8 | 46.44 | 1898191 | 1436005 | 1.3219 |
| 1.0 | 58.05 | 2349263 | 1361696 | 1.7252 |




**รูปที่ ก.5** กราฟมาตรฐานของสารละลายอะซิโตน ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

**การเตรียมสารละลายบิวทานอล (Butanol) มาตรฐาน**

ความเข้มข้นบิวทานอลคือ 99.7% มวลโมเลกุล 74.12 ความหนาแน่นที่ 25°C คือ 0.81 คำนวณความเข้มข้นจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C = \frac{10 \times \text{ความหนาแน่น} \times \text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น}}{\text{มวลโมเลกุล}} = \frac{10 \times 0.81 \times 99.7}{74.12} = 10.90 \text{ โมลาร์}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เตรียมสารละลาย (Stock) บิวทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(10.90\ M)(v_1) = (1.0\ M)(10\ ml)$$
$$v_1 = 0.92\ ml$$

- เตรียมสารละลาย (Stardard) บิวทานอลความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

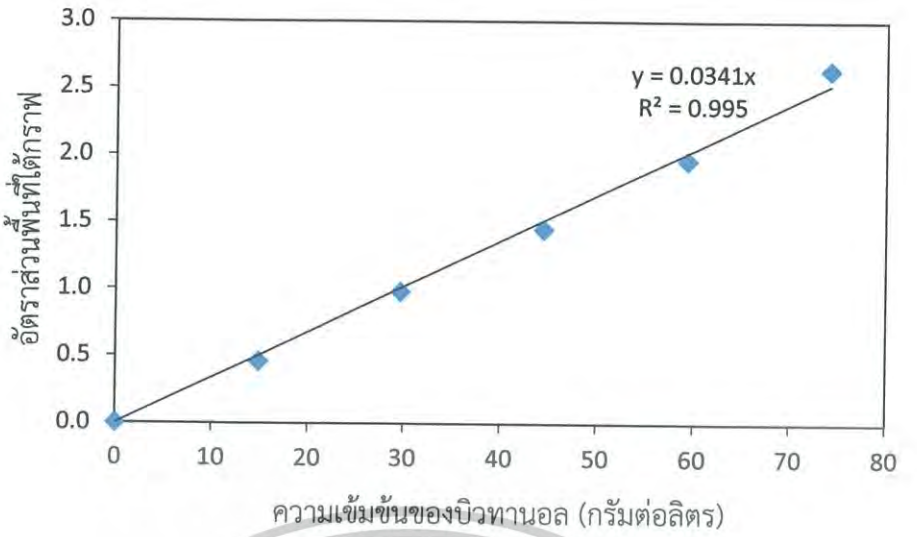
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(1.0\ M)(v_1) = (0.2\ M)(1\ ml)$$
$$v_1 = 0.2\ ml$$

ดังนั้นสารละลายบิวทานอลความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ใช้บิวทานอลความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ก.6** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายบิวทานอลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นบิวทานอลมาตรฐาน (โมลาร์) | ความเข้มข้นบิวทานอลมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟบิวทานอล | พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟบิวทานอล/พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก |
|---|---|---|---|---|
| 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | 14.82 | 723403 | 1570213 | 0.4607 |
| 0.4 | 29.65 | 1490879 | 1521784 | 0.9797 |
| 0.6 | 44.47 | 2274397 | 1571360 | 1.4474 |
| 0.8 | 59.30 | 2974902 | 1516435 | 1.9618 |
| 1.0 | 74.12 | 4112778 | 1561188 | 2.6382 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ ก.6** กราฟมาตรฐานของสารละลายบิวทานอล ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

**การเตรียมสารละลายเอทานอล (Ethanol) มาตรฐาน**

ความเข้มข้นของเอทานอลคือ 99.5% มวลโมเลกุล 46.08 และความหนาแน่นที่ 25°C คือ 0.789 คำนวณความเข้มข้นของเอทานอลจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C = \frac{10 \times \text{ความหนาแน่น} \times \text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น}}{\text{มวลโมเลกุล}} = \frac{10 \times 0.789 \times 99.5}{46.08} = 17.04 \text{ โมลาร์}$$

- เตรียมสารละลาย (Stock) เอทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(17.04 \text{ M})X(v_1) = (1.0 \text{ M})(100 \text{ ml})$$
$$V_1 = 5.87 \text{ ml}$$

- เตรียมสารละลาย (Stardard) เอทานอลความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

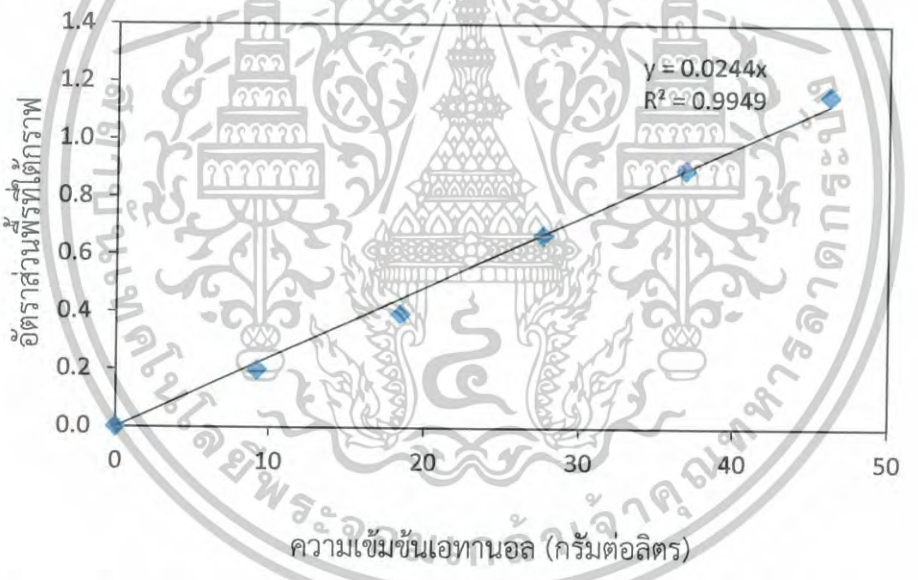
$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$(1.0 \text{ M})(v_1) = (0.2 \text{ M})(1 \text{ ml})$$
$$V_1 = 0.2 \text{ ml}$$

ดังนั้นสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ใช้เอทานอลความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ก.7** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายเอทานอลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นเอทานอลมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | ความเข้มข้นเอทานอลมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟเอทานอล | พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเอทานอล/พื้นที่ใต้กราฟกรดซิตริก |
|---|---|---|---|---|
| 0.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | 9.22 | 345758 | 1740630 | 0.1986 |
| 0.4 | 18.43 | 676090 | 1720097 | 0.3931 |
| 0.6 | 27.65 | 1000061 | 1496650 | 0.6682 |
| 0.8 | 36.86 | 1362447 | 1519770 | 0.8965 |
| 1.0 | 46.08 | 1700647 | 1473749 | 1.1540 |




**รูปที่ ก.7** กราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอล ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

## การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลเพื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

### การเตรียมน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

- เตรียมสารละลาย (Stock) 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลาย (Standard) กลูโคสความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$C_1V_1$ = $C_2V_2$

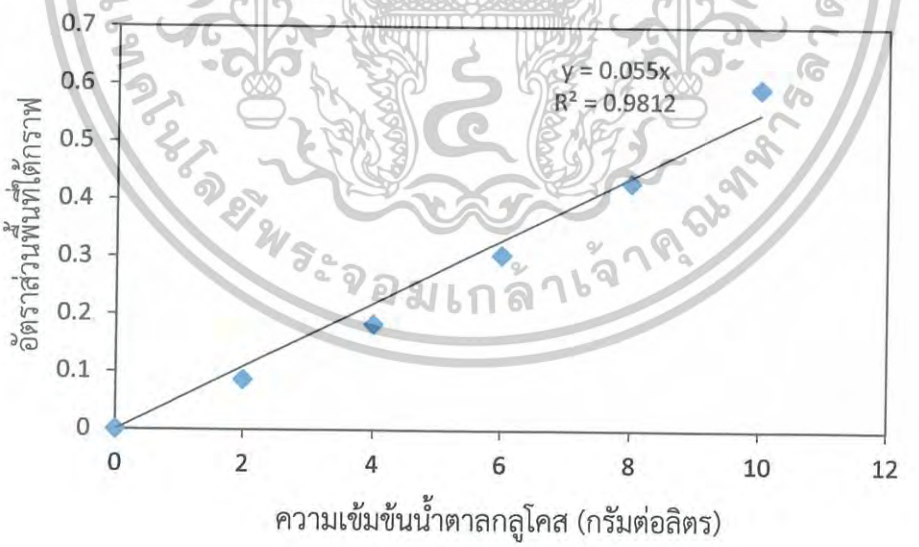
10 g/l ($v_1$) = (2 g/l)(10 ml)

