

การผลิตไบโอเอทานอลจากวัสดุทางการเกษตรด้วยเชื้อ

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

BIOETHANOL PRODUCTION FROM AGRICULTURAL RESOURCES

USING *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2567

KMITL-2024-SC-M-020-057

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIOETHANOL PRODUCTION FROM AGRICULTURAL RESOURCES
USING *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LARDKRABANG
2024

KMITL-2024-SC-M-020-057

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2024

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตไบโอเอทานอลจากวัสดุทางการเกษตรด้วยเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088
ชื่อนักศึกษา	นางสาวติมากร พิมพิสัย
รหัสประจำตัว	64605046
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2567
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตน์รุ่งโรจน์

บทคัดย่อ

ชีวมวลจำพวกลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic biomass) จัดเป็นสารตั้งต้นชนิดหนึ่งซึ่งประกอบไปด้วยโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตอย่างเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในปริมาณมาก กากต้นกล้วยเป็นหนึ่งในวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม การศึกษานี้มุ่งเน้นไปที่การใช้ประโยชน์จากกากต้นกล้วยโดยการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นใน กระบวนการหมักไบโอเอทานอล เริ่มจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากต้นกล้วย ด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลีนไมโครเวฟ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ จากการศึกษา พบว่า การใช้สารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลีนไมโครเวฟที่ กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ชื่อทางการค้า Viscosity Reduction Enzyme (VRE) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 40.55 ± 0.56 กรัมต่อลิตร ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส และไซโลส เท่ากับ 17.31 ± 0.62 และ 4.44 ± 0.14 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และการปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยสภาวะข้างต้นไม่ส่งผลให้ เกิดสารประกอบจำพวกฟูแรนซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ในขณะที่ กระบวนการหมักไบโอเอทานอลด้วยด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ใน ไฮโดรไลสเททากากต้นกล้วย เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอล เท่ากับ 9.81 ± 0.41 และ 7.22 ± 0.29 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แม้ว่ากระบวนการหมักในไฮโดรไล สเททากากต้นกล้วยจะส่งผลให้มีปริมาณเอทานอลสูงกว่า แต่เมื่อพิจารณาในแง่ของค่าจลนพลศาสตร์ ของกระบวนการหมัก พบว่า ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น (Y_{ps}) ไม่แตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ร่วมกับเชื้อยีสต์ โดยเริ่มจากการศึกษาเชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 และ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 สำหรับใช้ในการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จากนั้นทำการหมักร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลดังกล่าวเป็นเอทานอล จากการศึกษาพบว่า การหมักร่วมกันระหว่าง *Amy. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีค่าผลได้ของเอทานอลสูงสุด ทั้งในกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF) และกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 2 กระบวนการ การหมักด้วยวิธี SSF มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลที่ดีกว่า ทั้งในแง่ของปริมาณเอทานอล เท่ากับ 25.4 ± 0.3 กรัมต่อลิตร และประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รวมถึงค่าผลได้ผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น เท่ากับ 1.40 กรัมต่อกรัม ซึ่งสูงกว่ากระบวนการ SHF ทั้งนี้ขั้นตอนและระยะเวลาในการหมักด้วยวิธี SSF ไม่ซับซ้อนและใช้เวลาสั้นกว่า จึงถือเป็นการประหยัดทั้งในแง่ของทรัพยากรและเวลา เมื่อทราบถึงชนิดของเชื้อราและวิธีที่ใช้ในการหมักเอทานอลซึ่งส่งผลให้มีประสิทธิภาพที่สูงที่สุดแล้ว ลำดับต่อมาได้มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการหมักเอทานอล โดยใช้การหมักร่วมกันระหว่าง *Amy. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยวิธี SSF พบว่า การใช้แป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร และค่าพีเอชของสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่ 6.0 ให้ปริมาณของเอทานอลสูงสุดที่เวลา 48 ชั่วโมง กระบวนการนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการผลิตเอทานอล โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของเชื้อราที่สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้ร่วมกับเชื้อยีสต์

คำสำคัญ : กากต้นกล้วย การปรับสภาพ กระบวนการผลิตไบโอเอทานอล มันสำปะหลัง *Saccharomyces cerevisiae*

Thesis Title	Bioethanol production from agricultural resources using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088
Student Name	Miss Timakorn Pimpisai
Student ID	64605046
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2024
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Duangjai Ochaikul
Thesis Co-advisor	Assoc.Prof.Dr.Cherdsak Maneeruttanarungroj

Abstract

Lignocellulosic biomass is a type of substrate composed of carbohydrate polymers such as cellulose, hemicellulose, and lignin. Hemp residue is a lignocellulosic substance that is a byproduct of the industry. The primary aim of this research is to utilize hemp residue as a fermentation substrate for bioethanol. First, the optimum conditions for pretreating hemp residue using diluted acid and alkali solutions combined with microwave irradiation, followed by enzymatic hydrolysis are determined. The highest reducing sugar concentration of 40.55 ± 0.56 g/l was achieved by using 0.2 M sodium hydroxide solution along with 450-watt microwave irradiation for 6 minutes, followed by enzymatic hydrolysis with Viscosity Reduction Enzyme (VRE) for 48 hours. The reducing sugar consisting of glucose and xylose at 17.31 ± 0.62 and 4.44 ± 0.14 g/l, respectively. Furthermore, the furan compounds that inhibit microbial growth were not produced by this pretreatment parameter. In parallel, bioethanol fermentation using *S. cerevisiae* TISTR 5088 in hydrolysate derived from hemp residue, compared to control medium YPD, resulted in ethanol concentrations of 9.81 ± 0.41 and 7.22 ± 0.29 g/l, respectively. Even though the higher ethanol concentration in the hemp residue hydrolysate fermentation, there had been no significant difference in the ethanol yield ($Y_{p/s}$). Additionally, another study examined bioethanol fermentation

from cassava starch using co-culture of saccharolytic molds with yeast. This study เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

focused on harnessing the enzymatic potential of saccharolytic molds, specifically *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 or *Aspergillus oryzae* TISTR 3086, to facilitate saccharification of cassava starch, followed by fermentation using *S. cerevisiae* TISTR 5088 for bioethanol production. Among the various configurations, co-culture of *Amy. rouxii* TISTR 3182 with *S. cerevisiae* TISTR 5088 was the most effective, resulting in the highest ethanol yield. This finding was observed for both the separate hydrolysis and fermentation (SHF) and simultaneous saccharification and fermentation (SSF) processes. Impressively, the SSF approach to ethanol productivity demonstrated superior results, with an ethanol concentration of 25.4 ± 0.3 g/l and an ethanol productivity of 0.53 g/l/h (yield of 1.40 g/g reducing sugars), surpassing the SHF approach (25.4 ± 0.7 g/l, Qp of 0.26 g/l/h, yield of 0.57 g/g reducing sugars) while also reducing the fermentation period. Further investigations into optimizing the conditions for ethanol production were carried out using a co-culture of *Amy. rouxii* TISTR 3182 with *S. cerevisiae* TISTR 5088 during SSF. This exploration revealed that employing 100 g/l cassava starch and initiating fermentation with a medium pH of 6.0 led to the highest ethanol concentration at 48 h. This process showed potential for ethanol production, harnessing the synergistic action of saccharolytic molds alongside yeast.

Keywords : Bioethanol production, Cassava starch, Hemp residue, Pretreatment, *Saccharomyces cerevisiae*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความสำเร็จจากความอนุเคราะห์จาก รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษา และ รศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาในด้านวิชาการ ข้อเสนอแนะ แนวคิด การเขียนเอกสารทางวิชาการ ตลอดจนการแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ตลอดจนมาจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ของผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อรไท สุขเจริญ ที่กรุณาให้เกียรติเป็นประธาน และ ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่กรุณาให้เกียรติเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ทั้งยังให้คำปรึกษา ถ่ายทอดเทคนิค ในการทำการทดลองในด้านต่าง ๆ ตลอดจนข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการจัดทำวิทยานิพนธ์ ฉบับนี้ให้มีความครบถ้วนในด้านเนื้อหา

ขอขอบพระคุณ ดร.อิงครัต กิ่งแก้ว ที่กรุณาให้คำปรึกษาในด้านของการเขียนบทความทาง วิชาการ ทั้งยังให้ความช่วยเหลือตลอดจนบทความดังกล่าวสำเร็จลุล่วง และให้การสนับสนุนในด้าน ต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นทางด้านวิชาการ การนำองค์ความรู้ใหม่ ๆ มาให้เรียนรู้ รวมถึงคำแนะนำที่เป็น ประโยชน์ตลอดจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวก ในด้านสถานที่และอุปกรณ์ในการดำเนินงาน

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนในเรื่องต่าง ๆ เสมอมา รวมทั้งเพื่อน พี่ และน้อง ๆ ร่วมห้องปฏิบัติการที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือ ทางผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะ เป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจในอนาคตต่อไป

ติมากร พิมพิสัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	ก
Abstract.....	ค
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ไบโอดีเอทานอล (Bioethanol).....	5
2.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักไบโอดีเอทานอล.....	7
2.1.2 วิธีในการเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นเอทานอลโดย <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8
2.1.3 กระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)	9
2.1.4 กระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF).....	10
2.2 ซีวามวลประเภทลิกโนเซลลูโลส.....	10
2.2.1 เซลลูโลส	11
2.2.2 เฮมิเซลลูโลส	12
2.2.3 ลิกนิน.....	13
2.3 ซีวามวล.....	14
2.3.1 กัญชง.....	14
2.3.2 องค์ประกอบของกัญชง	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 กระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment) วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส.....	15
2.4.1 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment).....	16
2.4.2 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับเคมี (Physicochemical pretreatment)...	16
2.4.3 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (Chemical pretreatment)	17
2.4.4 การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological pretreatment).....	18
2.5 คลื่นไมโครเวฟ (Microwave).....	19
2.6 สารยับยั้งที่เกิดจากการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับความร้อน.....	20
2.6.1 เฟอร์ฟูรัล (Furfural).....	21
2.6.2 ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (Hydroxymethylfurfural ; HMF)	22
2.6.3 กรดฟอร์มิก (Formic acid)	26
2.6.4 กรดเลวูลินิก (Levulinic acid).....	28
2.6.5 กรดอะซิติก (acetic acid)	30
2.7 ตัวดูดซับ.....	32
2.7.1 ถ่านกัมมันต์.....	32
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	35
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	38
3.1 เชื้อจุลินทรีย์.....	38
3.2 สารเคมี.....	38
3.3 อุปกรณ์.....	38
3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	39
3.4.1 การเตรียมกากกัญชง.....	39
3.4.2 การศึกษาชนิดเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยวัตถุดิบกากต้นกัญชง	39
3.4.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพกากต้นกัญชงด้วยกรดและต่างเจือจาง ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณลิแกนด์เซลลูโลส (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ของกากต้นกล้วย ชงภายหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม.....	41
3.4.5 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของกากต้นกล้วยชงภายหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่ เหมาะสม ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM).....	42
3.4.6 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแมนโนส ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพกาก ต้นกล้วยและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์	42
3.4.7 การวิเคราะห์ปริมาณสารยับยั้งที่เกิดขึ้นภายหลังจากการปรับสภาพกากต้นกล้วยชงและผ่านการ ย่อยด้วยเอนไซม์	42
3.4.8 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยไฮโดรไลสเททากากต้นกล้วยชง	43
3.4.9 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยมันสำปะหลัง	43
3.4.10 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	47
3.4.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	47
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	48
4.1 ผลการศึกษาชนิดเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยวัตถุดิบกากต้นกล้วยชง.....	48
4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพกากต้นกล้วยชงด้วยกรดและด่างเจือจาง ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส.....	50
4.2.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดและด่างเจือจางที่เหมาะสมต่อการปรับ สภาพ	50
4.2.2 ผลการศึกษากำลังวัตต์ของไมโครเวฟที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ	51
4.2.3 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ	53
4.2.4 ผลการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในย่อยไฮโดรไลสเททส่วนกากด้วยเอนไซม์เซลลูเลส	55
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณลิแกนด์เซลลูโลส (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ของกากต้นกล้วยชง ภายหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม	56
4.4 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของกากต้นกล้วยชงภายหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่ เหมาะสม ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM).....	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแมนโนส ที่ได้ภายหลังการปรับสภาพภาคต้นกัญชงและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์	58
4.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารยับยั้งที่เกิดขึ้นภายหลังการปรับสภาพภาคต้นกัญชงและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์.....	59
4.7 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยไฮโดรไลสเททภาคต้นกัญชง	60
4.7.1 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในไฮโดรไลสเททภาคต้นกัญชง เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD.....	60
4.7.2 ผลการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในไฮโดรไลสเททภาคต้นกัญชง เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD	65
4.8 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยมันสำปะหลัง.....	66
4.8.1 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคสไมเลส.....	66
4.8.2 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i>	68
4.8.3 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมัก	74
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	80
เอกสารอ้างอิง	82
ภาคผนวก.....	84
ภาคผนวก ก.....	85
ภาคผนวก ข.....	91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยไฮโดรไลสeshส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและต่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ ด้วยชนิดเอนไซม์ที่แตกต่างกัน	49
ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและต่างเจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	51
ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและต่างเจือจางที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่าง ๆ เป็นเวลา 4 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	53
ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและต่างเจือจางที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ ในระยะเวลาต่าง ๆ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	54
ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและต่างเจือจางในสภาวะที่เหมาะสม และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	55
ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE ในระยะเวลาต่าง ๆ.....	56
ตารางที่ 4.7 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากต้นกัญชงก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที.....	57
ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	59
ตารางที่ 4.9 ปริมาณสารยับยั้งที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	59
ตารางที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD.....	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในไฮโดรไลสเสทจากต้นกล้วยที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	62
ตารางที่ 4.12 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในไฮโดรไลสเสทจากต้นกล้วย เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม (YPD).....	66
ตารางที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วย เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	69
ตารางที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วย เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	70
ตารางที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วย เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	72
ตารางที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วย เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	72
ตารางที่ 4.17 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการ ย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF และ SSF.....	74
ตารางที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วย เชื้อรา <i>Amy. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมัน สำปะหลังที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา <i>Amy. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายไขมัน สำหรับหลังที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	76
ตารางที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา <i>Amy. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายไขมัน สำหรับหลังที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	78
ตารางที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา <i>Amy. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายไขมัน สำหรับหลังที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	78