$V_1$ = 2 ml

ดังนั้นสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร จะต้องใช้กลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ก.8** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 65 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นกลูโคสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟกลูโคส | พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟกลูโคส/พื้นที่ใต้กราฟกลีเซรอล |
|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 277386 | 3200913 | 0.0867 |
| 4 | 586016 | 3201849 | 0.1830 |
| 6 | 992116 | 3268403 | 0.3036 |
| 8 | 1373950 | 3198612 | 0.4296 |
| 10 | 1902393 | 3205865 | 0.5934 |




**รูปที่ ก.8** กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

**การเตรียมสารละลายไซโลสมาตรฐาน**

- เตรียมสารละลาย (Stock) 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำตาลไซโลส 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เตรียมสารละลาย (Standard) ไซโลสความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

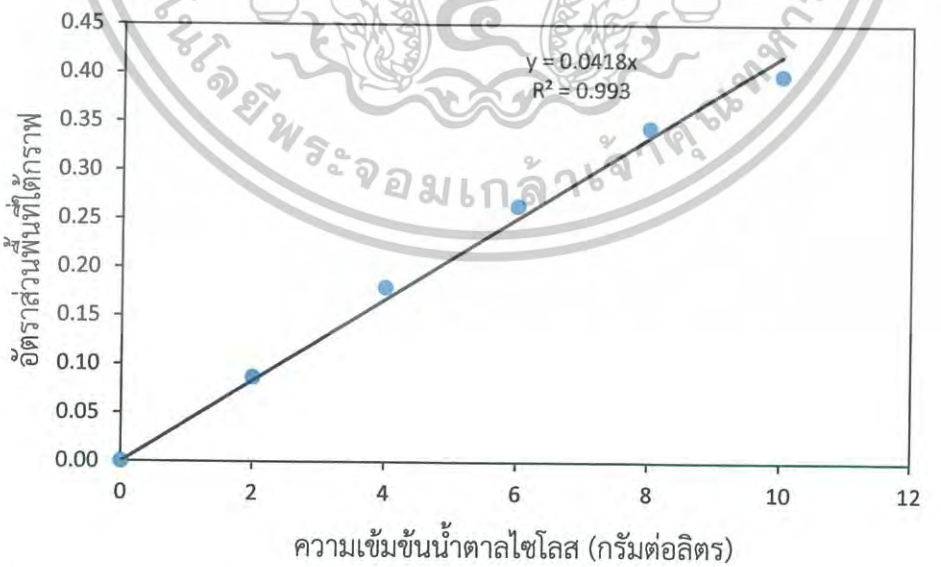
$$10\ g/l\ (v_1) = (2\ g/l)(10\ ml)$$

$$V_1 = 2\ ml$$

ดังนั้นสารละลายไซโลสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร จะต้องใช้ไซโลสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ก.9** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายไซโลสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 65 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นไซโลสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟไซโลส | พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟไซโลส/พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล |
|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 280603 | 2338002 | 0.0869 |
| 4 | 575498 | 3208777 | 0.1794 |
| 6 | 841451 | 3194775 | 0.2632 |
| 8 | 1118613 | 3255592 | 0.3436 |
| 10 | 1288382 | 3240513 | 0.3976 |




**รูปที่ ก.9** กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสมาตรฐาน ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การเตรียมสารละลายเซลโลไบโอสมาตรฐาน**

- เตรียมสารละลาย (Stock) 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำตาลเซลโลไบโอส 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลาย (Standard) เซลโลไบโอสความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$10\ g/l\ (V_1) = (2\ g/l)(10\ ml)$$

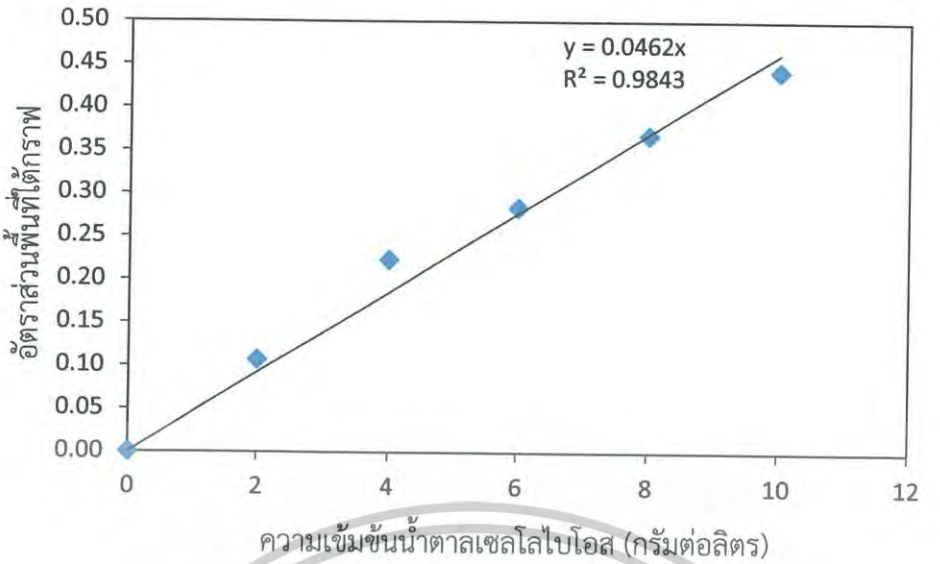
$$V_1 = 2\ ml$$

ดังนั้นสารละลายเซลโลไบโอสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร จะต้องใช้เซลโลไบโอสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ก.10** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายเซลโลไบโอสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 65 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นเซลโลไบโอสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟเซลโลไบโอส | พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเซลโลไบโอส/พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล |
|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 343772 | 3211231 | 0.1071 |
| 4 | 714027 | 3201345 | 0.2230 |
| 6 | 909611 | 3208048 | 0.2835 |
| 8 | 1199403 | 3262181 | 0.3677 |
| 10 | 1438008 | 3252398 | 0.4421 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ ก.10** กราฟมาตรฐานของสารละลายเซลโลไบโอสมาตรฐาน ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

**การเตรียมสารละลายมอลโตสมาตรฐาน**

- เตรียมสารละลาย (Stock) 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำตาลมอลโตส 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลาย (Standard) มอลโตสความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$C_1V_1 = C_2V_2$

$10\ g/l\ (v_1) = (2\ g/l)(10\ ml)$

$V_1 = 2\ ml$

ดังนั้นสารละลายมอลโตสมาตรฐาน 2 กรัมต่อลิตร จะต้องใช้มอลโตสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ก.11** พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมอลโตสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Amines®Fermentation Monitor ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 150 มิลลิเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนคอลัมน์ (Column oven) ทำงานที่ 65 องศาเซลเซียส

| ความเข้มข้นมอลโตสฐาน (กรัมต่อลิตร) | พื้นที่ใต้กราฟมอลโตส | พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล | อัตราส่วนพื้นที่ใต้กรามอลโตส/พื้นที่ใต้กราฟกลีเซอรอล |
|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 323708 | 3156653 | 0.1025 |
| 4 | 571208 | 3033964 | 0.1883 |
| 6 | 1065396 | 3200773 | 0.3329 |
| 8 | 1484820 | 3201844 | 0.4637 |
| 10 | 2019990 | 3222936 | 0.6268 |

**รูปที่ ก.11** กราฟมาตรฐานของสารละลายมอลโตสมาตรฐาน ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

**การเตรียมสารละลาย Internal standard**

- เตรียมสารละลายกรดซิตริก 2% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยชั่งกรดซิตริก 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร เพื่อใช้เป็น Internal standard ของสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์และสารละลายมาตรฐาน ABE แต่ละความเข้มข้น (อัตราส่วน standard 0.5 มิลลิลิตร : กรดซิตริก 2% 0.5 มิลลิลิตร)

- เตรียมสารละลาย (Stock) 2% กลีเซอรอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตต์กลีเซอรอลเข้มข้นปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร เพื่อใช้เป็น Internal standard ของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลแต่ละความเข้มข้น (อัตราส่วน standard 0.5 มิลลิลิตร : กลีเซอรอล 2% 0.5 มิลลิลิตร)

**การเตรียมสารละลาย Mobile phase กรดซัลฟิวริก**

เตรียมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5 mM โดยออโต้ปิเปตต์กรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 0.272 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมโครเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข
# การวิเคราะห์ทางสถิติ

**ตารางที่ ข.1** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้ในส่วนใสที่แยกจากในการปรับสภาพก้านมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ และน้ำกลั่น