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเอทานอล.....	5
รูปที่ 2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7
รูปที่ 2.3 แผนภาพแสดงวิถีเมแทบอลิซึมของยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก	9
รูปที่ 2.4 องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส	11
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเซลลูโลส.....	12
รูปที่ 2.6 พันธะต่าง ๆ ที่เชื่อมหน่วยย่อยในโครงสร้างลิกนินของไม้เนื้ออ่อน	12
รูปที่ 2.7 หน่วยย่อยของลิกนิน และโครงสร้างของหน่วยย่อยเมื่อปรากฏในโครงสร้างของลิกนิน	13
รูปที่ 2.8 องค์ประกอบสำคัญของเตาอบไมโครเวฟ	19
รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการไฮโดรไลซิสของลิกโนเซลลูโลส	20
รูปที่ 2.10 โครงสร้างของเพอร์ฟูรัลและอนุพันธ์ของเพอร์ฟูรัล	21
รูปที่ 2.11 ปฏิกิริยาการเกิดเพอร์ฟูรัล.....	22
รูปที่ 2.12 โครงสร้างของไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล	23
รูปที่ 2.13 แผนภาพการเกิดสารประกอบอะมาโดรี	24
รูปที่ 2.14 แผนภาพการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวราลดีไฮด์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด	25
รูปที่ 2.15 การเกิดสารสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน.....	25
รูปที่ 2.16 โครงสร้างของกรดฟอร์มิก	26
รูปที่ 2.17 แผนภาพการเกิดกรดฟอร์มิก.....	27
รูปที่ 2.18 โครงสร้างของกรดเลวูลินิก	28
รูปที่ 2.19 ผลิตภัณฑ์ทางเคมีที่ได้มาจากกรดเลวูลินิก	28
รูปที่ 2.20 ปฏิกิริยาการเกิดกรดเลวูลินิกจากน้ำตาลเฮกโซส	29
รูปที่ 2.21 ปฏิกิริยาการเกิดกรดเลวูลินิกจากน้ำตาลเพนโตส	30
รูปที่ 2.22 โครงสร้างของกรดอะซีติก.....	31
รูปที่ 2.23 วิธีในการเกิดกรดอะซีติก	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของกากต้นกล้วยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM); (ก) ก่อนการปรับสภาพ กำลังขยาย 1000 เท่า (ข) ก่อนการปรับสภาพ กำลังขยาย 5000 เท่า (ค) หลังการปรับสภาพ กำลังขยาย 1000 เท่า (ง) หลังการปรับสภาพ กำลังขยาย 5000 เท่า.....	58
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณเอทานอล และค่าพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD เป็นเวลา 60 ชั่วโมง.....	61
รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณเอทานอล และค่าพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย ซึ่งได้ภายหลังจากการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	63
รูปที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในชุดควบคุม (อาหาร YPD) และในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย เป็นเวลา 60 ชั่วโมง.....	64
รูปที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในชุดควบคุม (อาหาร YPD) และในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย เป็นเวลา 60 ชั่วโมง.....	65
รูปที่ 4.6 กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ได้ภายหลังจากการหมักสารละลายมันสำปะหลัง ร่วมกับเชื้อ <i>Amy. rouxii</i> TISTR 3182 และ <i>A. oryzae</i> TISTR 3086 ในระยะเวลาต่าง ๆ.....	67
รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	71
รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	73
รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา <i>Amy. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา <i>Amy. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลังที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	79
--	----



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันแหล่งเชื้อเพลิงฟอสซิลมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสวนทางกับความต้องการด้านพลังงานที่นับวันยิ่งสูงขึ้น ไบโอดีเซล คือเชื้อเพลิงเหลวที่ได้รับความนิยมทั่วโลก เนื่องจากมีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงใกล้เคียงกับน้ำมันเบนซิน หรือแก๊สโซลีน ซึ่งสามารถนำเอทานอลมาผสมหรือใช้ทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมเบนซินได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งยังเป็นพลังงานสะอาดสามารถช่วยลดปัญหามลภาวะทางอากาศ และช่วยสร้างความยั่งยืนทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะในด้านภาคการเกษตร และการขนส่ง ปัจจุบันสหรัฐอเมริกาและบราซิลเป็นทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคเอทานอลรายใหญ่ที่สุดของโลก ขณะที่ประเทศไทยจัดเป็นผู้ผลิตอันดับที่ 9 และเป็นผู้บริโภคอันดับที่ 11 ของโลก (คมสันต์, 2555)

ลิกโนเซลลูโลสสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ เนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ด้วยกรดหรือเอนไซม์ให้กลายเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้สำหรับกระบวนการหมัก แต่เนื่องจากวัตถุดิบดังกล่าวมีโครงสร้างที่แข็งแรง ประกอบไปด้วย ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส องค์ประกอบทั้ง 3 ส่วนรวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อนและไม่ละลายน้ำ การผลิตไบโอดีเซลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสสามารถแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้ 1) การปรับสภาพวัตถุดิบ 2) กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ 3) กระบวนการหมักให้ได้ไบโอดีเซล ซึ่งวิธีการในการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสมีหลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ (physical) วิธีทางเคมี (chemical) และวิธีทางชีวภาพ (biological) การปรับสภาพที่แตกต่างกันมีผลต่อโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสที่ต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการปรับสภาพชีวมวลที่เหมาะสม ซึ่งถือเป็นตัวแปรสำคัญต่อกระบวนการหมักไบโอดีเซล

Mikulski และ Kłosowski (2020) รายงานว่าการปรับสภาพโดยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟเป็นวิธีที่ประหยัดพลังงานมากกว่าการให้ความร้อนแบบทั่วไป เนื่องจากการให้ความร้อนผ่านคลื่นไมโครเวฟจะไม่เกิดการแลกเปลี่ยนความร้อนผ่านพื้นผิว แต่เป็นการทำให้โมเลกุลของน้ำภายในองค์ประกอบนั้น ๆ เกิดการสั่น และการเสียดสีกันของโมเลกุลเกิดเป็นความร้อน นอกจากนี้การให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟยังเป็นวิธีที่ประหยัดเวลามากกว่า มีประสิทธิภาพสูงกว่า และในแง่ของการเริ่มหรือหยุดกระบวนการให้ความร้อนยังสามารถทำได้เกือบจะทันที

ในปัจจุบันนี้กฎของเป็นพืชได้รับความนิยมเป็นอย่างมากหลังจากได้รับการอนุญาตอย่างเป็นทางการสำหรับการปลูก ผลิต นำเข้าเมล็ดพันธุ์ ครอบครอง และจำหน่ายได้ ด้วยคุณประโยชน์ที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลากหลายประกอบกับความต้องการในตลาดโลกที่มีแนวโน้มเปิดกว้างมากยิ่งขึ้นทำให้กัญชงมีศักยภาพที่จะกลายเป็นพืชเศรษฐกิจใหม่ของไทยในอนาคต สามารถต่อยอดเป็นสินค้าอุตสาหกรรมที่มีมูลค่าสูงและสร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจได้มหาศาล ทั้งนี้การที่ประเทศไทยมีความสามารถด้านการเพาะปลูกและการผลิตสูง จึงมีโอกาที่จะเติบโตในตลาดกัญชงโลก การประกอบธุรกิจกัญชงได้เชื่อมโยงไปสู่ห่วงโซ่อุตสาหกรรมอย่างน้อย 5 กลุ่ม ได้แก่ เครื่องดื่ม อาหาร ยาและอาหารเสริม เครื่องแต่งกาย และผลิตภัณฑ์ดูแลส่วนบุคคล ด้วยมูลค่าตลาดกัญชงรวมประมาณ 15.8 พันล้านบาท ใน 5 ปีข้างหน้า (ชัยวัฒน์, 2564)

ในงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ได้ร่วมมือกับภาคอุตสาหกรรม โดยภาคอุตสาหกรรมได้จัดหาภาคกัญชง (*Cannabis sativa* L.) ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการสกัดสารสำคัญออกไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ มาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอล โดยนำภาคกัญชงมาศึกษาการปรับสภาพด้วยกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และย่อยต่อยอดด้วยเอนไซม์ เพื่อย่อยสลายโมเลกุลของลิกโนเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาล สำหรับนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 รวมทั้งศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักไบโอเอทานอล ขณะเดียวกันในงานวิจัยนี้ได้มีการศึกษากระบวนการผลิตไบโอเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยทำการศึกษานิตของเชื้อราและวิธีการที่ใช้ในกระบวนการหมักที่ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงที่สุด รวมถึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักไบโอเอทานอล

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) ศึกษาการปรับสภาพภาคต้นกัญชงด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ โดยแปรผันตัวแปรดังนี้ ความเข้มข้นของสารละลาย กำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟ และระยะเวลาในการปรับสภาพที่แตกต่างกัน เพื่อให้ได้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมซึ่งส่งผลให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด
- 2) ศึกษาการย่อยไฮโดรไลสเสทส่วนภาคด้วยเอนไซม์ เพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพในการย่อยและปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น
- 3) ศึกษาความสามารถในการผลิตการไบโอเอทานอลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 จากการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไฮโดรไลสเสทภาคต้นกัญชงเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4) ศึกษาความสามารถในการผลิตไบโอเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 จากการหมักในสารละลายมันสำปะหลัง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) นำกากต้นกล้วยซึ่งผ่านการบดละเอียด และร้อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 500 ไมโครเมตร มาทำการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ โดยแปรผันตัวแปรดังนี้ ความเข้มข้นของสารละลาย กำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟ และระยะเวลาในการปรับสภาพที่แตกต่างกัน เพื่อให้ได้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมซึ่งส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด
- 2) นำไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพในแต่ละสภาวะมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น
- 3) นำส่วนใสของไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ มาทำการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของสารยับยั้งที่เกิดขึ้น ได้แก่ เพอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล (HMF) รวมถึงปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ทั้งก่อนและหลังการกำจัดสารยับยั้ง ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)
- 4) นำส่วนใสของไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดสารยับยั้งมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักไบโอเอทานอลด้วย *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) รวมถึงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าพีเอชของอาหารหมัก และน้ำหนักเซลล์แห้ง
- 5) นำสารละลายมันสำปะหลังมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักไบโอเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) รวมถึงหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งส่งผลให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด
- 2) ทราบถึงประสิทธิภาพในการย่อยไฮโดรไลเสทส่วนกากด้วยเอนไซม์ และปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3) ทราบถึงความสามารถในการผลิตไบโอเอทานอลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 จากการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไฮโดรไลเสทจากต้นกล้วยเป็นแหล่งคาร์บอน
- 4) ทราบถึงความสามารถในการผลิตไบโอเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 จากการหมักในสารละลายมันสำปะหลัง



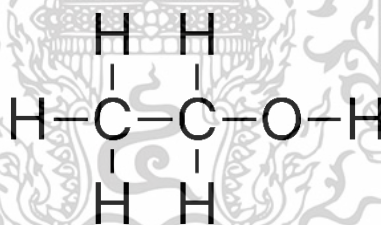
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไบโเอทานอล (Bioethanol)

ไบโเอทานอล หรืออีกชื่อทางเคมีคือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) ถือเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพที่นิยมใช้สำหรับยานพาหนะ โดยสูตรเคมีของไบโเอทานอลคือ C_2H_5OH และมีโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.1 คุณสมบัติของไบโเอทานอลคือ เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีขี้ ความหนาแน่น 0.789 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (g/cm^3) จุดเดือด 78.5 องศาเซลเซียส ($^{\circ}C$) จุดหลอมเหลว -114.1 องศาเซลเซียส ($^{\circ}C$) สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ความเป็นพิษต่ำ และเมื่อเกิดการรั่วไหลจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อย อีกทั้งเมื่อนำไบโเอทานอลมาเผาจะสามารถผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และน้ำได้ ซึ่งไบโเอทานอลจัดเป็นเชื้อเพลิงที่มีเลขออกเทนสูง เมื่อผสมไบโเอทานอลกับน้ำมันเบนซินจะทำให้ปริมาณของออกซิเจนในเชื้อเพลิงเพิ่มขึ้นจึงทำให้เกิดการเผาไหม้ที่สมบูรณ์ ลดปริมาณก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) ที่เกิดจากการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ได้ และจากการนำไบโเอทานอลมาผสมกับเบนซินเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจะสามารถลดปริมาณการใช้น้ำมันลงได้ ทำให้มีความมั่นคงทางด้านเชื้อเพลิงสูงขึ้น



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเอทานอล

ที่มา : <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ethanol-structure.svg>

(วันที่สืบค้น 20 มีนาคม 2565)

เอทานอลสามารถผลิตได้ทั้งจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยมีเอทิลีนเป็นวัตถุดิบ และกระบวนการทางชีวเคมี โดยใช้พืชผลหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีแป้งและน้ำตาลสูงเป็นวัตถุดิบ (รัชพล และคณะ, 2556) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ได้รับความนิยมและมีวัตถุดิบที่สามารถเลือกใช้ได้หลากหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง อ้อย กากน้ำตาล เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนั้นยังมีความพยายามพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่มีเซลลูโลสสูง เช่น ฟางข้าว ชี้อ้อย หญ้า เป็นต้น (เบญจมาภรณ์, 2553)

การผลิตไบโอเอทานอลจากพืชผลทางการเกษตรมี 2 กระบวนการหลัก คือ กระบวนการหมัก (Fermentation) และกระบวนการกลั่น (Distillation) โดยกระบวนการหมัก หมายถึง ขั้นตอนการใช้ยีสต์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ หรือ เอทานอล ส่วนกระบวนการกลั่นคือ การนำเอทานอลที่ได้จากการหมักไปกลั่นที่ความดันบรรยากาศ จะทำให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ถึงร้อยละ 95.6 โดยปริมาตร แต่ถ้านำไปใช้เป็นเชื้อเพลิง ต้องใช้เทคนิคอื่น ๆ ช่วยแยกน้ำออกอีกครั้ง เพื่อให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร ซึ่งเรียกว่าเอทานอลบริสุทธิ์ (Absolute Alcohol) หรือ เอทานอลปราศจากน้ำ (Anhydrous Alcohol) (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2557) สำหรับเอทานอลเป็นแอลกอฮอล์ที่นำไปใช้ผสมน้ำมัน (Fuel Alcohol) ซึ่งสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ 3 รูปแบบ คือ

1) เอทานอลร้อยละ 95 ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรง เพื่อทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล ใช้ได้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง บราซิลเป็นประเทศแรกที่มีการศึกษาวิจัยและเริ่มใช้เอทานอลเป็นน้ำมันเชื้อเพลิงตั้งแต่ปี 2516 สำหรับในเครื่องยนต์ดีเซลสามารถใช้เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 95 ผสมในน้ำมันดีเซลเรียกว่า ดีโซฮอล (Diesohol) ในอัตราส่วนร้อยละ 15 และเพิ่มสารปรับปรุงคุณสมบัติบางตัวในปริมาณร้อยละ 1 ถึง 2

2) เอทานอลร้อยละ 99.5 ผสมในน้ำมันเบนซินซึ่งจะเรียกว่า แก๊สโซฮอล (Gasohol) โดยทั่วไปใช้ผสมกับน้ำมันเบนซินอัตราส่วนร้อยละ 10 ในลักษณะของสารเติมแต่งเพื่อปรับปรุงค่าออกเทนของน้ำมันเบนซิน ซึ่งสามารถนำมาใช้งานกับเครื่องยนต์โดยทั่วไป ไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์ ซึ่งบราซิลก็ใช้เอทานอลผสมในน้ำมันเบนซินที่อัตราส่วนร้อยละ 22

3) สารเคมีเพิ่มออกเทนแก่เครื่องยนต์ โดยการเปลี่ยนรูปเอทานอลมาเป็นสาร ETBE (Ethyl Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่ง MTBE เป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้เนื่องจากก่อให้เกิดมลภาวะในอากาศที่สูงกว่าสารเติมแต่งอื่น ๆ (สำนักวิจัยเศรษฐกิจอุตสาหกรรม, 2551) โดยค่าออกเทนจะเพิ่มขึ้นตามค่าสัดส่วนของเอทานอลที่ผสมในน้ำมันเบนซิน และเอทานอลนั้นยังช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นเชื้อเพลิงที่ไร้สารมลพิษ เช่น ซัลเฟอร์ และมีโมเลกุลของออกซิเจนเป็นส่วนประกอบถึงร้อยละ 35 โดยน้ำหนัก ดังนั้นเมื่อนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์จึงเกิดการเผาไหม้ที่สมบูรณ์กว่าเชื้อเพลิงทั่วไป ระบบเครื่องยนต์ที่ใช้เอทานอลจึงสะอาดกว่าเครื่องยนต์ที่ใช้น้ำมันเบนซินหรือดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักไบโอเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลด้วยยีสต์นั้นในระดับอุตสาหกรรมมีกระบวนการผลิตแตกต่างกันไปรวมถึงยีสต์ที่ได้รับความสนใจและถูกเลือกใช้ในการหมัก ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvavum* (*carlsbergensis*), *Shizosaccharomyces pombe* และ *Kluyveromyces* sp. สำหรับแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจและมีการนำมาใช้ในกระบวนการหมัก ได้แก่ *Zymomonas mobilis* ซึ่งการเลือกใช้จุลินทรีย์ชนิดใดขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้ สำหรับ *Zymomonas mobilis* และ *Saccharomyces cerevisiae* ต่างมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในกระบวนการหมักในระดับอุตสาหกรรม หากในกรณีที่เลือกใช้ *Zymomonas mobilis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงแต่มีชีวมวลต่ำ และมีความทนต่อเอทานอลต่ำกว่ายีสต์ ดังนั้นเมื่อคำนึงถึงแง่เศรษฐศาสตร์ โรงงานอุตสาหกรรมทั่วไปจึงให้ความสนใจ *Saccharomyces cerevisiae* มากกว่า (ชุติมา, 2548)