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| การปรับสภาพ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| น้ำกลั่น | 3 | 4.7926 | .21001 | .12125 | 4.2709 | 5.3142 | 4.57 | 4.98 | |
| เบส | 3 | .2169 | .02294 | .01324 | .1599 | .2739 | .20 | .24 | |
| กรด | 3 | 50.7387 | .17765 | .10256 | 50.2974 | 51.1800 | 50.64 | 50.94 | |
| Total | 9 | 18.5827 | 24.19863 | 8.06621 | .0180 | 37.1834 | .20 | 50.94 | |
| Model Fixed Effects | | | .15936 | .05312 | 18.4528 | 18.7127 | | | |
| Random Effects | | | | 16.13216 | -50.8283 | 87.9938 | | | 780.73109 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 4684.437 | 2 | 2342.219 | 92229.330 | .000 |
| Within Groups | .152 | 6 | .025 | | |
| Total | 4684.590 | 8 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| การปรับสภาพ | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| เบส | 3 | .2169 | | |
| น้ำกลั่น | 3 | | 4.7926 | |
| กรด | 3 | | | 50.7387 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.2** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 4.4830 | .11136 | .06429 | 4.2064 | 4.7596 | 4.38 | 4.60 | |
| 14 | 3 | 10.6163 | .70890 | .40928 | 8.8553 | 12.3773 | 9.80 | 11.10 | |
| 24 | 3 | 12.3230 | .68147 | .39345 | 10.6301 | 14.0159 | 11.54 | 12.80 | |
| 38 | 3 | 13.7630 | .99519 | .57457 | 11.2908 | 16.2352 | 12.88 | 14.84 | |
| 48 | 3 | 13.2963 | .18475 | .10667 | 12.8374 | 13.7553 | 13.08 | 13.40 | |
| Total | 15 | 10.8963 | 3.54235 | .91463 | 8.9346 | 12.8580 | 4.38 | 14.84 | |
| Model Fixed Effects | | | .63307 | .16346 | 10.5321 | 11.2605 | | | |
| Random Effects | | | | 1.69148 | 6.2000 | 15.5926 | | | 14.17201 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 171.667 | 4 | 42.917 | 107.085 | .000 |
| Within Groups | 4.008 | 10 | .401 | | |
| Total | 175.675 | 14 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 0 | 3 | 4.4830 | | | |
| 14 | 3 | | 10.6163 | | |
| 24 | 3 | | | 12.3230 | |
| 48 | 3 | | | 13.2963 | 13.2963 |
| 38 | 3 | | | | 13.7630 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | .089 | .388 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 1.0630 | .03305 | .01908 | .9809 | 1.1451 | 1.03 | 1.10 | |
| 14 | 3 | 2.8730 | .07405 | .04276 | 2.6890 | 3.0570 | 2.81 | 2.96 | |
| 24 | 3 | 2.6430 | .11790 | .06807 | 2.3501 | 2.9359 | 2.51 | 2.74 | |
| 38 | 3 | 2.9763 | .01528 | .00882 | 2.9384 | 3.0143 | 2.96 | 2.99 | |
| 48 | 3 | 3.0497 | .29023 | .16756 | 2.3287 | 3.7706 | 2.85 | 3.38 | |
| Total | 15 | 2.5210 | .77754 | .20076 | 2.0904 | 2.9516 | 1.03 | 3.38 | |
| Model Fixed Effects | | | .14487 | .03741 | 2.4377 | 2.6043 | | | |
| Random Effects | | | | .37090 | 1.4912 | 3.5508 | | | .68085 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 8.254 | 4 | 2.064 | 98.317 | .000 |
| Within Groups | .210 | 10 | .021 | | |
| Total | 8.464 | 14 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 0 | 3 | 1.0630 | | |
| 14 | 3 | | 2.6430 | |
| 24 | 3 | | 2.8730 | 2.8730 |
| 48 | 3 | | | 2.9763 |
| 38 | 3 | | | 3.0497 |
| Sig. | | 1.000 | .080 | .184 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.4** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเบส แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 2.0730 | .04000 | .02309 | 1.9736 | 2.1724 | 2.03 | 2.11 | |
| 14 | 3 | 7.3830 | .12166 | .07024 | 7.0808 | 7.6852 | 7.30 | 7.52 | |
| 24 | 3 | 9.0697 | .70209 | .40535 | 7.3256 | 10.8138 | 8.26 | 9.54 | |
| 38 | 3 | 8.4563 | .14742 | .08511 | 8.0901 | 8.8226 | 8.34 | 8.62 | |
| 48 | 3 | 10.9430 | .29052 | .16773 | 10.2213 | 11.6647 | 10.66 | 11.24 | |
| Total | 15 | 7.5850 | 3.10781 | .80243 | 5.8640 | 9.3060 | 2.03 | 11.24 | |
| Model Fixed Effects | | | .35085 | .09059 | 7.3832 | 7.7868 | | | |
| Random Effects | | | | 1.49437 | 3.4360 | 11.7340 | | | 11.12461 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 133.988 | 4 | 33.497 | 272.126 | .000 |
| Within Groups | 1.231 | 10 | .123 | | |
| Total | 135.219 | 14 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 0 | 3 | 2.0730 | | | |
| 14 | 3 | | 7.3830 | | |
| 38 | 3 | | | 8.4563 | |
| 24 | 3 | | | 9.0697 | |
| 48 | 3 | | | | 10.9430 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | .184 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์อะไมเลส

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 7.1742 | .38660 | .22320 | 6.2139 | 8.1346 | 6.75 | 7.51 | |
| 2 | 3 | 17.9457 | .52709 | .30432 | 16.6363 | 19.2550 | 17.36 | 18.39 | |
| 6 | 3 | 34.8504 | .74519 | .43023 | 32.9993 | 36.7016 | 34.01 | 35.42 | |
| Total | 9 | 19.9901 | 12.09200 | 4.03067 | 10.6954 | 29.2848 | 6.75 | 35.42 | |
| Model Fixed Effects | | | .57230 | .19077 | 19.5233 | 20.4569 | | | |
| Random Effects | | | | 8.05456 | -14.6659 | 54.6461 | | | 194.51852 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 1167.766 | 2 | 583.883 | 1782.695 | .000 |
| Within Groups | 1.965 | 6 | .328 | | |
| Total | 1169.731 | 8 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 0 | 3 | 7.1742 | | |
| 2 | 3 | | 17.9457 | |
| 6 | 3 | | | 34.8504 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.6** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในส่วนใสที่แยกจากการย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 9.5027 | .09179 | .05300 | 9.2747 | 9.7307 | 9.41 | 9.59 | |
| 2 | 3 | 25.9860 | .67358 | .38889 | 24.3128 | 27.6593 | 25.37 | 26.71 | |
| 12 | 3 | 47.9027 | .39382 | .22737 | 46.9244 | 48.8810 | 47.46 | 48.21 | |
| 24 | 3 | 41.3471 | .48113 | .27778 | 40.1520 | 42.5423 | 40.79 | 41.62 | |
| 38 | 3 | 47.1805 | .72807 | .42035 | 45.3718 | 48.9891 | 46.37 | 47.79 | |
| 48 | 3 | 43.8749 | .66667 | .38490 | 42.2188 | 45.5310 | 43.21 | 44.54 | |
| Total | 18 | 35.9657 | 14.31296 | 3.37360 | 28.8480 | 43.0833 | 9.41 | 48.21 | |
| Model Fixed Effects | | | .55125 | .12993 | 35.6826 | 36.2488 | | | |
| Random Effects | | | | 6.21735 | 19.9835 | 51.9479 | | | 231.83132 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3478.989 | 5 | 695.798 | 2289.762 | .000 |
| Within Groups | 3.646 | 12 | .304 | | |
| Total | 3482.636 | 17 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0 | 3 | 9.5027 | | | | |
| 2 | 3 | | 25.9860 | | | |
| 24 | 3 | | | 41.3471 | | |
| 48 | 3 | | | | 43.8749 | |
| 38 | 3 | | | | | 47.1805 |
| 12 | 3 | | | | | 47.9027 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .135 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.7** การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าพีเอชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 5.6267 | .04509 | .02603 | 5.5147 | 5.7387 | 5.58 | 5.67 | |
| 12 | 3 | 5.2533 | .03055 | .01764 | 5.1774 | 5.3292 | 5.22 | 5.28 | |
| 24 | 3 | 5.4500 | .19468 | .11240 | 4.9664 | 5.9336 | 5.30 | 5.67 | |
| 38 | 3 | 6.2967 | .19858 | .11465 | 5.8034 | 6.7900 | 6.07 | 6.44 | |
| 48 | 3 | 6.4300 | .13454 | .07767 | 6.0958 | 6.7642 | 6.32 | 6.58 | |
| 62 | 3 | 6.5767 | .13577 | .07839 | 6.2394 | 6.9139 | 6.45 | 6.72 | |
| 72 | 3 | 6.0700 | .00000 | .00000 | 6.0700 | 6.0700 | 6.07 | 6.07 | |
| 86 | 3 | 6.1233 | .38031 | .21957 | 5.1786 | 7.0681 | 5.82 | 6.55 | |
| 96 | 3 | 6.2800 | .20518 | .11846 | 5.7703 | 6.7897 | 6.08 | 6.49 | |
| 110 | 3 | 5.9500 | .37242 | .21502 | 5.0248 | 6.8752 | 5.66 | 6.37 | |
| 120 | 3 | 5.8033 | .40377 | .23312 | 4.8003 | 6.8064 | 5.36 | 6.15 | |
| Total | 33 | 5.9873 | .44857 | .07809 | 5.8282 | 6.1463 | 5.22 | 6.72 | |
| Model Fixed Effects | | | .23458 | .04083 | 5.9026 | 6.0720 | | | |
| Random Effects | | | | .12587 | 5.7068 | 6.2677 | | | .15593 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 5.228 | 10 | .523 | 9.501 | .000 |
| Within Groups | 1.211 | 22 | .055 | | |
| Total | 6.439 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 12 | 3 | 5.2533 | | | | | | |
| 24 | 3 | 5.4500 | 5.4500 | | | | | |
| 0 | 3 | 5.6267 | 5.6267 | 5.6267 | | | | |
| 120 | 3 | | 5.8033 | 5.8033 | 5.8033 | | | |
| 110 | 3 | | | 5.9500 | 5.9500 | 5.9500 | | |
| 72 | 3 | | | | 6.0700 | 6.0700 | 6.0700 | |
| 86 | 3 | | | | 6.1233 | 6.1233 | 6.1233 | |
| 96 | 3 | | | | | 6.2800 | 6.2800 | 6.2800 |
| 38 | 3 | | | | | 6.2967 | 6.2967 | 6.2967 |
| 48 | 3 | | | | | | 6.4300 | 6.4300 |
| 62 | 3 | | | | | | | 6.5767 |
| Sig. | | .077 | .094 | .124 | .139 | .117 | .104 | .169 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.8** การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าพีเอชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 5.4433 | .02309 | .01333 | 5.3860 | 5.5007 | 5.43 | 5.47 | |
| 12 | 3 | 5.2033 | .02887 | .01667 | 5.1316 | 5.2750 | 5.17 | 5.22 | |
| 24 | 3 | 5.2133 | .11676 | .06741 | 4.9233 | 5.5034 | 5.11 | 5.34 | |
| 38 | 3 | 5.6233 | .12014 | .06936 | 5.3249 | 5.9218 | 5.50 | 5.74 | |
| 48 | 3 | 5.8000 | .09644 | .05568 | 5.5604 | 6.0396 | 5.73 | 5.91 | |
| 62 | 3 | 5.9033 | .10214 | .05897 | 5.6496 | 6.1571 | 5.83 | 6.02 | |
| 72 | 3 | 6.3200 | .00000 | .00000 | 6.3200 | 6.3200 | 6.32 | 6.32 | |
| 86 | 3 | 5.9067 | .05508 | .03180 | 5.7699 | 6.0435 | 5.85 | 5.96 | |
| 96 | 3 | 5.4733 | .08083 | .04667 | 5.2725 | 5.6741 | 5.38 | 5.52 | |
| 110 | 3 | 5.1833 | .13317 | .07688 | 4.8525 | 5.5141 | 5.03 | 5.27 | |
| 120 | 3 | 5.3500 | .07211 | .04163 | 5.1709 | 5.5291 | 5.27 | 5.41 | |
| Total | 33 | 5.5836 | .35969 | .06261 | 5.4561 | 5.7112 | 5.03 | 6.32 | |
| Model Fixed Effects | | | .08616 | .01500 | 5.5525 | 5.6147 | | | |
| Random Effects | | | | .10978 | 5.3390 | 5.8282 | | | .13009 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3.977 | 10 | .398 | 53.565 | .000 |
| Within Groups | .163 | 22 | .007 | | |
| Total | 4.140 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 110 | 3 | 5.1833 | | | | | |
| 12 | 3 | 5.2033 | 5.2033 | | | | |
| 24 | 3 | 5.2133 | 5.2133 | | | | |
| 120 | 3 | | 5.3500 | 5.3500 | | | |
| 0 | 3 | | | 5.4433 | | | |
| 96 | 3 | | | 5.4733 | | | |
| 38 | 3 | | | | 5.6233 | | |
| 48 | 3 | | | | | 5.8000 | |
| 62 | 3 | | | | | 5.9033 | |
| 86 | 3 | | | | | 5.9067 | |
| 72 | 3 | | | | | | 6.3200 |
| Sig. | | .692 | .060 | .110 | 1.000 | .165 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.9** การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .263333 | .1026320 | .0592546 | .008381 | .518285 | .1500 | .3500 | |
| 12 | 3 | 1.136667 | .1320353 | .0762306 | .808673 | 1.464661 | 1.0200 | 1.2800 | |
| 24 | 3 | 1.103333 | .4888081 | .2822135 | -.110933 | 2.317600 | .5700 | 1.5300 | |
| 38 | 3 | 1.446667 | .4261846 | .2460578 | .387965 | 2.505368 | 1.0400 | 1.8900 | |
| 48 | 3 | 1.253333 | .4600362 | .2656020 | .110540 | 2.396127 | .9300 | 1.7800 | |
| 62 | 3 | 1.013333 | .1446836 | .0835331 | .653919 | 1.372747 | .9200 | 1.1800 | |
| 72 | 3 | 1.220000 | .2211334 | .1276715 | .670674 | 1.769326 | .9700 | 1.3900 | |
| 86 | 3 | 1.343333 | .0723418 | .0417665 | 1.163626 | 1.523040 | 1.2600 | 1.3900 | |
| 96 | 3 | 1.163333 | .2200757 | .1270608 | .616635 | 1.710032 | .9400 | 1.3800 | |
| 110 | 3 | 1.146667 | .1415392 | .0817177 | .795064 | 1.498269 | 1.0600 | 1.3100 | |
| 120 | 3 | 2.563333 | .3955165 | .2283516 | 1.580816 | 3.545851 | 2.1200 | 2.8800 | |
| Total | 33 | 1.241212 | .5723677 | .0996364 | 1.038259 | 1.444165 | .1500 | 2.8800 | |
| Model Fixed Effects | | | .2954401 | .0514295 | 1.134554 | 1.347870 | | | |
| Random Effects | | | | .1610861 | .882290 | 1.600134 | | | .2563412 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 8.563 | 10 | .856 | 9.811 | .000 |
| Within Groups | 1.920 | 22 | .087 | | |
| Total | 10.483 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 0 | 3 | .263333 | | |
| 62 | 3 | | 1.013333 | |
| 24 | 3 | | 1.103333 | |
| 12 | 3 | | 1.136667 | |
| 110 | 3 | | 1.146667 | |
| 96 | 3 | | 1.163333 | |
| 72 | 3 | | 1.220000 | |
| 48 | 3 | | 1.253333 | |
| 86 | 3 | | 1.343333 | |
| 38 | 3 | | 1.446667 | |
| 120 | 3 | | | 2.563333 |
| Sig. | | 1.000 | .134 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.10** การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .380000 | .0916515 | .0529150 | .152325 | .607675 | .3000 | .4800 | |
| 12 | 3 | 1.046667 | .0680686 | .0392994 | .877575 | 1.215758 | .9700 | 1.1000 | |
| 24 | 3 | 1.056667 | .0709460 | .0409607 | .880427 | 1.232906 | .9800 | 1.1200 | |
| 38 | 3 | 1.086667 | .2571640 | .1484737 | .447836 | 1.725498 | .9000 | 1.3800 | |
| 48 | 3 | 1.160000 | .1752142 | .1011599 | .724744 | 1.595256 | .9900 | 1.3400 | |
| 62 | 3 | 1.280000 | .0655744 | .0378594 | 1.117104 | 1.442896 | 1.2100 | 1.3400 | |
| 72 | 3 | 1.226667 | .0850490 | .0491031 | 1.015393 | 1.437940 | 1.1400 | 1.3100 | |
| 86 | 3 | 1.236667 | .1588500 | .0917121 | .842061 | 1.631272 | 1.1400 | 1.4200 | |
| 96 | 3 | 1.196667 | .1205543 | .0696020 | .897193 | 1.496140 | 1.0700 | 1.3100 | |
| 110 | 3 | 1.416667 | .0642910 | .0371184 | 1.256959 | 1.576374 | 1.3700 | 1.4900 | |
| 120 | 3 | 2.380000 | .1562050 | .0901850 | 1.991965 | 2.768035 | 2.2000 | 2.4800 | |
| Total | 33 | 1.224242 | .4645632 | .0808701 | 1.059515 | 1.388969 | .3000 | 2.4800 | |
| Model Fixed Effects | | | .1330527 | .0231615 | 1.176208 | 1.272276 | | | |
| Random Effects | | | | .1405265 | .911130 | 1.537355 | | | .2113236 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 6.517 | 10 | .652 | 36.811 | .000 |
| Within Groups | .389 | 22 | .018 | | |
| Total | 6.906 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 0 | 3 | .380000 | | | |
| 12 | 3 | | 1.046667 | | |
| 24 | 3 | | 1.056667 | | |
| 38 | 3 | | 1.086667 | | |
| 48 | 3 | | 1.160000 | | |
| 96 | 3 | | 1.196667 | 1.196667 | |
| 72 | 3 | | 1.226667 | 1.226667 | |
| 86 | 3 | | 1.236667 | 1.236667 | |
| 62 | 3 | | 1.280000 | 1.280000 | |
| 110 | 3 | | | 1.416667 | |
| 120 | 3 | | | | 2.380000 |
| Sig. | | 1.000 | .074 | .081 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.11** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 47.5971 | 1.07152 | .61864 | 44.9353 | 50.2589 | 46.37 | 48.37 | |
| 12 | 3 | 47.2083 | 1.01379 | .58531 | 44.6898 | 49.7267 | 46.54 | 48.37 | |
| 24 | 3 | 37.7916 | 1.74005 | 1.00462 | 33.4691 | 42.1141 | 35.79 | 38.96 | |
| 38 | 3 | 28.7360 | 1.71661 | .99109 | 24.4717 | 33.0003 | 27.12 | 30.54 | |
| 48 | 3 | 24.7916 | .38188 | .22048 | 23.8429 | 25.7402 | 24.37 | 25.12 | |
| 62 | 3 | 20.9583 | .29167 | .16839 | 20.2337 | 21.6828 | 20.75 | 21.29 | |
| 72 | 3 | 26.4860 | .89106 | .51445 | 24.2725 | 28.6995 | 25.46 | 27.04 | |
| 86 | 3 | 19.1944 | 1.43271 | .82718 | 15.6353 | 22.7534 | 17.54 | 20.08 | |
| 96 | 3 | 25.1805 | .63783 | .36825 | 23.5960 | 26.7649 | 24.79 | 25.92 | |
| 110 | 3 | 23.4027 | 1.14134 | .65895 | 20.5674 | 26.2379 | 22.17 | 24.42 | |
| 120 | 3 | 20.0138 | .25115 | .14500 | 19.3899 | 20.6377 | 19.75 | 20.25 | |
| Total | 33 | 29.2146 | 10.03636 | 1.74711 | 25.6558 | 32.7733 | 17.54 | 48.37 | |
| Model Fixed Effects | | | 1.08714 | .18925 | 28.8221 | 29.6070 | | | |
| Random Effects | | | | 3.11269 | 22.2791 | 36.1501 | | | 106.18310 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3197.312 | 10 | 319.731 | 270.530 | .000 |
| Within Groups | 26.001 | 22 | 1.182 | | |
| Total | 3223.313 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 86 | 3 | 19.1944 | | | | | |
| 120 | 3 | 20.0138 | | | | | |
| 62 | 3 | 20.9583 | | | | | |
| 110 | 3 | | 23.4027 | | | | |
| 48 | 3 | | 24.7916 | 24.7916 | | | |
| 96 | 3 | | 25.1805 | 25.1805 | | | |
| 72 | 3 | | | 26.4860 | | | |
| 38 | 3 | | | | 28.7360 | | |
| 24 | 3 | | | | | 37.7916 | |
| 12 | 3 | | | | | | 47.2083 |
| 0 | 3 | | | | | | 47.5971 |
| Sig. | | .072 | .070 | .083 | 1.000 | 1.000 | .666 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.12** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 50.8194 | 1.41748 | .81838 | 47.2981 | 54.3406 | 49.37 | 52.21 | |
| 12 | 3 | 42.2638 | .34694 | .20031 | 41.4019 | 43.1257 | 41.87 | 42.54 | |
| 24 | 3 | 40.3471 | 3.13397 | 1.80940 | 32.5619 | 48.1323 | 36.79 | 42.71 | |
| 38 | 3 | 34.0416 | .25000 | .14434 | 33.4205 | 34.6626 | 33.79 | 34.29 | |
| 48 | 3 | 35.5416 | .54645 | .31549 | 34.1841 | 36.8990 | 35.04 | 36.12 | |
| 62 | 3 | 36.0694 | 3.90186 | 2.25274 | 26.3766 | 45.7621 | 32.46 | 40.21 | |
| 72 | 3 | 29.7499 | .42287 | .24414 | 28.6994 | 30.8004 | 29.37 | 30.21 | |
| 86 | 3 | 29.1944 | .10486 | .06054 | 28.9339 | 29.4548 | 29.08 | 29.29 | |
| 96 | 3 | 30.1805 | .37807 | .21828 | 29.2413 | 31.1197 | 29.75 | 30.46 | |
| 110 | 3 | 27.0971 | .34694 | .20031 | 26.2353 | 27.9590 | 26.71 | 27.37 | |
| 120 | 3 | 30.4166 | .31458 | .18162 | 29.6351 | 31.1980 | 30.08 | 30.71 | |
| Total | 33 | 35.0656 | 6.98615 | 1.21613 | 32.5884 | 37.5428 | 26.71 | 52.21 | |
| Model Fixed Effects | | | 1.59799 | .27817 | 34.4887 | 35.6425 | | | |
| Random Effects | | | | 2.13600 | 30.3063 | 39.8249 | | | 49.33628 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3478.989 | 5 | 695.798 | 2289.762 | .000 |
| Within Groups | 3.646 | 12 | .304 | | |
| Total | 3482.636 | 17 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 110 | 3 | 27.0971 | | | | |
| 86 | 3 | 29.1944 | 29.1944 | | | |
| 72 | 3 | 29.7499 | 29.7499 | | | |
| 96 | 3 | | 30.1805 | | | |
| 120 | 3 | | 30.4166 | | | |
| 38 | 3 | | | 34.0416 | | |
| 48 | 3 | | | 35.5416 | | |
| 62 | 3 | | | 36.0694 | | |
| 24 | 3 | | | | 40.3471 | |
| 12 | 3 | | | | 42.2638 | |
| 0 | 3 | | | | | 50.8194 |
| Sig. | | .066 | .402 | .155 | .156 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.13** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 12 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 24 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 38 | 3 | .224100 | .0389486 | .0224870 | .127346 | .320853 | .1818 | .2585 | |
| 48 | 3 | 1.161367 | .1879253 | .1084987 | .694534 | 1.628199 | .9812 | 1.3562 | |
| 62 | 3 | 1.178089 | .0468925 | .0270734 | 1.061601 | 1.294576 | 1.1300 | 1.2237 | |
| 72 | 3 | 1.143962 | .0186120 | .0107456 | 1.097728 | 1.190197 | 1.1229 | 1.1583 | |
| 86 | 3 | 1.217269 | .1214606 | .0701253 | .915544 | 1.518994 | 1.0792 | 1.3075 | |
| 96 | 3 | 2.364169 | .0577526 | .0333435 | 2.220704 | 2.507635 | 2.3240 | 2.4303 | |
| 110 | 3 | 2.754583 | .3395754 | .1960539 | 1.911031 | 3.598135 | 2.4292 | 3.1068 | |
| 120 | 3 | 3.164722 | .0860281 | .0496684 | 2.951017 | 3.378428 | 3.0841 | 3.2553 | |
| Total | 33 | 1.200751 | 1.1052457 | .1923986 | .808848 | 1.592654 | .0000 | 3.2553 | |
| Model Fixed Effects | | | .1279839 | .0222791 | 1.154547 | 1.246955 | | | |
| Random Effects | | | | .3425830 | .437429 | 1.964073 | | | 1.2855340 |