Saccharomyces cerevisiae เป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในจำพวกยีสต์ อยู่ในอาณาจักรฟังไจ (Fungi) มีเซลล์ชนิดยูคาริโอต (Eukaryote) เป็นเซลล์เดี่ยวรูปร่างกลม รูปไข่ หรือเหมือนผลเลมอน มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 5 ไมโครเมตร มีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์เดี่ยว ส่วนใหญ่เพิ่มจำนวนโดยไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (Budding) บางชนิดมีการเพิ่มจำนวนแบบแบ่งตัว (Fission) หรือการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ (Ascospore) (สาวิตรี, 2549) ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : <https://www.micropia.nl/en/discover/microbiology/saccharomyces-cerevisiae/>

(วันที่สืบค้น 20 มีนาคม 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์มีความสำคัญทางด้านอาหารทั้งในแง่ประโยชน์ และทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่รู้จักมาเป็นเวลานานตั้งแต่สมัยโบราณ ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มีมนุษย์นำมาใช้ เช่น การทำอาหารหมักบางชนิด ได้แก่ ข้าวหมาก ปลาแจ่ว เครื่องดองของเมาหลายชนิด เช่น อุ สาโท และกระแช่ เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ เช่น เบียร์ ไวน์ และวิสกี การผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นสารเคมี และเชื้อเพลิง เป็นต้น (เดือนรุ่ง และคณะ, 2549)

ผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมที่ใช้ยีสต์ในการผลิต สามารถแบ่งได้ดังนี้

- 1) เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ และวิสกี
- 2) ผลิตภัณฑ์จากการหมัก เช่น เอทานอล และ กลีเซอรอล
- 3) ผลิตภัณฑ์ในรูปของเซลล์ยีสต์ เช่น ยีสต์ขนมปัง ยีสต์อาหารคน และยีสต์อาหารสัตว์
- 4) ผลิตภัณฑ์ที่สกัดจากเซลล์ยีสต์ เช่น วิตามินบี วิตามินดี และเอนไซม์

2.1.2 วิธีในการเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae*

กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ เกิดจากการสลายกลูโคสโดยไม่ใช้ออกซิเจน เริ่มต้นด้วยวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pathway) เช่นเดียวกับการสลายอาหารแบบใช้ออกซิเจน กล่าวคือ กลูโคส 1 โมเลกุลสลายได้กรดไพรูวิก 2 โมเลกุล และได้รับพลังงานในรูปแบบ ATP 2 โมเลกุล รวมถึงไฮโดรเจน 4 อะตอม จากนั้น NAD จะมารับไฮโดรเจนและเปลี่ยนเป็นพลังงานในรูปแบบ NADH + H⁺ และเกิดการถ่ายทออะตอมของไฮโดรเจนให้กับแอซีตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) ซึ่งมีคาร์บอน 2 อะตอม จึงไม่สามารถนำเอาพลังงานอิเล็กตรอนที่มีอยู่ในอะตอมของไฮโดรเจนมาสร้าง ATP ได้อีก ดังนั้นการสลายกลูโคส 1 โมเลกุลจึงได้ ATP เพียง 2 โมเลกุลเท่านั้น ซึ่งเอทานอลที่ได้จากการสลายกลูโคสหากมีปริมาณมากจะเป็นอันตรายต่อเซลล์ร่างกายจะมีกระบวนการเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นสารอื่นที่ไม่เป็นอันตราย และขับออกจากร่างกายโดยระบบขับถ่าย

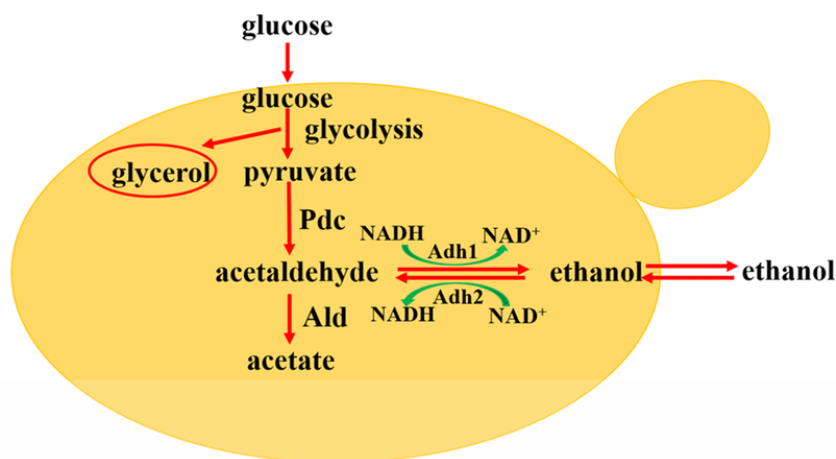
เมื่อนำยีสต์มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเอทานอลถึงแม้เอทานอลจะเป็นพิษต่อเซลล์ยีสต์ก็ตาม ในกระบวนการหมักนั้นจะหมักในสภาวะไม่มีอากาศ ได้สมการดังนี้



หากมีอากาศในกระบวนการหมัก จะส่งผลให้ยีสต์หายใจแบบใช้ออกซิเจน ได้สมการดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Pdc: pyruvate decarboxylase
Adh: alcohol dehydrogenase

Ald: acetaldehyde dehydrogenase

รูปที่ 2.3 แผนภาพแสดงวิถีเมแทบอลิซึมของยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

ที่มา : Xue และคณะ (2018)

2.1.3 กระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)

กระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) เป็นวิธีการที่กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ และกระบวนการหมักเกิดขึ้นในระยะเวลาที่แตกต่างกัน การย่อยสลายชีวมวลประเภทแป้ง หรือลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์จะเกิดขึ้นก่อน ณ อุณหภูมิที่เหมาะสม หลังจากนั้นจะทำการเติมจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลเพื่อเข้าสู่กระบวนการหมัก ในกระบวนการ SHF อุณหภูมิของการย่อยด้วยเอนไซม์ และการหมักสามารถปรับให้เหมาะสมและใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกันได้ เพื่อให้ประสิทธิภาพของทั้ง 2 กระบวนการสูงที่สุด ทั้งนี้ การใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วงของการย่อยด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้กระบวนการ SHF ต้องการปริมาณเอนไซม์ที่น้อยกว่ากระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)

นอกจากนี้ ในกระบวนการ SHF ไฮโดรไลสที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถนำไปผ่านขั้นตอนการทำให้ปราศจากเชื้อได้ ส่งผลให้ความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนระหว่างกระบวนการหมักลดลง อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนและระยะเวลาในการหมักด้วยวิธี SHF มีความซับซ้อนและใช้เวลานานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการ SSF (Ishizaki และ Hasumi, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 กระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

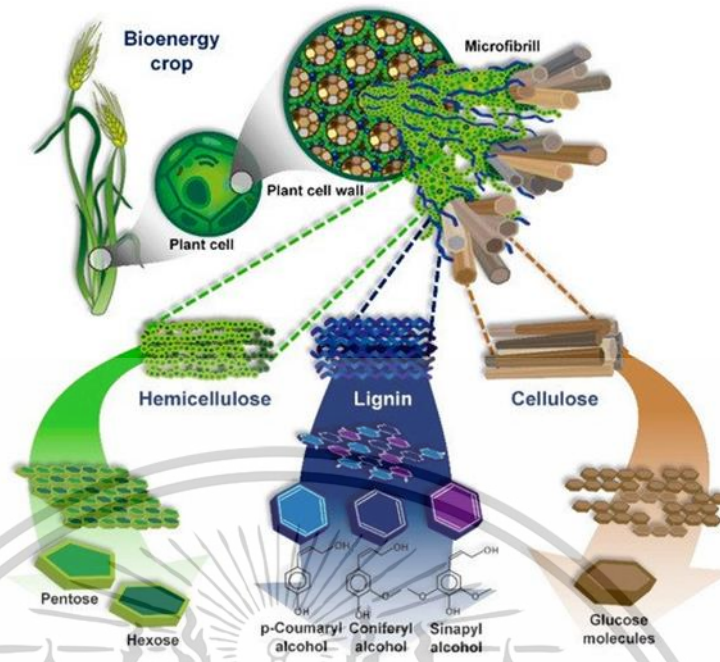
กระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF) เป็นวิธีการที่กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ และกระบวนการหมักเกิดขึ้นในระยะเวลาเดียวกัน การทำงานร่วมกันระหว่างกระบวนการย่อยและการหมักถือเป็นการลดระยะเวลาและทรัพยากร นอกจากนี้ ในกระบวนการ SSF ไม่ส่งผลให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ซึ่งเป็นผลมาจากการมีผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการย่อยมากเกินไป เนื่องจากน้ำตาลดังกล่าวถูกนำมาใช้ในกระบวนการหมักสำหรับเปลี่ยนเป็นเอทานอลในระยะเวลาเดียวกัน

อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการ SSF มีการใช้เอนไซม์ในปริมาณที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับกระบวนการ SHF เนื่องจาก อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการหมักด้วยยีสต์โดยทั่วไปจะต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยด้วยเอนไซม์ การใช้เพียงอุณหภูมิเดียวในระหว่างกระบวนการย่อยและกระบวนการหมัก ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์ต่ำลง จึงเป็นเหตุให้ต้องเพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ (Ishizaki และ Hasumi, 2014)

2.2 ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส

ชีวมวลส่วนใหญ่ที่เป็นของเสียคือ ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมาจากเศษวัสดุทางธรรมชาติและการเกษตร ชีวมวลของเสียเหล่านี้ประกอบด้วยเซลลูโลส (ร้อยละ 35-52) เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ 19-34) และลิกนิน (ร้อยละ 11-30) ซึ่งถูกจัดเรียงในโครงสร้างสามมิติที่ซับซ้อนและไม่สม่ำเสมอ โครงสร้างลิกนินและเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนที่ห่อหุ้มส่วนโครงสร้างของเซลลูโลสไว้เพื่อป้องกันการสลายตัวการสลายตัว องค์ประกอบทั้งหมดเชื่อมต่อกันสร้างโครงสร้างที่แข็งแรงและแยกออกได้ยากต้านทานต่อการย่อยสลายจากสารเคมีและจุลินทรีย์ (Zoghلامي และ Paës, 2019)

ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสที่เป็นของเสียเคยถูกใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับการทำอาหาร การทำถ่าน หรือให้ความร้อน โดยเฉพาะในพื้นที่ชนบท ปัจจุบันของเสียเหล่านี้ได้รับการยอมรับว่าเป็นทรัพยากรที่ยั่งยืนสำหรับการเปลี่ยนองค์ประกอบทั้งสาม (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ รวมถึงในด้านพลังงานและเชื้อเพลิงชีวภาพเพื่อทดแทนการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิล



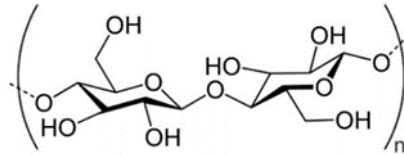
รูปที่ 2.4 องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส

ที่มา : Beltrán และคณะ (2019)

2.2.1 เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นโพลิเมอร์ซึ่งมีมอนอเมอร์เพียงชนิดเดียวคือ กลูโคส โดยโมเลกุลของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบตา-(1,4) ไกลโคซิดิกเป็นสายยาวไม่มีกิ่งก้าน และเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่มีพันธะโควาเลนต์ที่แข็งแรง มีการเกิดพอลิเมอร์ประมาณ 500 ถึง 10,000 ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช โดยมีหน่วยซ้ำ ๆ เรียกว่า เซลโลไบโอส (cellulobiose) ซึ่งทำหน้าที่เป็นหน่วยโครงสร้างของเซลลูโลส และทุก ๆ หน่วยที่สองของกลูโคสที่ต่อกันในโมเลกุลของเซลลูโลสหมุนได้ 180 องศา ทำให้สายเซลลูโลสเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของกลูโคส และระหว่างสายของพอลิเมอร์ นอกจากนี้สายพอลิเมอร์ของเซลลูโลสมีการจัดรวมตัวกันเป็นไมโครไฟบริล ซึ่งรวมตัวกันเป็นชั้นที่มีความเป็นผลึกสูงทำให้เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่ทนทานต่อการย่อยสลาย (Hallac และ Ragauskas, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

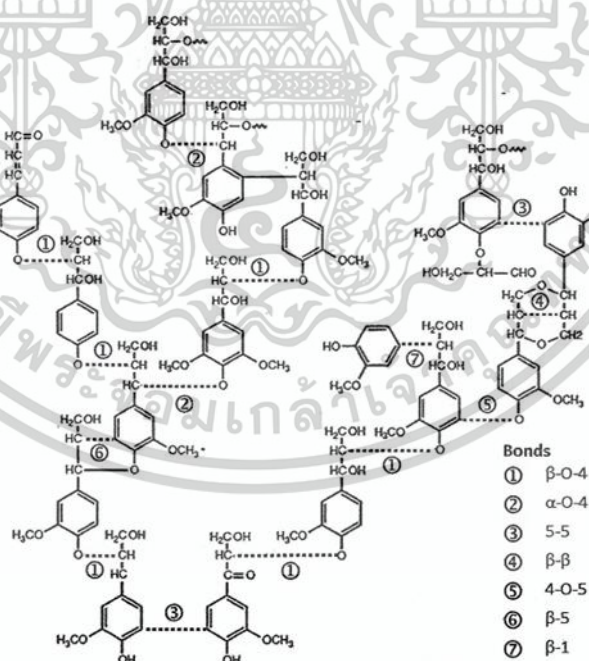


รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา : <https://cellulose-research.com/fhth/research/> (สืบค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2564)

2.2.2 เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสเป็นไบโอโพลีเมอร์ที่พบในชีวมวลลิกโนเซลลูโลส และมีความอุดมสมบูรณ์รองจากเซลลูโลส จำนวนพอลิเมอร์ของหน่วยกลูโคสในเฮมิเซลลูโลสอยู่ในช่วง 100–200 หน่วย ซึ่งต่ำกว่าในโครงสร้างของเซลลูโลสมาก โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสซับซ้อนกว่าเซลลูโลสและมีกิ่งก้านเป็นจำนวนมาก โดยมีกลุ่มอะซิทธิลเป็นกลุ่มที่พบมากที่สุด เฮมิเซลลูโลสในไม้เนื้อแข็งประกอบด้วยหน่วยย่อยเพนโทส เช่น น้ำตาลไซโลส ส่วนในไม้เนื้ออ่อน เฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยหน่วยย่อยเฮกโซส เช่น น้ำตาลกลูโคส แมนโนส และกาแลคโตส (Mota และคณะ, 2018)