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 38.730 | 10 | 3.873 | 236.448 | .000 |
| Within Groups | .360 | 22 | .016 | | |
| Total | 39.090 | 32 | | | |

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0 | 3 | .000000 | | | | |
| 12 | 3 | .000000 | | | | |
| 24 | 3 | .000000 | | | | |
| 38 | 3 | .224100 | | | | |
| 72 | 3 | | 1.143962 | | | |
| 48 | 3 | | 1.161367 | | | |
| 62 | 3 | | 1.178089 | | | |
| 86 | 3 | | 1.217269 | | | |
| 96 | 3 | | | 2.364169 | | |
| 110 | 3 | | | | 2.754583 | |
| 120 | 3 | | | | | 3.164722 |
| Sig. | | .060 | .529 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.14** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นอะซิโตนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 12 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 24 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 38 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 48 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 62 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 72 | 3 | 1.648472 | .0862811 | .0498144 | 1.434138 | 1.862806 | 1.5490 | 1.7023 | |
| 86 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 96 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 110 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 120 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| Total | 33 | .149861 | .4817333 | .0838590 | -.020954 | .320676 | .0000 | 1.7023 | |
| Model Fixed Effects | | | .0260147 | .0045286 | .140469 | .159253 | | | |
| Random Effects | | | | .1498611 | -.184050 | .483772 | | | .2468162 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 7.411 | 10 | .741 | 1095.097 | .000 |
| Within Groups | .015 | 22 | .001 | | |
| Total | 7.426 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| 0 | 3 | .000000 | |
| 12 | 3 | .000000 | |
| 24 | 3 | .000000 | |
| 38 | 3 | .000000 | |
| 48 | 3 | .000000 | |
| 62 | 3 | .000000 | |
| 86 | 3 | .000000 | |
| 96 | 3 | .000000 | |
| 110 | 3 | .000000 | |
| 120 | 3 | .000000 | |
| 72 | 3 | | 1.648472 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.15** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .659135 | .0659771 | .0380919 | .495239 | .823031 | .5868 | .7160 | |
| 12 | 3 | 2.410836 | .2107477 | .1216753 | 1.887309 | 2.934362 | 2.1900 | 2.6098 | |
| 24 | 3 | 5.399432 | .5689640 | .3284915 | 3.986047 | 6.812817 | 4.7767 | 5.8921 | |
| 38 | 3 | 9.401545 | .2767433 | .1597778 | 8.714077 | 10.089014 | 9.1047 | 9.6524 | |
| 48 | 3 | 9.396881 | .1091452 | .0630150 | 9.125749 | 9.668013 | 9.3115 | 9.5199 | |
| 62 | 3 | 10.264862 | .1881336 | .1086190 | 9.797512 | 10.732211 | 10.0670 | 10.4415 | |
| 72 | 3 | 10.707927 | .1341551 | .0774545 | 10.374667 | 11.041187 | 10.5846 | 10.8507 | |
| 86 | 3 | 11.582660 | .3183519 | .1838005 | 10.791830 | 12.373490 | 11.3012 | 11.9282 | |
| 96 | 3 | 11.268797 | 1.1183603 | .6456856 | 8.490636 | 14.046958 | 10.1413 | 12.3778 | |
| 110 | 3 | 11.791974 | 1.3547016 | .7821373 | 8.426709 | 15.157240 | 10.8530 | 13.3450 | |
| 120 | 3 | 12.146417 | .0744199 | .0429663 | 11.961548 | 12.331286 | 12.0726 | 12.2215 | |
| Total | 33 | 8.639133 | 3.8891493 | .6770140 | 7.260101 | 10.018166 | .5868 | 13.3450 | |
| Model Fixed Effects | | | .5805336 | .1010579 | 8.429552 | 8.848715 | | | |
| Random Effects | | | | 1.2017677 | 5.961428 | 11.316838 | | | 15.7743610 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 476.601 | 10 | 47.660 | 141.417 | .000 |
| Within Groups | 7.414 | 22 | .337 | | |
| Total | 484.015 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 0 | 3 | .659135 | | | | | | |
| 12 | 3 | | 2.410836 | | | | | |
| 24 | 3 | | | 5.399432 | | | | |
| 48 | 3 | | | | 9.396881 | | | |
| 38 | 3 | | | | 9.401545 | | | |
| 62 | 3 | | | | 10.264862 | 10.264862 | | |
| 72 | 3 | | | | | 10.707927 | 10.707927 | |
| 96 | 3 | | | | | 11.268797 | 11.268797 | 11.268797 |
| 86 | 3 | | | | | | 11.582660 | 11.582660 |
| 110 | 3 | | | | | | | 11.791974 |
| 120 | 3 | | | | | | | 12.146417 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .096 | .056 | .094 | .103 |