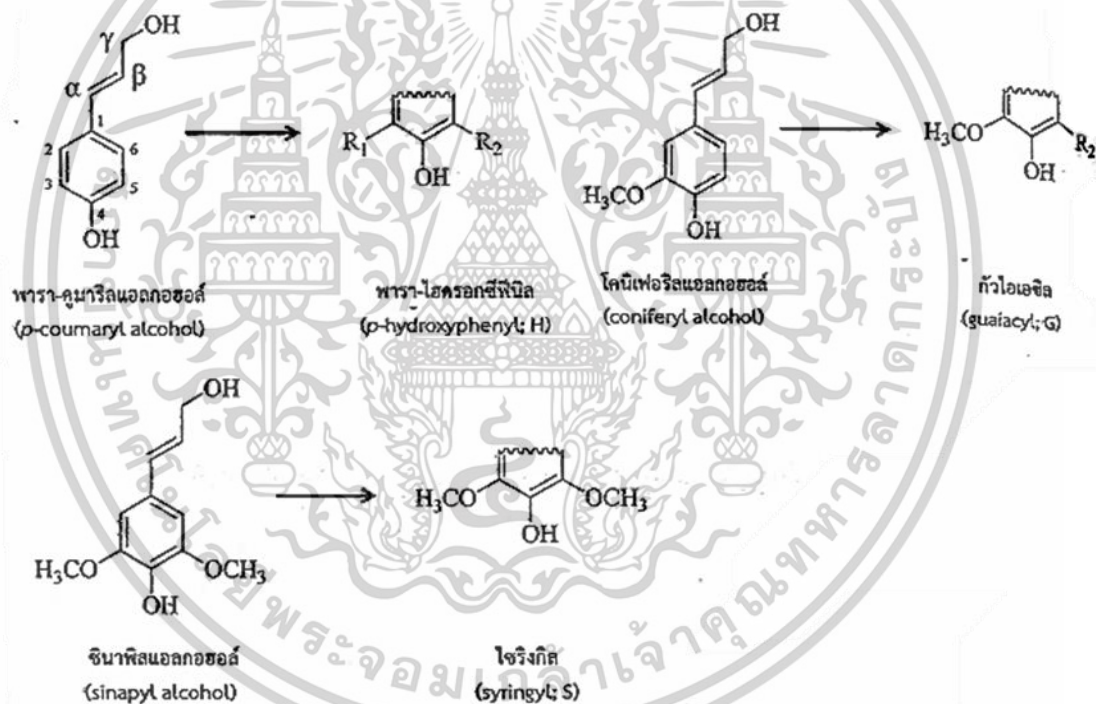
รูปที่ 2.6 พันธะต่าง ๆ ที่เชื่อมหน่วยย่อยในโครงสร้างลิกนินของไม้เนื้ออ่อน

ที่มา : อลิศรา (2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ลิกนิน

ลิกนินเป็นอีกหนึ่งส่วนประกอบของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส มีลักษณะเป็นวัสดุที่แข็งและซับซ้อนในผนังเซลล์พืช ประกอบด้วยแอลกอฮอล์สามชนิดเป็นหน่วยย่อย คือ พารา-คูมาริลแอลกอฮอล์ โคนิเฟอร์ิลแอลกอฮอล์ และซินาพิลแอลกอฮอล์ หน่วยย่อยเหล่านี้เรียกรวมกันว่าหน่วยฟีนิลโพรพานอยด์ เมื่อสารตั้งต้นเหล่านี้รวมตัวในโครงสร้างของลิกนินจะมีชื่อเรียกว่า พาราไฮดรอกซีฟีนิล กัวไอเอซิล และไซริงกิล ตามลำดับ ลิกนินช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงให้กับเนื้อเยื่อของพืชที่มีท่อลำเลียงและสาหร่ายบางชนิด ทำให้ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสแข็งและไม่ชอบน้ำ โดยจับกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในผนังเซลล์ เป็นอุปสรรคทางกายภาพที่ป้องกันการไฮโดรไลซ์ของเซลลูโลสโดยเอนไซม์และทนต่อการบุกรุกของจุลินทรีย์ (แมลง เชื้อโรค) หรือสิ่งรบกวนทางกายภาพอื่น ๆ (Mota และคณะ, 2018)



รูปที่ 2.7 หน่วยย่อยของลิกนิน และโครงสร้างของหน่วยย่อยเมื่อปรากฏในโครงสร้างของลิกนิน

ที่มา : อลิศรา (2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ชีวมวล

2.3.1 กัญชง

กัญชงและกัญชา เดิมมีชื่อวิทยาศาสตร์เดียวกันคือ *Cannabis sativa* L. แต่เดิมนักพฤกษศาสตร์ได้จัดให้อยู่ในวงศ์ตำแย (Urticaceae) ต่อมาภายหลังพบว่ามีความสัมพันธ์และลักษณะเฉพาะหลายประการที่ต่างออกไปจากพืชในกลุ่มตำแยมาก จึงได้รับการจำแนกออกเป็นวงศ์เฉพาะคือ Cannabidaceae

กัญชง (Hemp) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cannabis sativa* L. Subsp. *Sativa* สามารถสร้างสารสำคัญที่มีลักษณะเฉพาะ เรียกว่า cannabinoids ซึ่งสารหลายชนิดในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท โดยสารในกลุ่มดังกล่าวจะอยู่ในรูปของกรดคาร์บอกซิลิก หรือในรูปของกรด แต่เมื่อโดนแสงและความร้อน จะถูกกำจัดหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ออกจากโครงสร้างของสาร สารสำคัญที่พบมากในกลุ่ม cannabinoids ได้แก่ Delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 THC หรือ THC) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทที่สำคัญ และ cannabidiol (CBD) เป็นสารสำคัญอีกตัวหนึ่งซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดอาการชัก ลดอาการคลื่นไส้ และไม่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท นอกจากนี้ยังพบ cannabichromene (CBC) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดอาการปวด และต้านเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับ cannabitol (CBN) เป็นสารที่เกิดจากการสลายตัวของ THC เมื่อสัมผัสกับความร้อนและออกซิเจนในอากาศจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) พบได้น้อยมากในพืชสด แต่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บไว้นาน มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทอ่อน ๆ (สถาบันยาเสพติดศูนย์วิจัย, 2560)

กัญชงทุกสายพันธุ์ที่นำมาปลูกจะมีปริมาณของสาร THC และ CBD เพิ่มขึ้นเมื่อต้นมีอายุมากขึ้น และมีมากที่สุดในระยะออกดอก โดยต้นกัญชงที่มีอายุ 60 วัน จะมีสาร THC ร้อยละ 0.550-0.722 ส่วนต้นอายุที่มีอายุ 90 วัน จะมีสาร THC ร้อยละ 0.754-0.939 และมี CBD ร้อยละ 0.361-0.480 นอกจากนี้ต้นกัญชงที่อยู่ในระยะออกดอกจะมีสาร THC ร้อยละ 1.035-1.142 และมี CBD ร้อยละ 0.446-0.509 ซึ่งจากผลการทดลองยังพบว่า ปริมาณของสาร THC มีแนวโน้มลดลงเมื่อพื้นที่ปลูกมีความสูงจากระดับน้ำทะเลเพิ่มขึ้น ปริมาณของสาร THC แปรผันตามความสัมพันธ์ระหว่างอายุของต้น ความยาวเส้นรอบวงของลำต้น สายพันธุ์ และความสูงของพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะปลูก ส่วนปริมาณของสาร CBD จะแปรผันตามความสัมพันธ์ระหว่างอายุของต้น ความยาวเส้นรอบวงของลำต้น และสายพันธุ์เท่านั้น (ประภัสสร, 2560)

2.3.2 องค์ประกอบของกัญชง

2.2.1.1 ต้นกัญชง

ต้นกัญชง จัดเป็นพรรณไม้ล้มลุกที่มีอายุเพียงปีเดียว ลำต้นเป็นสีเขียวตั้งตรง มีความสูงประมาณ 1-6 เมตร มีลักษณะอวบนุ่มเมื่อเป็นต้นกล้า และจะเริ่มมีการสร้างเนื้อไม้เมื่ออายุได้ 1 ปี เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 2-3 สัปดาห์ การเจริญเติบโตของต้นจะช้าในช่วง 6 สัปดาห์แรก หลังจากนั้นจะเพิ่มความสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว จนมีความสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 3 เมตร มีรากเป็นระบบรากแก้ว และมีรากแขนงเป็นจำนวนมาก การปลูกต้นกัญชงจะปลูกด้วยการใช้เมล็ด ซึ่งใช้เวลางอกประมาณ 8-14 วัน และสามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่อต้นอายุ 3-4 เดือน กัญชงเป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในเอเชียกลางและแพร่กระจายไปสู่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินเดีย และทวีปยุโรป

2.2.1.2 ใบกัญชง

ใบกัญชงเป็นใบเดี่ยว ลักษณะของใบเป็นรูปฝ่ามือ แผ่นใบแก่แยกเป็นแฉกประมาณ 7-9 แฉก การเรียงตัวของใบค่อนข้างห่าง ขอบใบเป็นฟันเลื่อยและเว้าลึกจนถึงโคนใบ ปลายใบสอบและเรียวแหลม ก้านใบยาวประมาณ 2-7 เซนติเมตร เมื่อมีการสร้างดอกจำนวนแฉกของใบจะลดลงตามลำดับ

2.2.1.3 ดอกกัญชง

ดอกกัญชงออกเป็นช่อตามซอกใบและปลายยอด ดอกมีขนาดเล็กสีขาว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ดอกเป็นแบบแยกเพศและอยู่ต่างต้นกัน (บางชนิดอยู่ต้นเดียวกัน แต่ที่พบปลูกในบ้านเราคือชนิดที่อยู่ต่างต้นกัน) โดยช่อดอกเพศผู้จะเป็นแบบ panicle ประกอบไปด้วยกลีบเลี้ยง 5 กลีบ แยกจากกันเป็นอิสระ มีสีเขียวอมเหลือง มีเกสรเพศผู้ 5 อัน มีระยะเวลาการบานประมาณ 2 เดือน ส่วนดอกเพศเมียจะเกิดตามซอกใบและปลายยอด ในบริเวณช่อดอกจะอัดกันแน่น ช่อดอกจะเป็นแบบ spike ประกอบไปด้วยกลีบเลี้ยงสีเขียวเข้มหุ้มรังไข่ไว้ใน stigma 2 อัน อายุของดอกค่อนข้างสั้นประมาณ 3-4 สัปดาห์ก็จะติดผล

2.2.1.4 ผลกัญชง

ผลกัญชงเป็นเมล็ดแห้งสีเทา ลักษณะเป็นรูปไข่ผิวเรียบเป็นมันและมีลายประสีน้ำตาล เมื่อแห้งจะเป็นสีเทา มีขนาดกว้างเฉลี่ยประมาณ 4.47 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 5.11 มิลลิเมตร และมีความหนาเฉลี่ยประมาณ 3.75 มิลลิเมตร ภายในเมล็ดมีอาหารสะสมจำพวกแป้งและไขมันอัดกันแน่น โดยมีน้ำมันถึง 29-34% มีไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง ประกอบไปด้วย linoleic acid ร้อยละ 54-60, linolenic acid ร้อยละ 15-20 และ oleic acid ร้อยละ 11-13

2.4 กระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment) วัตถุประสงค์ประเภทลิกโนเซลลูโลส

การปรับสภาพวัตถุดิบเป็นการแยกส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลสให้กลายเป็นเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน วัตถุประสงค์ของการปรับสภาพคือ เพื่อกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส เพิ่มรูพรุนและพื้นที่ผิวให้กับวัตถุดิบ ทำให้วัตถุดิบถูกย่อยสลายได้ดีขึ้น การปรับสภาพที่ดีต้องหลีกเลี่ยงการทำลายคาร์โบไฮเดรตรวมถึงหลีกเลี่ยงการเกิดผลิตภัณฑ์ที่จะเป็นตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งกระบวนการย่อยสลายและกระบวนการหมักในภายหลัง ช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายได้ดี และมีค่าใช้จ่ายที่ไม่สูงจนเกินไป วิธีการปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสแบ่งเป็น 4 วิธี ดังต่อไปนี้ (สุภาวดี, 2557)

2.4.1 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)

เป็นการลดขนาดและเพิ่มพื้นที่ผิวของวัตถุดิบ ซึ่งวัตถุดิบสามารถถูกบดให้ละเอียดได้โดยการใช้หลายวิธีรวมกัน คือ การตัด การบด และการโม่ โดยปกติภายหลังจากการตัดแล้ววัตถุดิบจะมีขนาด 10 ถึง 30 มิลลิเมตร และหลังจากการบดหรือโม่แล้ววัตถุดิบจะมีขนาด 0.2 ถึง 2 มิลลิเมตร นอกจากนี้การแยกสลายด้วยความร้อนยังเป็นการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพอีกวิธีหนึ่งที่สามารถแยกสลายเซลลูโลสได้อย่างรวดเร็ว โดยใช้อุณหภูมิสูงในการย่อยสลายร่วมกับการใช้เอนไซม์ หากมีการลดขนาดของวัตถุดิบแล้วตามด้วยการปรับสภาพด้วยวิธีอื่น ๆ จะทำให้เกิดการย่อยสลายได้ดีขึ้น (สุภาวดี, 2557)

2.4.2 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับเคมี (Physicochemical pretreatment)

เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีทางกายภาพ โดยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (steam explosion) เป็นวิธีที่มีการศึกษามากที่สุด ในกระบวนการนี้จะใช้ไอน้ำที่ความดันสูงทำให้เกิดปฏิกิริยาอโตไฮโดรไลซิส (autohydrolysis) วิธีนี้จะใช้อุณหภูมิ 160 ถึง 260 องศาเซลเซียส ความดัน 0.69 ถึง 4.83 MPa เป็นเวลาไม่กี่วินาทีจนถึง 3 นาที ก่อนที่วัตถุดิบจะกลับสู่ความดันบรรยากาศ เมื่อความดันลดลงอย่างรวดเร็วจะทำให้วัตถุดิบนั้นแตกออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ทำให้เอมิเซลลูโลสเกิดการย่อยสลาย สามารถแยกเซลลูโลสออกจากเอมิเซลลูโลสและลิกนินได้ ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายเซลลูโลส ปัจจัยที่ส่งผลต่อการปรับสภาพด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำคือ ขนาดของวัตถุดิบ อุณหภูมิ ระยะเวลาที่ใช้ และปริมาณความชื้นวิธีนี้เป็นหนึ่งในวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับการปรับสภาพไม้เนื้อแข็งและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร แต่มีประสิทธิภาพน้อยในไม้เนื้ออ่อน การเติมกรดซัลฟิวริกหรือคาร์บอนไดออกไซด์ลงในวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ สามารถเพิ่มการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลดการเกิดสารยับยั้งและสามารถกำจัดเอมิเซลลูโลสได้อย่างสมบูรณ์มากขึ้น นอกจากนี้การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (ammonia fiber explosion, AFEX) จัดเป็นการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์อีกวิธีหนึ่ง ซึ่งวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสจะอยู่ในแอมโมเนียเหลวที่อุณหภูมิและความดันสูงเป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนที่ความดันจะลดลงอย่างรวดเร็ว (สุภาวดี, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (Chemical pretreatment)

2.4.3.1 การปรับสภาพด้วยกรด

การใช้กรดเข้มข้น เช่น กรดซัลฟิวริกหรือกรดไฮโดรคลอริก จะทำให้เกิดการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี แต่กรดที่มีความเข้มข้นสูงจะมีความเป็นพิษและมีฤทธิ์กัดกร่อนรุนแรง จึงต้องการภาชนะที่ทนต่อการกัดกร่อนได้ นอกจากนี้ยังต้องมีกระบวนการนำกรดเข้มข้นกลับมาใช้ใหม่ภายหลังจากการย่อยสลายแล้ว เพื่อให้มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