**ตารางที่ ข.16** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นบิวทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .632887 | .0234734 | .0135523 | .574576 | .691198 | .6090 | .6559 | |
| 12 | 3 | 2.310976 | .4294844 | .2479630 | 1.244078 | 3.377875 | 1.9396 | 2.7813 | |
| 24 | 3 | 4.385971 | .7991417 | .4613847 | 2.400793 | 6.371149 | 3.4953 | 5.0403 | |
| 38 | 3 | 8.333483 | .3365336 | .1942978 | 7.497488 | 9.169479 | 7.9555 | 8.6006 | |
| 48 | 3 | 10.511534 | .7172100 | .4140814 | 8.729886 | 12.293183 | 9.8082 | 11.2419 | |
| 62 | 3 | 10.863103 | .5458219 | .3151304 | 9.507207 | 12.219000 | 10.2339 | 11.2094 | |
| 72 | 3 | 11.149962 | .6890462 | .3978210 | 9.438276 | 12.861648 | 10.3561 | 11.5930 | |
| 86 | 3 | 11.279556 | .6494334 | .3749506 | 9.666274 | 12.892838 | 10.7408 | 12.0007 | |
| 96 | 3 | 10.874392 | .0935910 | .0540348 | 10.641899 | 11.106885 | 10.7760 | 10.9623 | |
| 110 | 3 | 11.676539 | .3057494 | .1765245 | 10.917015 | 12.436063 | 11.3423 | 11.9421 | |
| 120 | 3 | 11.496459 | .4336926 | .2503925 | 10.419107 | 12.573811 | 11.1425 | 11.9802 | |
| Total | 33 | 8.501351 | 3.9708880 | .6912429 | 7.093336 | 9.909367 | .6090 | 12.0007 | |
| Model Fixed Effects | | | .5166396 | .0899354 | 8.314837 | 8.687866 | | | |
| Random Effects | | | | 1.2293165 | 5.762263 | 11.240439 | | | 16.5344369 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 498.702 | 10 | 49.870 | 186.838 | .000 |
| Within Groups | 5.872 | 22 | .267 | | |
| Total | 504.574 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 0 | 3 | .632887 | | | | | |
| 12 | 3 | | 2.310976 | | | | |
| 24 | 3 | | | 4.385971 | | | |
| 38 | 3 | | | | 8.333483 | | |
| 48 | 3 | | | | | 10.511534 | |
| 62 | 3 | | | | | 10.863103 | 10.863103 |
| 96 | 3 | | | | | 10.874392 | 10.874392 |
| 72 | 3 | | | | | 11.149962 | 11.149962 |
| 86 | 3 | | | | | 11.279556 | 11.279556 |
| 120 | 3 | | | | | | 11.496459 |
| 110 | 3 | | | | | | 11.676539 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .115 | .101 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.17** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .069201 | .0016361 | .0009446 | .065136 | .073265 | .0673 | .0704 | |
| 12 | 3 | .065726 | .0090270 | .0052117 | .043302 | .088150 | .0590 | .0760 | |
| 24 | 3 | .089887 | .0051882 | .0029954 | .076999 | .102776 | .0840 | .0940 | |
| 38 | 3 | .129567 | .0082993 | .0047916 | .108950 | .150183 | .1202 | .1362 | |
| 48 | 3 | .121397 | .0230768 | .0133234 | .064071 | .178723 | .1060 | .1479 | |
| 62 | 3 | .118107 | .0027694 | .0015989 | .111228 | .124987 | .1150 | .1201 | |
| 72 | 3 | .152284 | .0060116 | .0034708 | .137350 | .167218 | .1467 | .1587 | |
| 86 | 3 | .145976 | .0068839 | .0039744 | .128876 | .163077 | .1407 | .1538 | |
| 96 | 3 | .150699 | .0393795 | .0227358 | .052875 | .248523 | .1175 | .1942 | |
| 110 | 3 | .097822 | .0067984 | .0039251 | .080933 | .114710 | .0920 | .1053 | |
| 120 | 3 | .103597 | .0058599 | .0033832 | .089040 | .118154 | .0995 | .1103 | |
| Total | 33 | .113115 | .0321894 | .0056034 | .101701 | .124529 | .0590 | .1942 | |
| Model Fixed Effects | | | .0148783 | .0025900 | .107743 | .118486 | | | |
| Random Effects | | | | .0092584 | .092486 | .133744 | | | .0008691 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .028 | 10 | .003 | 12.779 | .000 |
| Within Groups | .005 | 22 | .000 | | |
| Total | .033 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 12 | 3 | .065726 | | | | | |
| 0 | 3 | .069201 | | | | | |
| 24 | 3 | .089887 | .089887 | | | | |
| 110 | 3 | | .097822 | .097822 | | | |
| 120 | 3 | | .103597 | .103597 | .103597 | | |
| 62 | 3 | | | .118107 | .118107 | | |
| 48 | 3 | | | .121397 | .121397 | .121397 | |
| 38 | 3 | | | | .129567 | .129567 | .129567 |
| 86 | 3 | | | | | .145976 | .145976 |
| 96 | 3 | | | | | | .150699 |
| 72 | 3 | | | | | | .152284 |
| Sig. | | .072 | .298 | .088 | .061 | .067 | .099 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.18** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 12 | 3 | .266274 | .0133832 | .0077268 | .233028 | .299520 | .2557 | .2813 | |
| 24 | 3 | .214116 | .0269208 | .0155427 | .147241 | .280991 | .1836 | .2347 | |
| 38 | 3 | .299170 | .0273044 | .0157642 | .231342 | .366998 | .2677 | .3169 | |
| 48 | 3 | .339884 | .0238890 | .0137923 | .280541 | .399228 | .3124 | .3553 | |
| 62 | 3 | .134404 | .0068325 | .0039447 | .117432 | .151377 | .1266 | .1394 | |
| 72 | 3 | .139963 | .0086611 | .0050005 | .118448 | .161478 | .1301 | .1462 | |
| 86 | 3 | .314822 | .0779877 | .0450262 | .121090 | .508555 | .2276 | .3779 | |
| 96 | 3 | .123847 | .0009518 | .0005495 | .121482 | .126211 | .1229 | .1248 | |
| 110 | 3 | .093841 | .0049180 | .0028394 | .081624 | .106058 | .0903 | .0995 | |
| 120 | 3 | .084679 | .0036362 | .0020994 | .075647 | .093712 | .0808 | .0880 | |
| Total | 33 | .182818 | .1094791 | .0190579 | .143999 | .221638 | .0000 | .3779 | |
| Model Fixed Effects | | | .0277360 | .0048282 | .172805 | .192831 | | | |
| Random Effects | | | | .0333311 | .108552 | .257085 | | | .0119641 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .367 | 10 | .037 | 47.657 | .000 |
| Within Groups | .017 | 22 | .001 | | |
| Total | .384 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 0 | 3 | .000000 | | | | | |
| 120 | 3 | | .084679 | | | | |
| 110 | 3 | | .093841 | .093841 | | | |
| 96 | 3 | | .123847 | .123847 | | | |
| 62 | 3 | | .134404 | .134404 | | | |
| 72 | 3 | | | .139963 | | | |
| 24 | 3 | | | | .214116 | | |
| 12 | 3 | | | | | .266274 | |
| 38 | 3 | | | | | .299170 | .299170 |
| 86 | 3 | | | | | .314822 | .314822 |
| 48 | 3 | | | | | | .339884 |
| Sig. | | 1.000 | .055 | .074 | 1.000 | .053 | .102 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.19** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 2.751076 | .1495999 | .0863716 | 2.379449 | 3.122703 | 2.5832 | 2.8704 | |
| 12 | 3 | 1.841857 | .0976601 | .0563841 | 1.599256 | 2.084458 | 1.7332 | 1.9224 | |
| 24 | 3 | 1.505645 | .2321439 | .1340283 | .928968 | 2.082323 | 1.2377 | 1.6448 | |
| 38 | 3 | 1.460922 | .1139910 | .0658127 | 1.177753 | 1.744092 | 1.3529 | 1.5801 | |
| 48 | 3 | 1.332119 | .0530715 | .0306409 | 1.200282 | 1.463956 | 1.2937 | 1.3927 | |
| 62 | 3 | 1.395988 | .0442452 | .0255450 | 1.286077 | 1.505900 | 1.3616 | 1.4459 | |
| 72 | 3 | 1.716204 | .0221821 | .0128069 | 1.661100 | 1.771307 | 1.6932 | 1.7374 | |
| 86 | 3 | 1.822406 | .0095517 | .0055147 | 1.798679 | 1.846134 | 1.8114 | 1.8288 | |
| 96 | 3 | 1.825968 | .1818668 | .1050008 | 1.374186 | 2.277750 | 1.6601 | 2.0204 | |
| 110 | 3 | 1.940917 | .1683289 | .0971847 | 1.522765 | 2.359069 | 1.7937 | 2.1244 | |
| 120 | 3 | 2.058424 | .0362917 | .0209530 | 1.968271 | 2.148578 | 2.0367 | 2.1003 | |
| Total | 33 | 1.786503 | .3985301 | .0693752 | 1.645190 | 1.927815 | 1.2377 | 2.8704 | |
| Model Fixed Effects | | | .1231729 | .0214416 | 1.742035 | 1.830970 | | | |
| Random Effects | | | | .1199579 | 1.519220 | 2.053785 | | | .1532317 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 4.749 | 10 | .475 | 31.300 | .000 |
| Within Groups | .334 | 22 | .015 | | |
| Total | 5.082 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 48 | 3 | 1.332119 | | | |
| 62 | 3 | 1.395988 | | | |
| 38 | 3 | 1.460922 | | | |
| 24 | 3 | 1.505645 | | | |
| 72 | 3 | | 1.716204 | | |
| 86 | 3 | | 1.822406 | | |
| 96 | 3 | | 1.825968 | | |
| 12 | 3 | | 1.841857 | 1.841857 | |
| 110 | 3 | | 1.940917 | 1.940917 | |
| 120 | 3 | | | 2.058424 | |
| 0 | 3 | | | | 2.751076 |
| Sig. | | .127 | .056 | .052 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.20** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นกรดอะซิติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | 3.911599 | .1535695 | .0886634 | 3.530112 | 4.293087 | 3.8007 | 4.0869 | |
| 12 | 3 | 3.269179 | .2903623 | .1676407 | 2.547879 | 3.990479 | 3.0935 | 3.6043 | |
| 24 | 3 | 2.647174 | .4405674 | .2543617 | 1.552744 | 3.741604 | 2.1517 | 2.9949 | |
| 38 | 3 | 2.985382 | .4637430 | .2677421 | 1.833381 | 4.137384 | 2.4645 | 3.3535 | |
| 48 | 3 | 3.064593 | .3108831 | .1794884 | 2.292316 | 3.836869 | 2.7307 | 3.3456 | |
| 62 | 3 | 2.765618 | .1029675 | .0594483 | 2.509833 | 3.021404 | 2.6472 | 2.8337 | |
| 72 | 3 | 2.680004 | .1678751 | .0969227 | 2.262980 | 3.097029 | 2.4904 | 2.8099 | |
| 86 | 3 | 4.106588 | .3623818 | .2092212 | 3.206382 | 5.006795 | 3.8185 | 4.5135 | |
| 96 | 3 | 4.234704 | .5184789 | .2993439 | 2.946731 | 5.522677 | 3.8014 | 4.8091 | |
| 110 | 3 | 3.219629 | .1654455 | .0955200 | 2.808640 | 3.630619 | 3.0320 | 3.3444 | |
| 120 | 3 | 3.389582 | .0168399 | .0097225 | 3.347750 | 3.431415 | 3.3720 | 3.4055 | |
| Total | 33 | 3.297641 | .6034596 | .1050488 | 3.083664 | 3.511619 | 2.1517 | 4.8091 | |
| Model Fixed Effects | | | .3133804 | .0545525 | 3.184506 | 3.410776 | | | |
| Random Effects | | | | .1696045 | 2.919739 | 3.675544 | | | .2836867 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 9.493 | 10 | .949 | 9.666 | .000 |
| Within Groups | 2.161 | 22 | .098 | | |
| Total | 11.653 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 24 | 3 | 2.647174 | | | | |
| 72 | 3 | 2.680004 | 2.680004 | | | |
| 62 | 3 | 2.765618 | 2.765618 | | | |
| 38 | 3 | 2.985382 | 2.985382 | 2.985382 | | |
| 48 | 3 | 3.064593 | 3.064593 | 3.064593 | | |
| 110 | 3 | 3.219629 | 3.219629 | 3.219629 | | |
| 12 | 3 | | 3.269179 | 3.269179 | | |
| 120 | 3 | | | 3.389582 | 3.389582 | |
| 0 | 3 | | | | 3.911599 | 3.911599 |
| 86 | 3 | | | | | 4.106588 |
| 96 | 3 | | | | | 4.234704 |
| Sig. | | .059 | .052 | .170 | .054 | .245 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.21** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .517022 | .0250685 | .0144733 | .454749 | .579296 | .4910 | .5410 | |
| 12 | 3 | 2.516692 | .1681608 | .0970877 | 2.098958 | 2.934427 | 2.3226 | 2.6175 | |
| 24 | 3 | 1.556169 | .9206725 | .5315505 | -.730909 | 3.843246 | .5569 | 2.3701 | |
| 38 | 3 | 1.048420 | .1824270 | .1053243 | .595246 | 1.501594 | .9347 | 1.2588 | |
| 48 | 3 | 1.064817 | .1543710 | .0891261 | .681338 | 1.448296 | .9374 | 1.2365 | |
| 62 | 3 | 1.458105 | .0989248 | .0571142 | 1.212362 | 1.703848 | 1.3857 | 1.5708 | |
| 72 | 3 | 1.909257 | .0289556 | .0167175 | 1.837327 | 1.981187 | 1.8809 | 1.9388 | |
| 86 | 3 | 1.470893 | .5465956 | .3155771 | .113075 | 2.828712 | .9242 | 2.0174 | |
| 96 | 3 | .000000 | .0000000 | .0000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 110 | 3 | .000000 | .0000000 | .0000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| 120 | 3 | .000000 | .0000000 | .0000000 | .000000 | .000000 | .0000 | .0000 | |
| Total | 33 | 1.049216 | .8611344 | .1499043 | .743871 | 1.354561 | .0000 | 2.6175 | |
| Model Fixed Effects | | | .3361609 | .0585181 | .927857 | 1.170575 | | | |
| Random Effects | | | | .2537213 | .483890 | 1.614542 | | | .6704516 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 21.244 | 10 | 2.124 | 18.799 | .000 |
| Within Groups | 2.486 | 22 | .113 | | |
| Total | 23.730 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 96 | 3 | .000000 | | | | |
| 110 | 3 | .000000 | | | | |
| 120 | 3 | .000000 | | | | |
| 0 | 3 | .517022 | .517022 | | | |
| 38 | 3 | | 1.048420 | 1.048420 | | |
| 48 | 3 | | 1.064817 | 1.064817 | | |
| 62 | 3 | | | 1.458105 | 1.458105 | |
| 86 | 3 | | | 1.470893 | 1.470893 | |
| 24 | 3 | | | 1.556169 | 1.556169 | |
| 72 | 3 | | | | 1.909257 | |
| 12 | 3 | | | | | 2.516692 |
| Sig. | | .097 | .071 | .110 | .145 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.22** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นกรดบิวทิริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .609337 | .0224703 | .0129732 | .553518 | .665157 | .5956 | .6353 | |
| 12 | 3 | .667618 | .0512885 | .0296114 | .540210 | .795025 | .6146 | .7170 | |
| 24 | 3 | .553777 | .0839728 | .0484817 | .345177 | .762377 | .4597 | .6212 | |
| 38 | 3 | .929885 | .0265827 | .0153475 | .863850 | .995920 | .9101 | .9601 | |
| 48 | 3 | 1.028852 | .0823776 | .0475607 | .824214 | 1.233489 | .9752 | 1.1237 | |
| 62 | 3 | 1.120513 | .0655901 | .0378684 | .957578 | 1.283447 | 1.0471 | 1.1733 | |
| 72 | 3 | 1.844539 | .1081078 | .0624161 | 1.575984 | 2.113094 | 1.7213 | 1.9233 | |
| 86 | 3 | 1.492937 | .6066535 | .3502516 | -.014074 | 2.999947 | 1.0452 | 2.1834 | |
| 96 | 3 | .861229 | .0146224 | .0084423 | .824905 | .897553 | .8451 | .8735 | |
| 110 | 3 | 3.967330 | .3429634 | .1980100 | 3.115362 | 4.819299 | 3.5713 | 4.1685 | |
| 120 | 3 | 4.107120 | .1167516 | .0674065 | 3.817093 | 4.397147 | 3.9744 | 4.1939 | |
| Total | 33 | 1.562103 | 1.2548816 | .2184469 | 1.117142 | 2.007065 | .4597 | 4.1939 | |
| Model Fixed Effects | | | .2201582 | .0383246 | 1.482623 | 1.641584 | | | |
| Random Effects | | | | .3866130 | .700676 | 2.423531 | | | 1.6280089 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 49.325 | 10 | 4.932 | 101.765 | .000 |
| Within Groups | 1.066 | 22 | .048 | | |
| Total | 50.391 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 24 | 3 | .553777 | | | | | |
| 0 | 3 | .609337 | | | | | |
| 12 | 3 | .667618 | .667618 | | | | |
| 96 | 3 | .861229 | .861229 | .861229 | | | |
| 38 | 3 | .929885 | .929885 | .929885 | | | |
| 48 | 3 | | 1.028852 | 1.028852 | | | |
| 62 | 3 | | | 1.120513 | 1.120513 | | |
| 86 | 3 | | | | 1.492937 | 1.492937 | |
| 72 | 3 | | | | | 1.844539 | |
| 110 | 3 | | | | | | 3.967330 |
| 120 | 3 | | | | | | 4.107120 |
| Sig. | | .072 | .077 | .200 | .050 | .063 | .445 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.23** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นกรดแลคติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .128227 | .0145320 | .0083900 | .092127 | .164326 | .1115 | .1372 | |
| 12 | 3 | .162234 | .0035593 | .0020550 | .153392 | .171076 | .1584 | .1654 | |
| 24 | 3 | .100999 | .0014034 | .0008102 | .097513 | .104485 | .0994 | .1019 | |
| 38 | 3 | .132940 | .0265953 | .0153548 | .066874 | .199006 | .1024 | .1506 | |
| 48 | 3 | .061652 | .0046126 | .0026631 | .050193 | .073110 | .0566 | .0657 | |
| 62 | 3 | .079850 | .0072400 | .0041800 | .061865 | .097836 | .0752 | .0882 | |
| 72 | 3 | .227915 | .0310287 | .0179144 | .150836 | .304995 | .2096 | .2637 | |
| 86 | 3 | .136764 | .0105488 | .0060904 | .110559 | .162969 | .1259 | .1470 | |
| 96 | 3 | .308132 | .0294769 | .0170185 | .234908 | .381357 | .2753 | .3324 | |
| 110 | 3 | .211081 | .0221902 | .0128115 | .155958 | .266205 | .1924 | .2356 | |
| 120 | 3 | .257367 | .0316363 | .0182652 | .178778 | .335956 | .2310 | .2924 | |
| Total | 33 | .164287 | .0770162 | .0134068 | .136979 | .191596 | .0566 | .3324 | |
| Model Fixed Effects | | | .0200975 | .0034985 | .157032 | .171543 | | | |
| Random Effects | | | | .0234147 | .112116 | .216459 | | | .0058961 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .181 | 10 | .018 | 44.793 | .000 |
| Within Groups | .009 | 22 | .000 | | |
| Total | .190 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 48 | 3 | .061652 | | | | | | |
| 62 | 3 | .079850 | .079850 | | | | | |
| 24 | 3 | | .100999 | .100999 | | | | |
| 0 | 3 | | | .128227 | .128227 | | | |
| 38 | 3 | | | .132940 | .132940 | | | |
| 86 | 3 | | | .136764 | .136764 | | | |
| 12 | 3 | | | | .162234 | | | |
| 110 | 3 | | | | | .211081 | | |
| 72 | 3 | | | | | .227915 | .227915 | |
| 120 | 3 | | | | | | .257367 | |
| 96 | 3 | | | | | | | .308132 |
| Sig. | | .279 | .211 | .057 | .069 | .316 | .086 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.24** การวิเคราะห์สถิติความเข้มข้นกรดแลคติกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลัง ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชั่วโมงที่ | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด | Between-Component Variance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | | |
| 0 | 3 | .257855 | .0061671 | .0035606 | .242535 | .273175 | .2512 | .2633 | |
| 12 | 3 | 2.028196 | .5398165 | .3116632 | .687218 | 3.369175 | 1.5987 | 2.6342 | |
| 24 | 3 | 1.528643 | .0593986 | .0342938 | 1.381089 | 1.676198 | 1.4633 | 1.5794 | |
| 38 | 3 | 1.630237 | .0265688 | .0153395 | 1.564237 | 1.696238 | 1.6030 | 1.6561 | |
| 48 | 3 | .351786 | .0499595 | .0288442 | .227680 | .475892 | .2991 | .3985 | |
| 62 | 3 | .297804 | .0250574 | .0144669 | .235558 | .360050 | .2715 | .3214 | |
| 72 | 3 | .271264 | .0187783 | .0108417 | .224616 | .317912 | .2506 | .2873 | |
| 86 | 3 | .239389 | .0247686 | .0143001 | .177860 | .300917 | .2229 | .2679 | |
| 96 | 3 | .275770 | .0192011 | .0110857 | .228072 | .323468 | .2583 | .2963 | |
| 110 | 3 | .723152 | .0538216 | .0310739 | .589452 | .856852 | .6863 | .7849 | |
| 120 | 3 | .218298 | .0117552 | .0067869 | .189096 | .247499 | .2071 | .2305 | |
| Total | 33 | .711127 | .6710912 | .1168220 | .473168 | .949085 | .2071 | 2.6342 | |
| Model Fixed Effects | | | .1660141 | .0288993 | .651193 | .771060 | | | |
| Random Effects | | | | .2045341 | .255396 | 1.166857 | | | .4509895 |