การใช้กรดเจือจางเป็นหนึ่งในวิธีการปรับสภาพที่มีการศึกษามากที่สุด ทดลองที่อุณหภูมิปานกลาง ส่วนใหญ่นิยมใช้กรดซัลฟิวริกเจือจาง หน้าที่ของกรดอ่อนคือ จะไปย่อยสลายเอมิเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาล หรืออาจจะกำจัดเอมิเซลลูโลสและลิกนินบางส่วนออกไป เพื่อให้เซลลูโลสสามารถถูกย่อยสลายได้ดีขึ้น แม้ว่าการใช้กรดอ่อนในการปรับสภาพจะสามารถเพิ่มการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี แต่การใช้วิธีนี้จะมีต้นทุนสูงกว่าการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์บางวิธี เช่น การระเบิดด้วยไอน้ำ หรือการระเบิดด้วยแอมโมเนีย เนื่องจากต้องมีการทำให้ค่าพีเอชเป็นกลางซึ่งมีความจำเป็นสำหรับกระบวนการหมัก นอกจากนี้การใช้กรดอ่อนยังก่อให้เกิดการสร้างสารประกอบ เช่น เฟอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล และกรดอะซิติก ขึ้นในไฮโดรไลสเสทซึ่งมีความเป็นพิษต่อเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมัก (Jung และคณะ, 2013)

2.4.3.2 การปรับสภาพด้วยด่าง

วิธีนี้ใช้ความดันและอุณหภูมิต่ำกว่าการปรับสภาพด้วยวิธีอื่น ๆ สามารถเกิดขึ้นได้ที่สภาวะปกติแต่ใช้ระยะเวลานาน การปรับสภาพด้วยด่างเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิว ช่วยลดปริมาณของลิกนินและเอมิเซลลูโลสในชีวมวลโดยทำลายพันธะระหว่างเอมิเซลลูโลสและพันธะระหว่างลิกนินที่เชื่อมกับคาร์โบไฮเดรต สามารถกำจัดลิกนินได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบอื่น การปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางจะทำให้วัตถุดิบเกิดการบวมพอง ส่งผลให้พื้นที่ผิวภายในเพิ่มขึ้น เกิดการลดลงของดีกรีของพอลิเมอร์ (Degree of Polymerization, D.P) สามารถแยกลิกนินออกจากคาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ เป็นการทำลายโครงสร้างของลิกนิน นอกจากนี้การปรับสภาพด้วยด่างอาจใช้เป็นแอมโมเนียหรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้เช่นกัน (McMillan, 1994)

2.4.3.3 การกำจัดลิกนินด้วยการออกซิไดส์ (Oxidative delignification)

นิยมใช้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเป็นด่าง (พีเอช 11.5) หรือที่เรียกกันว่าแอลคาไลน์เปอร์ออกไซด์ เป็นวิธีที่สามารถละลายส่วนที่เป็นเอมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสได้ และสามารถลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสลง จากการศึกษาของ Saha และ Cotta (2006) พบว่า ฟางข้าวสาลีและแกลบที่ได้รับการปรับสภาพด้วยแอลคาไลน์เปอร์ออกไซด์ เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์สามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลที่ใช้ในการหมักได้ถึงร้อยละ 97 และ 96 ตามลำดับ และไม่เกิดสารยับยั้งจำพวกเพอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล

2.4.3.4 การกำจัดลิกนินด้วยการใช้ออโซน (Ozonolysis)

โอโซนสามารถย่อยลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสได้ การปรับสภาพด้วยวิธีนี้มีข้อดีคือ สามารถกำจัดลิกนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ที่มีความดันและอุณหภูมิห้อง ไม่ก่อให้เกิดสารพิษ แต่ข้อเสียคือมีต้นทุนสูงเนื่องจากต้องใช้ออโซนปริมาณมาก (Sun และ Cheng, 2002)

2.4.3.5 การกำจัดลิกนินด้วยการออร์แกโนโซลฟ (Organosolv)

เป็นวิธีที่มีการผสมตัวทำละลายอินทรีย์กับตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดซัลฟิวริกหรือกรดไฮโดรคลอริก เพื่อทำลายลิกนินและพันธะระหว่างเฮมิเซลลูโลส ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการนี้ ได้แก่ อะซิโตน เอทานอล เมทานอล เอทิลีนไกลคอล ไตรเอทิลีนไกลคอล และเตตระไฮโดรเพอร์ฟูรัล แอลกอฮอล์ นอกจากนี้กรดอินทรีย์ เช่น กรดออกซาลิก กรดอะเซทิลซาลิไซลิก และกรดซาลิไซลิก สามารถใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการออร์แกโนโซลฟได้เช่นกัน ในกระบวนการนี้จะต้องมีการกำจัดตัวทำละลายที่ใช้ออก โดยใช้วิธีระเหยและควบแน่น เนื่องจากตัวทำละลายเป็นสารยับยั้งในกระบวนการย่อยสลาย และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก นอกจากนี้ตัวทำละลายที่กำจัดออกสามารถหมุนเวียนนำกลับมาใช้ใหม่ซึ่งช่วยลดต้นทุนได้ (สุภาวดี, 2557)

2.4.4 การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological pretreatment)

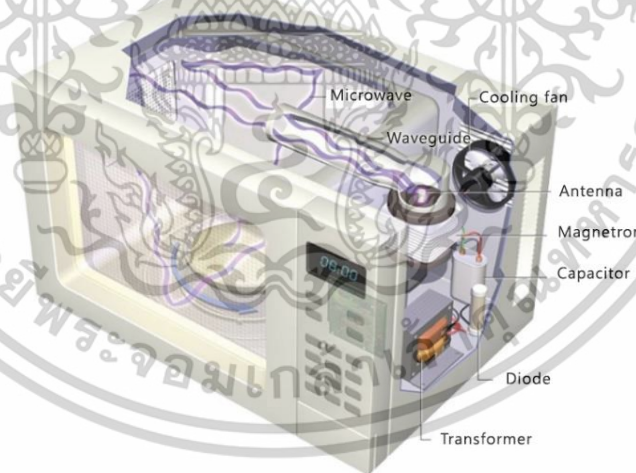
เป็นการใช้เชื้อจุลินทรีย์ เช่น ราที่ทำให้เกิดโรคเน่าสีน้ำตาล (brown-rot fungi) ราที่ทำให้เกิดโรคเน่าสีขาว (white-rot fungi) และราที่ทำให้เกิดโรคเน่า (soft-rot fungi) ในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ส่วนใหญ่ราที่ทำให้เกิดโรคเน่าสีน้ำตาลจะย่อยเซลลูโลส ในขณะที่ราที่ทำให้เกิดโรคเน่าสีขาวและราที่ทำให้เกิดโรคเน่าจะย่อยทั้งเซลลูโลสและลิกนิน ราที่ทำให้เกิดโรคเน่าสีขาวจัดเป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยวิธีทางชีวภาพ การย่อยสลายลิกนินด้วยราที่ทำให้เกิดโรคเน่าสีขาวมักจะใช้เชื้อได้แก่ *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* และ *Trametes versicolor* ซึ่งราเหล่านี้สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน ได้แก่ แล็กเนส ลิกนินเพอร์ออกซิเดส และแมงกานีสเพอร์ออกซิเดส ข้อดีของการปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพคือ สามารถเกิดได้ในสภาวะที่ไม่รุนแรง และใช้พลังงานน้อย แต่ข้อเสียคือต้องใช้ระยะเวลานานในการย่อยสลายลิกนิน (สุภาวดี, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 คลื่นไมโครเวฟ (Microwave)

ไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเช่นเดียวกับแสงสว่าง โดยอยู่ในช่วงของคลื่นวิทยุความถี่สูง (high frequency radio wave) เมื่อรังสีมีความถี่สูงขึ้นความยาวของคลื่นจะลดลง คลื่นที่มีความถี่สูงมาก ความยาวคลื่นจึงสั้นมาก ดังนั้นคลื่นชนิดนี้จึงได้ชื่อว่า ไมโครเวฟ (microwave) ส่วนรังสีอินฟราเรด (infrared) แสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) และรังสีเอกซ์ (X-ray) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเช่นเดียวกัน แต่มีความยาวคลื่นสั้นกว่าไมโครเวฟ (อภิสิทธิ์, 2562)

เตาอบไมโครเวฟเป็นเตาที่สร้างคลื่นไมโครเวฟจากพลังงานไฟฟ้าเพื่อทำให้อาหารร้อน ไมโครเวฟที่ใช้กันทั่วไปเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่ราว 2.45 กิกะเฮิรตซ์ (GHz) หรือ 2.45×10^9 เฮิรตซ์ (Hz) หรือมีความยาวคลื่นราว 12.2 เซนติเมตร ซึ่งถือว่าอยู่ในช่วงความถี่ที่สามารถสั่นโมเลกุลของอาหารโดยเฉพาะส่วนที่มีน้ำหรือไขมันเป็นองค์ประกอบแล้วทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นในอาหารที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบอย่างสม่ำเสมอ คลื่นไมโครเวฟสามารถเข้าไปภายในโมเลกุลของอาหารดังกล่าวได้ลึกราว 2.5-3.8 เซนติเมตร อย่างไรก็ตาม ความถี่ดังกล่าวเป็นเพียงความถี่ในเตาอบไมโครเวฟระดับครัวเรือน นอกจากนี้ยังมีเตาอบไมโครเวฟที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรมซึ่งนิยมใช้ความถี่ราว 0.915 กิกะเฮิรตซ์ (GHz) หรือมีความยาวคลื่นราว 32.8 เซนติเมตร (วิจิต, 2559)



รูปที่ 2.8 องค์ประกอบสำคัญของเตาอบไมโครเวฟ

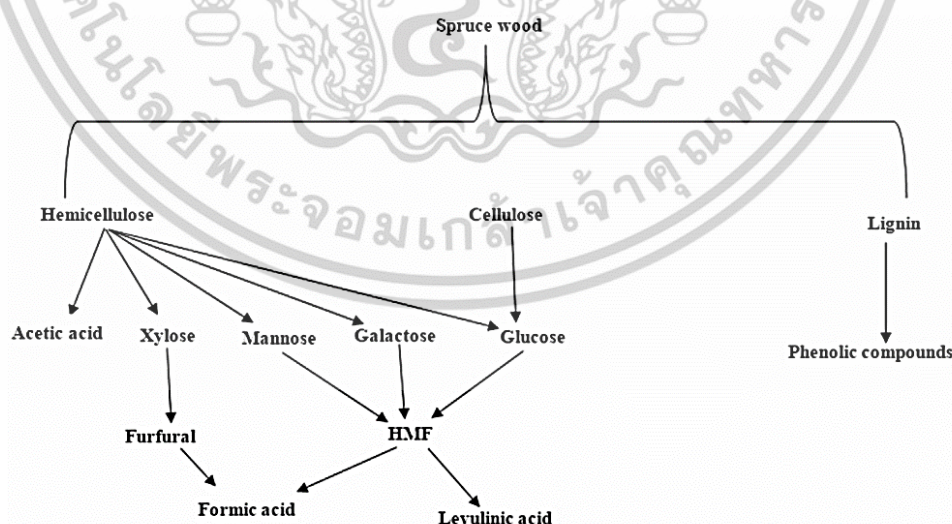
ที่มา : วิจิต (2559)

ในเตาอบไมโครเวฟประกอบไปด้วยอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ เรียกว่า แมกนีตรอน (magnetron) ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการผลิตคลื่นไมโครเวฟ โดยจะปล่อยออกมาบริเวณช่องว่างภายในเตาที่มีผนังเป็นโลหะ คลื่นไมโครเวฟจะสะท้อนไปมาอยู่ภายในเตาและถูกดูดกลืนโดยอาหารที่ใส่เข้า เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไป การดูดกลืนที่ไม่สม่ำเสมอจะส่งผลให้ในบางตำแหน่งเกิดจุดร้อน (hot spots) ขึ้น คลื่นไมโครเวฟที่ผ่านเข้าไปในอาหารหรือของเหลวจะทำให้โมเลกุลของน้ำเกิดการสั่น และเกิดการเสียดสีกันของโมเลกุล จึงเกิดเป็นความร้อนและทำให้อุณหภูมิของอาหารหรือของเหลวดังกล่าวสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว เวลาที่ใช้จึงสั้นกว่าการใช้เตาแบบธรรมดา โดยปัจจัยที่ส่งผลให้ความร้อนเพิ่มขึ้นช้าหรือเร็ว ได้แก่ ปริมาณความชื้น รูปร่าง ปริมาตร และมวลของวัตถุที่ใส่เข้าไป อย่างไรก็ตาม ผนังของเตาอบไมโครเวฟและภาชนะที่ไม่ใช่โลหะจะไม่เกิดความร้อนโดยตรงจากไมโครเวฟ เนื่องจากเป็นวัสดุที่ไม่ดูดกลืนพลังงานของคลื่นไมโครเวฟ แต่สาเหตุที่ผนังภายในเตาอบและภาชนะร้อนขึ้นเป็นผลมาจากการได้รับความร้อนจากอาหารที่ใส่เข้าไป และความร้อนจากการทำงานของวงจรไฟฟ้าของเตาอบ (อภิสิทธิ์, 2562)

2.6 สารยับยั้งที่เกิดจากการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับความร้อน

การปรับสภาพด้วยกรดเจือจางอาจส่งผลให้น้ำตาลถูกทำให้เสียสภาพกลายเป็นสารประกอบหลายชนิด เช่น อนุพันธ์ของฟูแรน เฟอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล และสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากการย่อยสลายน้ำตาลอย่างรุนแรงโดยกรดจะทำหน้าที่เป็นตัวตั้งโมเลกุลของไฮโดรเจนและออกซิเจนออกจากโมเลกุลของน้ำตาล เมื่อเกิดปฏิกิริยานี้จะทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง (ดุซฎี, 2550) แผนผังการย่อยสลายของน้ำตาลเพนโตสและเฮกโซส จากองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสแสดงในรูปที่ 2.9 โดยที่ชนิดของการสร้างสารยับยั้งและความเข้มข้นนั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตั้งต้น



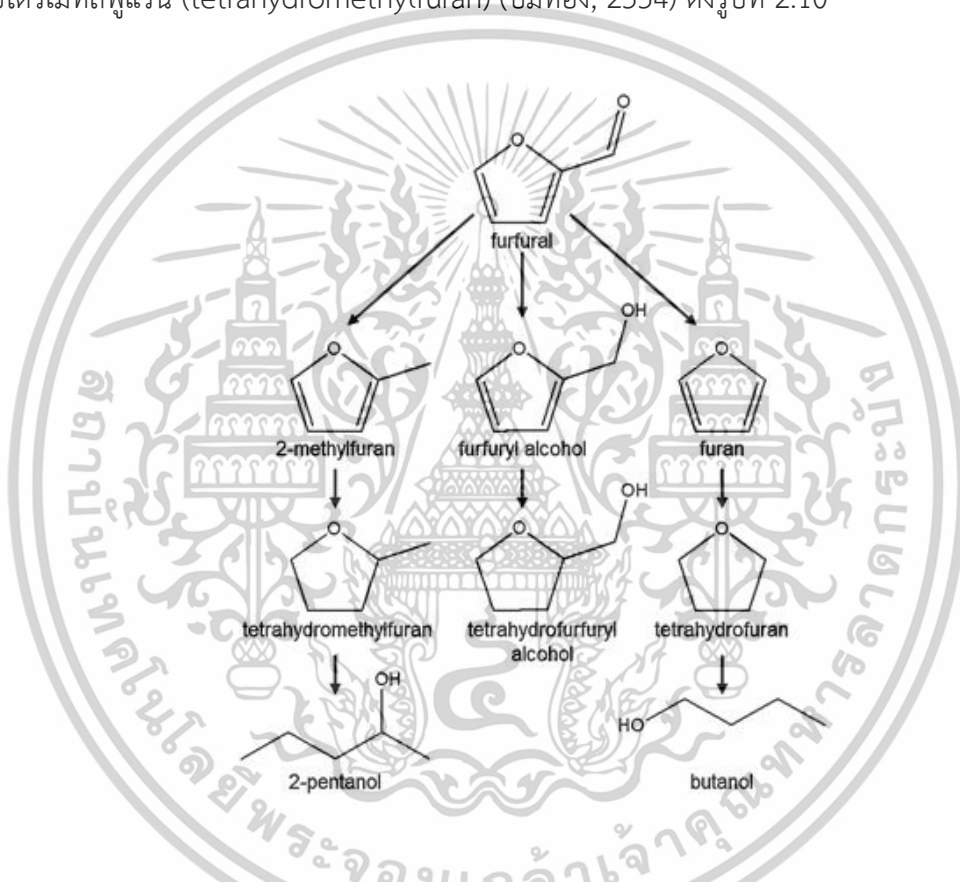
รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการไฮโดรไลซิสของลิกโนเซลลูโลส