ตาราง ANOVA

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 13.805 | 10 | 1.381 | 50.091 | .000 |
| Within Groups | .606 | 22 | .028 | | |
| Total | 14.412 | 32 | | | |

**ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ**

Duncan[a]

| ชั่วโมงที่ | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 120 | 3 | .218298 | | | |
| 86 | 3 | .239389 | | | |
| 0 | 3 | .257855 | | | |
| 72 | 3 | .271264 | | | |
| 96 | 3 | .275770 | | | |
| 62 | 3 | .297804 | | | |
| 48 | 3 | .351786 | | | |
| 110 | 3 | | .723152 | | |
| 24 | 3 | | | 1.528643 | |
| 38 | 3 | | | 1.630237 | |
| 12 | 3 | | | | 2.028196 |
| Sig. | | .397 | 1.000 | .461 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.25** การวิเคราะห์สถิติน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด ปริมาณบิวทานอลที่ผลิตได้สูงสุด ปริมาณตัวทำละลายรวม ผลได้บิวทานอล และอัตราการผลิตบิวทานอล ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร T6 ที่มีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยก้านมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม

**ตารางค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

| ชุดการทดลอง | N | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน | ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | ค่าเฉลี่ยต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยสูงสุด |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ขอบเขตล่าง | ขอบเขตบน | | |
| ควบคุม | 3 | 15.421667 | .0230570 | .0133119 | 15.364390 | 15.478943 | 15.4065 | 15.4482 |
| ทดลอง | 3 | 11.760270 | .3024992 | .1746480 | 11.008820 | 12.511720 | 11.4303 | 12.0245 |
| Total | 6 | 13.590968 | 2.014587 | .8224519 | 11.476788 | 15.705148 | 11.4303 | 15.4482 |

**ตาราง ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 20.109 | 1 | 20.109 | 436.969 | .000 |
| Within Groups | .184 | 4 | .046 | | |
| Total | 20.293 | 5 | | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้