ที่มา : Al-Tabib และคณะ (2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาด้านนี้ เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 เฟอรัฟรัล (Furfural)

เฟอรัฟรัล ($C_5H_4O_2$) เป็นสารสำคัญในกลุ่มสารประกอบเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic) กลุ่มฟูแรน (furan) ซึ่งมีลักษณะเป็นวงแหวนคาร์บอน 5 อะตอม ที่มีคาร์บอนไม่อิ่มตัวอยู่ 2 คู่ และมีออกซิเจน 1 อะตอม เฟอรัฟรัลเป็นแอลดีไฮด์ (aldehyde) ที่มีหมู่คาร์บอนิล ($-CHO$) อยู่ที่ตำแหน่งที่ 2 ซึ่งได้จากสารคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนพวกเพนโตแซนที่อยู่ในรูปของเซลลูโลสในเนื้อเยื่อของพืชหลายชนิด อนุพันธ์ของเฟอรัฟรัล เช่น เฟอรัฟรัลแอลกอฮอล์ (furfuryl alcohol) เตตระไฮโดรเฟอรัฟรัลแอลกอฮอล์ (tetrahydrofurfuryl alcohol) เตตระไฮโดรฟูแรน (tetrahydrofuran) และเตตระไฮโดรเมทิลฟูแรน (tetrahydromethylfuran) (ปมทอง, 2554) ดังรูปที่ 2.10

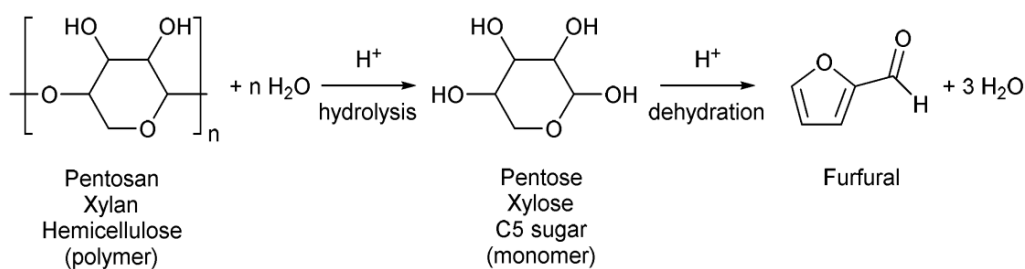


รูปที่ 2.10 โครงสร้างของเฟอรัฟรัลและอนุพันธ์ของเฟอรัฟรัล
ที่มา : Metkar และคณะ (2018)

2.6.1.1 ปฏิกริยาการเกิดเฟอรัฟรัล

เฟอรัฟรัลเกิดจากการไฮโดรไลซิสสารตั้งต้นที่มีเพนโตแซนเป็นองค์ประกอบด้วยกรดที่อุณหภูมิสูง ขั้นตอนแรกของการเกิดเฟอรัฟรัล คือ โซ่ของเพนโตแซนจะถูกไฮโดรไลซิสให้กลายเป็นน้ำตาลเพนโตส จากนั้นน้ำตาลเพนโตสจะถูกเปลี่ยนเป็นเฟอรัฟรัลโดยการคายน้ำออกจากโมเลกุลด้วยปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน (dehydration) (ปัญญา, 2556) ดังรูปที่ 2.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 ปฏิกิริยาการเกิดเฟอร์ฟูรัล

ที่มา : Metkar และคณะ (2014)

2.6.1.2 สมบัติทางกายภาพ (Physical properties) ของเฟอร์ฟูรัล

เฟอร์ฟูรัลเป็นแอลดีไฮด์เหลว มีกลิ่นคล้ายผลอัลมอนด์ ไม่มีสีเมื่อกลั่นใหม่ ๆ แต่จะมีสีคล้ำขึ้นเมื่อสัมผัสกับอากาศ เฟอร์ฟูรัลจากอุตสาหกรรมจะมีสีเหลืองสว่างจนถึงสีน้ำตาลจะเกิดการพอร์มเป็นพอลิเมอร์เมื่อเก็บเฟอร์ฟูรัลไว้ในที่สัมผัสกับอากาศได้ และการออกซิเดชันของเฟอร์ฟูรัลที่สภาวะไอโดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาจะให้กรดมาลิก (maleic acid) เฟอร์ฟูรัลสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ และละลายได้ในสารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนที่อิมิตัวได้เพียงเล็กน้อย แต่เฟอร์ฟูรัลไม่สามารถละลายได้ในสารประกอบอินทรีย์ (Kuster, 1990)

2.6.1.3 สมบัติทางเคมี (Chemical properties) ของเฟอร์ฟูรัล

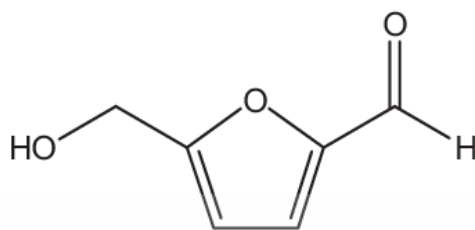
เฟอร์ฟูรัลมีลักษณะเป็นอะโรมาติกแอลดีไฮด์ (aromatic aldehyde) สามารถถูกออกซิไดซ์ได้เป็นกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) และถูกรีดิวซ์ได้เป็นเฟอร์ฟูรัลแอลกอฮอล์ และเปลี่ยนเป็นฟูแรนโดยการดึงเอากลุ่มคาร์บอนิลออก (decarbonylation) บนตัวเร่งปฏิกิริยาจำเพาะ เฟอร์ฟูรัลยังสามารถเกิดปฏิกิริยาแคนนิซซาโร (Cannizzaro reaction) กับด่างแก่ที่เข้มข้น เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์จะได้เป็นเฟอร์ฟูรัลแอลกอฮอล์และโซเดียมเฟอร์โรเอต เป็นต้น (สมพร, 2561)

2.6.2 ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (Hydroxymethylfurfural ; HMF)

HMF ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$) เป็นสารในกลุ่มสารประกอบเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic) กลุ่มฟูแรน (furan) ซึ่งมีลักษณะเป็นวงแหวนคาร์บอน 5 อะตอม ดังรูปที่ 2.12 มีคาร์บอนไม่อิ่มตัวอยู่ 2 คู่ และมีหมู่คาร์บอนิล (-CHO) อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เช่นเดียวกับเฟอร์ฟูรัล แต่ที่ต่างกันออกไป คือ มีหมู่เมทิล (- CH_2OH) อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ซึ่งได้จากสารคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ประกอบไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลของน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม (hexose) ที่อยู่ในรูปของเซลลูโลสในเนื้อเยื่อของพืชหลายชนิด (เฉลิมเกียรติ และคณะ, 2560)



รูปที่ 2.12 โครงสร้างของไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

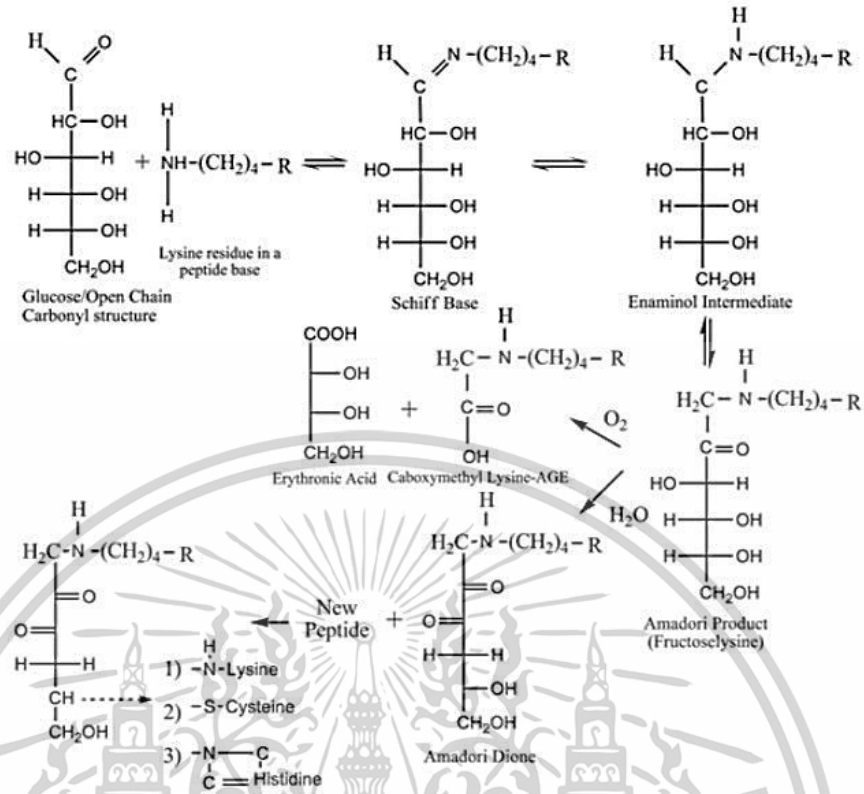
ที่มา : Melo และคณะ (2014)

2.6.2.1 ปฏิกริยาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลที่วราลดีไฮด์เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ โดยสามารถเกิดได้จาก 2 กลไก คือ เกิดผ่านปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard Reaction) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนกับหมู่คาร์บอนิลในน้ำตาลแล้วได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของสารประกอบกลูโคสเอมีนที่มีสีน้ำตาล (Fayle และ Gerrard, 2002) และเกิดผ่านปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (Caramelization) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของน้ำตาลได้รับความร้อนสูงเกินจุดหลอมเหลวทำให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเปลี่ยนรูปไปเป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบคาร์บอนได้เป็นสารสีน้ำตาลที่มีกลิ่นและรสเฉพาะตัวเรียกว่าคาราเมล (Caramel) (Villamiel และคณะ, 2006)

การเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลในน้ำตาลของปฏิกิริยาเมลลาร์ดนั้นจะเกิดขึ้น 3 ขั้นตอน โดยขั้นตอนที่ 1 จะเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวหรือควบแน่นระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวยกตัวอย่างเช่น น้ำตาลกลูโคสกับกรดอะมิโนไลซีนที่เรียกว่า Sugar Amine Condensation โดยผลที่ได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า N-substituted glycosylamine (Hodge, 1953) จากนั้นจะเข้าสู่ขั้นตอนที่ 2 โดยสาร N-substituted glycosylamine จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารประกอบอะมาโดริ (Amadori Compound) (Nursten, 2005) ดังรูปที่ 2.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

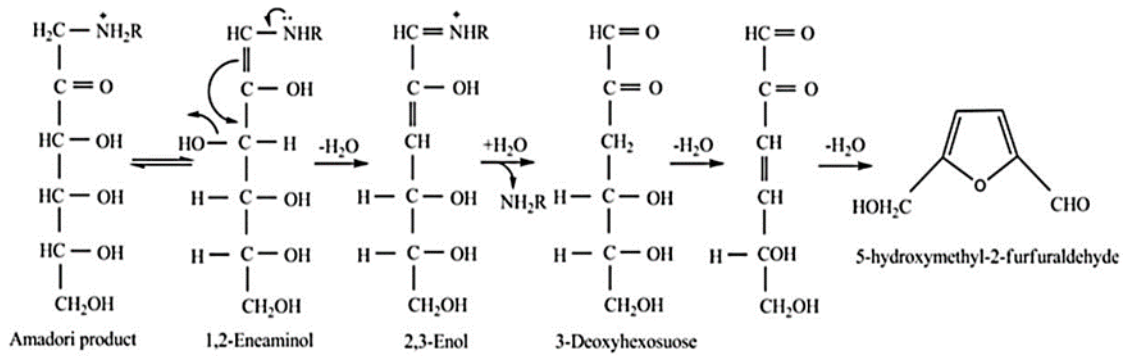


รูปที่ 2.13 แผนภาพการเกิดสารประกอบอะมาโดริ

ที่มา : Nursten (2005)

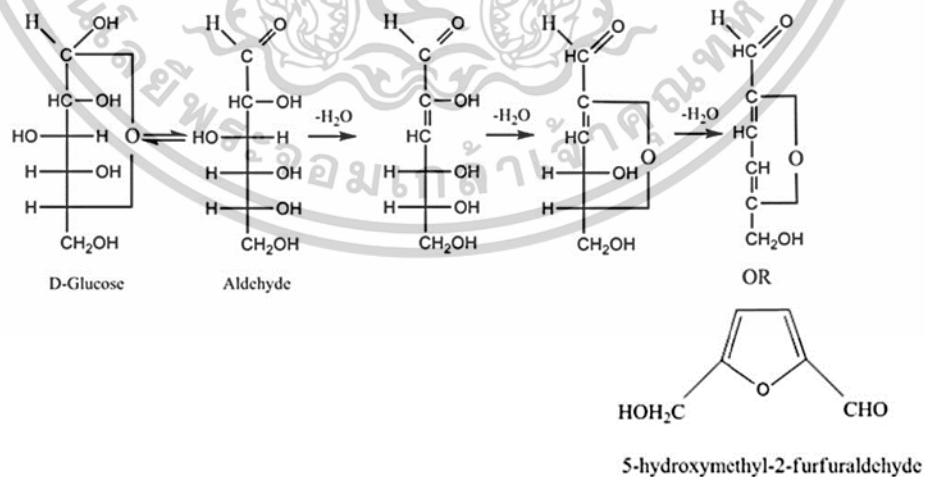
ขั้นตอนที่ 3 สารประกอบอะมาโดริเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้อย่างต่อเนื่องจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้อีกซึ่งมีการเกิดปฏิกิริยาได้ 4 แบบ ได้แก่ การสูญเสียน้ำจากน้ำตาล (Sugar Dehydration) น้ำตาลเกิดการแตกเป็นส่วน ๆ (Sugar Fragmentation) การเสียสภาพของกรดอะมิโน (Amino Acid Degradation) และการเกิด Strecker Degradation โดยผ่านกลไก 1,2-enalization หรือการเปลี่ยนแปลงผ่านกลไก 2,3-enolization โดยการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาเมลลาร์ดในขั้นตอนสุดท้ายจะได้ผลิตภัณฑ์จำพวกสารเมลานอยด์ดินซึ่งให้สีน้ำตาลเข้มหนึ่งในนั้น คือ สารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล (Fayle และ Gerrard, 2002) ดังแสดงในรูปที่ 2.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.14 แผนภาพการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด
ที่มา : Fayle และ Gerrard (2002)

สำหรับการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล ในน้ำตาลของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (Caramelization Reaction) จะแตกต่างจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด โดยการเกิดสารสีน้ำตาลที่เกิดจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ยกตัวอย่างเช่น น้ำตาลกลูโคส เมื่อน้ำตาลกลูโคสได้รับความร้อนสูงจนเกินจุดหลอมเหลวจะเกิดการสูญเสียน้ำ โดยไม่มีสารประกอบพวกโปรตีนและอะมิโน ซึ่งน้ำตาลที่บริสุทธิ์จะเกิดปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันได้รวดเร็วที่อุณหภูมิสูง ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยานั้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลา โดยปฏิกิริยาขั้นแรกจะเกิด Enolization Dehydration และมีการสูญเสียน้ำอย่างต่อเนื่อง และเกิดแตกตัวเป็นไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล (HMF) (Braverman, 1963) ดังแสดงตามรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 การเกิดสารสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

ที่มา : Braverman (1963)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2.2 สมบัติทางกายภาพ (physical properties) ของไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

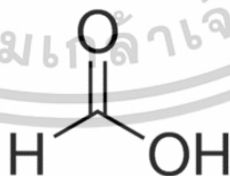
HMF มีลักษณะเป็นผลึกของแข็ง หากอยู่ในรูปผงหรือของเหลวจะมีสีเหลืองเข้ม มีกลิ่นคล้ายดอกคาโมไมล์ ที่ความดัน 0.02 มิลลิเมตรปรอท มีจุดเดือดอยู่ที่ 110 องศาเซลเซียส (Budavari, 1989) และที่ความดัน 1 มิลลิเมตรปรอท มีจุดเดือดอยู่ที่ 114 ถึง 116 องศาเซลเซียส มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 32 ถึง 35 องศาเซลเซียส (Aldrich, 1994) มีความสามารถในการละลายในน้ำ เมทานอล เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตต และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ทั้งยังมีความสามารถในการละลายได้ในอีเทอร์ เบนซีน และคลอโรฟอร์ม ละลายได้น้อยในคาร์บอนเตตระคลอไรด์ และละลายได้น้อยมากในปิโตรเลียมอีเทอร์ (Budavari, 1989)

2.6.2.3 สมบัติทางเคมี (chemical properties) ของไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

HMF ระเหยเป็นไอได้เล็กน้อย (Budavari, 1989) ควรเก็บรักษาให้พ้นจากแสงและอากาศ (Budavari, 1989) เมื่อถูกความร้อนจนเกิดการสลายตัวจะปล่อยควันที่มีกลิ่นฉุนและระคายเคืองออกมา (Sax และ Lewis, 1989) เข้ากันไม่ได้กับต่างแก๊ส ตัวออกซิไดซ์ และตัวรีดิวซ์ที่รุนแรง มีการปล่อยควันพิษของคาร์บอนมอนอกไซด์และคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาเมื่อเผาไหม้หรือสลายตัว (Aldrich, 1994)

2.6.3 กรดฟอร์มิก (Formic acid)

กรดฟอร์มิกเป็นกรดคาร์บอกซิลิกชนิดหนึ่ง มีสูตรโครงสร้างเป็นอะตอมไฮโดรเจนเกาะที่หมู่คาร์บอนิล ดังรูปที่ 2.16 มีจำนวนคาร์บอนอะตอมไม่มากสามารถพบทั่วไปได้ในธรรมชาติ มีสูตรโมเลกุลคือ HCOOH และมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย



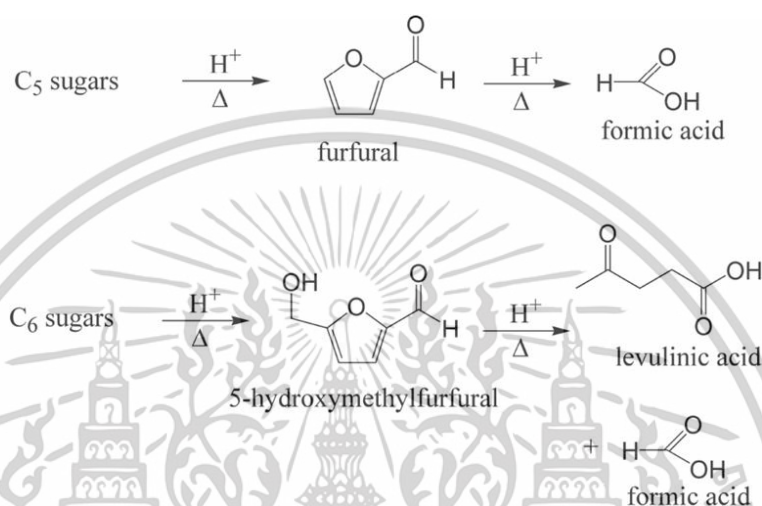
รูปที่ 2.16 โครงสร้างของกรดฟอร์มิก

ที่มา : <https://dt.mahidol.ac.th/th/wp-content/uploads/2019/09/160-FORMIC-ACID.pdf>
(วันที่สืบค้น 20 ธันวาคม 2564)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3.1 ปฏิกริยาการเกิดกรดฟอร์มิก

กรดฟอร์มิกสามารถเกิดได้ในกระบวนการที่มีการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไซโลสและกลูโคส (ฟรุคโตส) จะถูกเปลี่ยนเป็นเฟอร์ฟูรัล 5-hydroxymethylfurfural (HMF) และกรดฟอร์มิกจะเกิดขึ้นผ่านการเร่งปฏิกิริยาโดยกรดซึ่งจะทำการสลายโมเลกุลน้ำตาลและเกิดปฏิกิริยาดังน้ำออก (acid-catalyzed dehydration) (Ellen, 2018) ดังรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.17 แผนภาพการเกิดกรดฟอร์มิก

ที่มา : Almeida และคณะ (2009)

2.6.3.2 สมบัติทางกายภาพ (physical properties) ของกรดฟอร์มิก

กรดฟอร์มิกมีลักษณะเป็นของเหลว ไม่มีสี มีกลิ่นฉุนแสบจมูก มีรสเปรี้ยว จุดวาบไฟอยู่ที่ 156 องศาฟาเรนไฮต์ ความหนาแน่น 10.2 ปอนด์ต่อแกลลอน สามารถกัดกร่อนโลหะ มีจุดเดือดอยู่ที่ 100.5 องศาเซลเซียส และมีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 8 องศาเซลเซียส (Graham และ Craig, 2007) มีความสามารถในการละลายน้ำเพราะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำและละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป

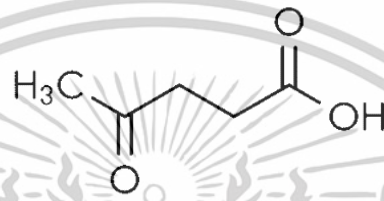
2.6.3.3 สมบัติทางเคมี (chemical properties) ของกรดฟอร์มิก

กรดฟอร์มิกเป็นกรดอ่อนซึ่งทำหน้าที่เป็นกรดคาร์บอกซิลิกทั่วไปและมีคุณสมบัติคล้ายอัลดีไฮด์ ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์เพื่อสร้างเอสเทอร์ กรดฟอร์มิกสลายตัวเมื่อมีกรดหรือความร้อน จะได้คาร์บอนมอนอกไซด์และน้ำ ในกรณีที่ทำปฏิกิริยากับแพลตตินัมจะเกิดการสลายตัวเพื่อให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนแทน (ประเสริฐ, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 กรดเลวูลินิก (Levulinic acid)

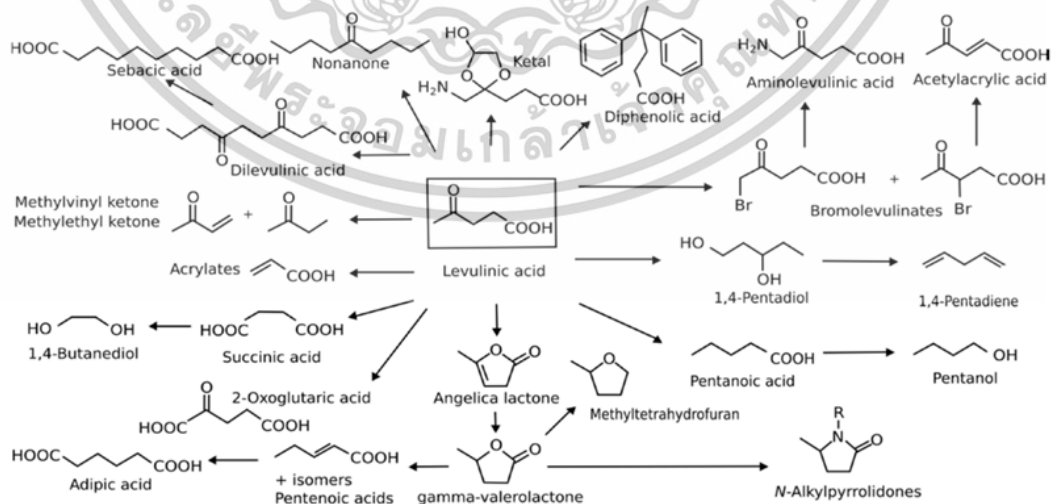
กรดเลวูลินิก (Levulinic acid : LA) เป็นสารเคมีที่สำคัญที่ผลิตจากสารชีวมวล (ลิกโนเซลลูโลส) กรดเลวูลินิกได้รับการจัดอันดับให้เป็นหนึ่งในสารเคมีที่มีมูลค่าสูงสุดโดยกระทรวงพลังงานของสหรัฐอเมริกา และได้รับการระบุว่าเป็นวัสดุที่มีความเกี่ยวข้องสำหรับการสังเคราะห์สารเคมีที่สำคัญอื่น ๆ กรดเลวูลินิกสามารถสังเคราะห์ผ่านกระบวนการที่เรียกว่ากระบวนการไฮโดรไลซิสโดยใช้แซคคาไรด์บางชนิด เช่น กลูโคส ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักที่มีอยู่ในเซลลูโลส อย่างไรก็ตามการนำเซลลูโลสมาใช้ในการผลิตนั้นจำเป็นต้องมีการปรับสภาพก่อน (ศิริรัตน์, 2553)



รูปที่ 2.18 โครงสร้างของกรดเลวูลินิก

ที่มา : <https://www.cosmacon.de/en/levulinic-acid/> (วันที่สืบค้น 20 ธันวาคม 2564)

กรดเลวูลินิก (4-Oxopentanoic acid) เป็นสารประกอบอินทรีย์ของพวกคีโตนและคาร์บอกซิลิก ดังรูปที่ 2.15 เป็นสารที่มีขี้้ว สามารถละลายน้ำ และสารละลายอินทรีย์ที่มีขี้้วได้ ปฏิบัติการในการเกิดของกรดเลวูลินิกเกิดจากการไฮโดรไลซิสของลิกโนเซลลูโลส และเป็นสารตั้งต้นของการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ กรดเลวูลินิกถูกใช้นามาเป็นสารตั้งต้น ของการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ดังรูปที่ 2.19



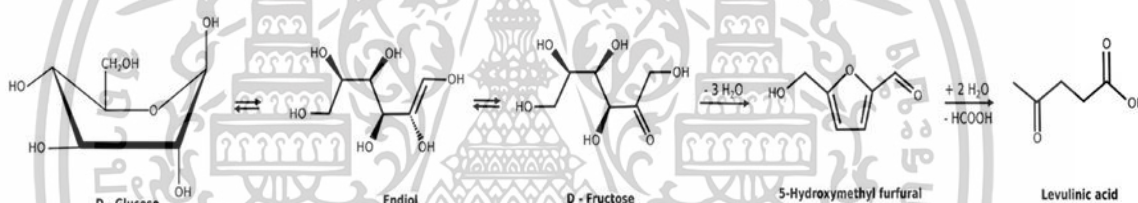
รูปที่ 2.19 ผลิตภัณฑ์ทางเคมีที่ได้มาจากกรดเลวูลินิก

ที่มา : Claudia และคณะ (2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4.1 ปฏิกริยาการเกิดกรดเลวูลินิก

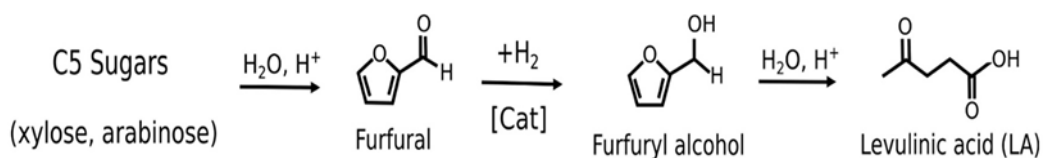
กรดเลวูลินิกสามารถผลิตได้จากการไฮโดรไลซิสของสารพอลิกลีโนเซลลูโลส โดยการสังเคราะห์สามารถเกิดขึ้นได้จากการใช้น้ำตาลเพนโตส หรือน้ำตาลเฮกโซส เป็นสารตั้งต้นโดยกระบวนการที่เกิดขึ้นจากการใช้น้ำตาลที่แตกต่างกันจะเกิดปฏิกิริยาที่แตกต่างกันออกไปด้วยปฏิกิริยาที่ใช้น้ำตาลเฮกโซสเป็นสารตั้งต้น ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส หรือกาแลคโตส ดังรูปที่ 2.20 ซึ่งน้ำตาลเฮกโซสดังกล่าวได้จากการไฮโดรไลซิสของคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลที่ซับซ้อน เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส หรือแป้ง การเกิดกรดเลวูลินิกเริ่มจากปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสให้เป็นฟรุคโตส จากปฏิกิริยากลิวโคสไอโซเมอเรเซชัน จากนั้นเกิดการดึงน้ำออกจากฟรุคโตสเกิดเป็น ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (HMF) โดย HMF นั้นผลิตจากฟรุคโตสผ่านตัวกลาง มีการศึกษาว่า HMF เกิดจากการทำปฏิกิริยากับกรดของน้ำตาลเฮกโซสของฟูราโนส ขั้นตอนแรกคือการเกิดของ HMF โดยการดึงน้ำออกสามครั้ง HMF เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและควบแน่นได้ง่าย และสุดท้ายเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนเป็นกรดเลวูลินิก (ศิริรัตน์, 2553)



รูปที่ 2.20 ปฏิกริยาการเกิดกรดเลวูลินิกจากน้ำตาลเฮกโซส

ที่มา : Claudia และคณะ (2016)

ปฏิกิริยาที่ใช้น้ำตาลเพนโตสเป็นสารตั้งต้น ปฏิกิริยาที่เกิดโดยรวมแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน เริ่มจากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสและเกิดการดึงน้ำออกของน้ำตาลเพนโตสกลายเป็นเฟอร์ฟูรัล จากนั้นเติมไฮโดรเจนให้กับเฟอร์ฟูรัลเป็นเฟอร์ฟูรัลแอลกอฮอล์ สุดท้ายการย่อยด้วยกรดเพื่อเปลี่ยนจากเฟอร์ฟูรัลแอลกอฮอล์เป็นกรดเลวูลินิก ดังรูปที่ 2.21 ข้อเสียของการใช้น้ำตาลเพนโตสเป็นสารตั้งต้นคือการเกิดผลพลอยได้ (By-product) ที่มากเกินไป (Claudia และคณะ, 2016)



รูปที่ 2.21 ปฏิกิริยาการเกิดกรดเลวูลินิกจากน้ำตาลเพนโตส

ที่มา : Claudia และคณะ (2016)

2.6.4.2 สมบัติทางกายภาพ (physical properties) ของกรดเลวูลินิก

กรดเลวูลินิกเป็นผลึกของกรดคีโตน (crystalline keto acid) ที่เกิดจากแป้ง อินซูลิน เลวูโลส เป็นต้น โดยเกิดจากการให้ความร้อนสารเหล่านี้กับกรดเจือจางหรือกรดซัลฟิวริก สูตรโมเลกุลของกรดเลวูลินิกคือ $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3$ น้ำหนักโมเลกุล 116.11 กรัมต่อโมล จุดเดือด 245.5 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว 33 องศาเซลเซียส (ประเสริฐ, 2552)

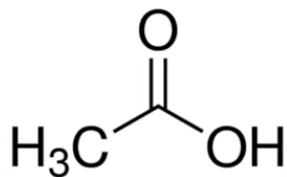
2.6.4.3 สมบัติทางเคมี (chemical properties) ของกรดเลวูลินิก

กรดเลวูลินิกประกอบไปด้วยคาร์บอน 5 อะตอมซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ไม่ระเหยกลายเป็นไอและมีลักษณะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง มีความเสถียรสูง ไม่เกิดปฏิกิริยาที่รุนแรงกับน้ำ สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและสารละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว (ประเสริฐ, 2552)

2.6.5 กรดอะซิติก (acetic acid)

กรดอะซิติก (CH_3COOH) เป็นกรดคาร์บอกซิลิก โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.22 มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา แม้ว่ากลไกในการออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่กรดอะซิติกที่ไม่แตกตัวอาจมีความสามารถในการกระตุ้นการละลายของไขมัน และเพิ่มการสะสมของกรดไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์หรือในโครงสร้างผนังเซลล์อื่น ๆ โดยที่กรดอะซิติกซึ่งเป็นกรดอ่อนมีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งส่งผลให้เกิดการตายของสิ่งมีชีวิตได้ กรดอะซิติกสามารถผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรียบางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแบคทีเรียสกุล *Acetobacter sp.* และ *Clostridium acetobutylicum* แบคทีเรียเหล่านี้สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในอาหาร น้ำ และดิน ทั้งยังสามารถผลิตได้ตามธรรมชาติ เช่น ผลไม้ และในอาหารเน่าเสีย (ศัลยา, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



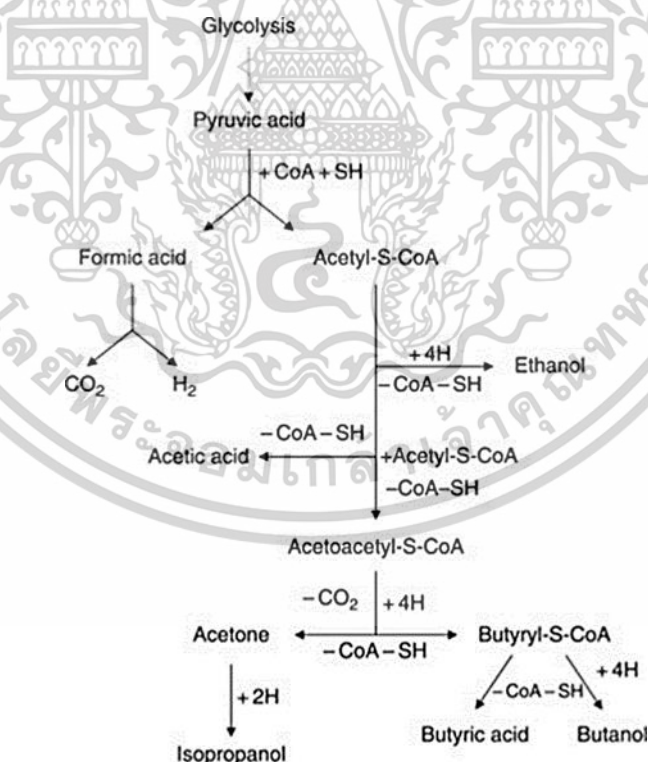
รูปที่ 2.22 โครงสร้างของกรดอะซิติก

ที่มา : <https://www.indiamart.com/proddetail/acetic-acid-glacial-9575485048.html>

(วันที่สืบค้น 20 ธันวาคม 2564)

2.6.5.1 ปฏิกริยาการเกิดกรดอะซิติก

กรดอะซิติกเกิดจากสารตั้งต้นที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบโดยเริ่มจากการเปลี่ยนน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอมเป็นไพรูเวทด้วยวิถีไกลโคไลซิส ในส่วนของน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม จะเข้าสู่วิถีเพนโตสฟอสเฟตก่อนเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม และเข้าสู่วิถีไกลโคไลซิสเพื่อเปลี่ยนเป็นไพรูเวทเช่นเดียวกัน จากนั้นเปลี่ยนจากไพรูเวทเป็นแอลกอฮอล์และเปลี่ยนจากแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติกด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ดังรูปที่ 2.23 (Fath, 2008)



รูปที่ 2.23 วิธีในการเกิดกรดอะซิติก

ที่มา : Ciani และคณะ (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.5.2 สมบัติทางกายภาพ (physical properties) ของกรดอะซิติก

กรดอะซิติกเป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นของน้ำส้มสายชูอย่างชัดเจน มวลโมเลกุลเท่ากับ 60.05 กรัมต่อโมล มีจุดวาบไฟอยู่ที่ 39 องศาเซลเซียส ความหนาแน่นเท่ากับ 8.8 ปอนด์ต่อแกลลอน มีความสามารถในการกัดกร่อนโลหะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ จุดเดือดเท่ากับ 117.9 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 760 มิลลิเมตรปรอท จุดหลอมเหลวเท่ากับ 16.6 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการละลายได้ทั้งในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ แต่กรดอะซิติกไม่สามารถละลายในคาร์บอนไดออกไซด์ได้ (ประเสริฐ , 2552)

2.6.5.3 สมบัติทางเคมี (chemical properties) ของกรดอะซิติก

กรดอะซิติกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีฤทธิ์กัดกร่อน โดยกรดกลีเซอริก (glacial acetic acid) เป็นกรดที่มีฤทธิ์ในการกัดกร่อนสูง หากกินเข้าไปจะส่งผลให้เกิดการทะลุของหลอดอาหาร ส่งผลให้หลอดอาหารและไฟโวลรัสที่อยู่บริเวณล่างสุดของกระเพาะอาหารเกิดการตีบ และเมื่อถูกความร้อนจนเกิดการสลายตัวจะปล่อยควันที่ส่งผลให้เกิดการระคายเคืองออกมา (ประเสริฐ, 2552)

2.7 ตัวดูดซับ

2.7.1 ถ่านกัมมันต์

ถ่านกัมมันต์ หรือ คาร์บอนกัมมันต์ (activated charcoal หรือ activated carbon) เป็นสารคาร์บอนที่มีโครงสร้างรูพรุนและพื้นที่ผิวจำเพาะภายในสูง ประกอบด้วยธาตุคาร์บอนเป็นหลัก (ร้อยละ 87 ถึง 97) และมีธาตุอื่น ๆ เป็นองค์ประกอบอยู่บ้าง เช่น ออกซิเจน ไฮโดรเจน กำมะถัน และไนโตรเจน รวมทั้งสารประกอบต่าง ๆ ทั้งหมดมีอยู่เดิมในวัตถุดิบตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตหรือสารที่เติมเข้าไปในระหว่างการผลิต (DiPanfilo และ Egiebor, 1996; Prahas และคณะ, 2008; Olorundare และคณะ, 2012) โดยถ่านกัมมันต์อาจมีแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบในปริมาณร้อยละ 1 ถึง 20 ซึ่งสารเหล่านี้ปกติจะถูกขจัดออกไปและยังคงอยู่ในรูปของเถ้าประมาณร้อยละ 0.1 ถึง 0.2 (Cheung และคณะ, 2012) ทั้งนี้ถ่านกัมมันต์มีความสามารถในการดูดซับสารต่าง ๆ ทำให้สามารถกักเก็บโมเลกุลต่าง ๆ ในพื้นผิวภายในได้ จึงทำให้ถ่านกัมมันต์เป็นสารดูดซับที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยปกติปริมาตรรูพรุนรวมของถ่านกัมมันต์มีมากกว่า 0.2 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม และบางชนิดมีมากกว่า 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม มีพื้นที่ผิวจำเพาะภายในมากกว่า 400 ตารางเมตรต่อกรัม และบางชนิดอาจมีได้ถึง 1000 ถึง 2500 ตารางเมตรต่อกรัม และมีความกว้างรูพรุนอยู่ในช่วง 0.3 นาโนเมตร ถึงหลายพันนาโนเมตร (Choma และ Jaroniec, 2006)

ถ่านกัมมันต์สามารถใช้เป็นสารดูดซับได้ทั้งในวัฏภาคแก๊สและของเหลว เช่น การฟอกสีในอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล (Menéndez-Díaz และ Martín-Gullón, 2006) การนำไปใช้ในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการบำบัดหรือทำบริสุทธิ์สารละลายน้ำตาลต่าง ๆ เช่น การขจัดสารมลพิษอินทรีย์ สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย และโลหะหนัก (Dias และคณะ, 2007)

ในการแบ่งชนิดของคาร์บอนกัมมันต์มีการแบ่งตามเกณฑ์หลายแบบ ได้แก่ แบ่งตามการใช้ประโยชน์ หรือแบ่งตามคุณสมบัติของเนื้อมวล เช่น ขนาดอนุภาค ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นถ่านกัมมันต์ผง (Powdered activated charcoal) และถ่านกัมมันต์เกล็ด (Granular activated charcoal) ซึ่งทั้งสองชนิดที่กล่าวไปข้างต้นนั้นมีการผลิตใช้จริง โดยการนำไปใช้จะพิจารณาตามสภาพของระบบการบำบัด เช่น ในระบบเบตในสถานะนิ่ง (Fixed bed) จะใช้ถ่านกัมมันต์เกล็ด สำหรับขจัดมลพิษในแก๊สหรือไอน้ำ แต่ถ่านกัมมันต์เกล็ดก็ทำให้เกิดการลดความดันในระบบด้วย ยิ่งไปกว่านั้นถ่านกัมมันต์เกล็ดจะต้องมีคุณสมบัติที่แน่น แข็ง และการสึกกร่อนต่ำ นอกจากนี้อาจแบ่งชนิดของถ่านกัมมันต์ตามรูปร่าง เช่น ใยถ่านกัมมันต์ (activated charcoal fibers) และถ่านกัมมันต์รูปร่างจำเพาะต่าง ๆ (Menéndez-Díaz และ Martín-Gullón, 2006)

2.7.1.1 ถ่านกัมมันต์ผง

ถ่านกัมมันต์ผง (Powdered activated charcoal) มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 100 ไมครอน โดยส่วนใหญ่มีขนาดประมาณ 15 ถึง 25 ไมครอน ทั้งนี้ปริมาณถ่านกัมมันต์ทั้งหมดที่ผลิตได้ประมาณร้อยละ 50 เป็นชนิดผง และปกติถ่านกัมมันต์ชนิดนี้มีการใช้ร่วมกับถ่านกัมมันต์เกล็ด สำหรับในกรณีที่สารละลายมีปัญหาการแพร่กระจายของสารปนเปื้อนจากสารละลายไปบริเวณรูพรุนที่ติดขัด และเพื่อให้เข้าสู่สมดุลที่ไวขึ้น (Dwivedi และคณะ, 2008) โดยปกติจะใช้ถ่านกัมมันต์ผงเพื่อบำบัดสารในวัฏภาคของเหลวในภาชนะแบบไม่ต่อเนื่องด้วยการกวน (Batch stirred vessels) ทั้งนี้ชนิด ปริมาณของถ่านกัมมันต์ และเวลาที่ใช้ในการขจัดสารปนเปื้อนเป็นสิ่งที่จะต้องพิจารณาในการทำของเหลวให้บริสุทธิ์ ซึ่งประสิทธิภาพการบำบัดอาจทำได้โดยการให้ถ่านกัมมันต์แขวนลอยไหลผ่านในหลายขั้นตอน จากนั้นทำการแยกออกมาด้วยการปล่อยให้ตกตะกอนหรือกรอง (Ormad และคณะ, 2008) สำหรับการให้ถ่านกัมมันต์ผงในการบำบัดแก๊ส ปกติจะเติมลงไปใในไอแก๊สที่ไหลด้วยความเร็วสูง และมีการกระจายตัวของถ่านกัมมันต์อย่างทั่วถึง จากนั้นทำการกรองด้วยแผ่นกรองหรือโดยตัวช่วยตกตะกอนทางไฟฟ้าสถิต (Ayotamuno และคณะ, 2007)

คุณสมบัติที่สำคัญของถ่านกัมมันต์ผงสำหรับการพิจารณาเป็นสารดูดซับ คือ การมีความหนาแน่นสูง มีความแข็ง และความคงทน (Lima และคณะ, 2008) โดยทั่วไปแล้วในการผลิตถ่านกัมมันต์ผงจากวัตถุดิบตั้งต้นโดยการกระตุ้นทางกายภาพ ไม่ว่าจะอัดเป็นแท่งหรือไม่อัดเป็นแท่ง ในขั้นตอนแรกของการผลิตจะทำการหั่นและบดวัตถุดิบให้มีขนาดอนุภาคที่เหมาะสม ก่อนที่จะเข้าสู่ขั้นตอนการผลิตถ่าน (carbonization) และการกระตุ้น (activation) ทั้งนี้ขนาดอนุภาคที่ได้จากการกระตุ้นยังไม่ใช่ผลิตภัณฑ์ที่เป็นถ่านกัมมันต์ผง ซึ่งโดยปกติถ่านกัมมันต์ที่ได้หลังกระตุ้นยังมีบางส่วนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่ ซึ่งเกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตถ่านและการกระตุ้น เนื่องจากเป็นการยากที่จะควบคุมให้ถ่านกัมมันต์เป็นผงในกระบวนการที่มีความร้อนสูง จึงได้ทำการบดให้เป็นผงหลังจากการกระตุ้นสิ้นสุดแล้ว ดังนั้นหลังการกระตุ้นจะทำการร่อนเพื่อแยกเป็นถ่านกัมมันต์ผงกับถ่านกัมมันต์เกล็ดที่มีขนาดต่าง ๆ กัน สำหรับถ่านกัมมันต์เกล็ดที่มีขนาดระหว่าง 100 ไมครอน ถึง 1000 ไมครอน ซึ่งปกติมีการใช้น้อยจะนำมาทำการบดต่อไปเพื่อผลิตเป็นถ่านกัมมันต์ผง (Lima และคณะ, 2008)

2.7.1.2 ถ่านกัมมันต์เกล็ด

ถ่านกัมมันต์เกล็ด (Granular activated charcoal, GAC) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 1 ถึง 5 มิลลิเมตร ปกติใช้เป็นสารดูดซับในระบบเบดในสถานะนิ่งแบบต่อเนื่อง (Fixed bed continuous processes) โดยมีการใช้ในทั้งวัฏภาคของเหลวและแก๊ส แต่มีการใช้ในวัฏภาคแก๊สเป็นส่วนใหญ่ เช่น การทำให้อากาศบริสุทธิ์ การนำกลับมาใช้ใหม่ของตัวทำละลาย การกรองอากาศ เป็นสารกรองในหน้ากาก ใช้ในการแยกแก๊ส รวมทั้งยังมีการใช้แทนถ่านกัมมันต์ผงในวัฏภาคของเหลว เช่น การสกัดทอง (Poinern และคณะ, 2011) และการขจัดสารอินทรีย์ธรรมชาติในน้ำสำหรับการผลิตน้ำดื่ม (Gibert และคณะ, 2013)

ถ่านกัมมันต์เกล็ดมีข้อดีกว่าถ่านกัมมันต์ผง คือ ทำให้ความดันในระบบการบำบัดลดลงน้อยกว่า และยังสามารถนำมาฟื้นฟูสภาพหรือทำการกระตุ้นใหม่ได้ อย่างไรก็ตามถ่านกัมมันต์เกล็ดยังมีรูพรุนขนาดเล็กไม่มาก มีความหนาแน่นสูง ความแข็งสูง และมีพื้นผิวที่เรียกว่าถ่านกัมมันต์ผง โดยถ่านกัมมันต์เกล็ดสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ ถ่านกัมมันต์เกล็ดขึ้นรูปและถ่านกัมมันต์เกล็ดแตกหัก (Menéndez-Diaz และ Martin-Gullón, 2006)

ถ่านกัมมันต์เกล็ดขึ้นรูปเป็นถ่านที่ผ่านกระบวนการขึ้นรูปเฉพาะ เช่น ทรงกระบอก ซึ่งทำได้โดยการอัดเม็ด (palletization) หรือโดยการอัดรีด (extrusion) ของผงถ่านกัมมันต์กับสารประสาน (Rizhikovs และคณะ, 2012)

ส่วนถ่านกัมมันต์เกล็ดแตกหัก เป็นชื่อที่เรียกลักษณะอนุภาคที่มีรูปร่างไม่แน่นอน ซึ่งผ่านเพียงการบดและร่อน ทั้งนี้ในความเป็นจริงแล้วถ่านกัมมันต์ชนิดนี้เกิดจากถ่านกัมมันต์ผงผสมกับสารประสานแล้วมีขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น ซึ่งจะต้องทำการทุบและบดอีกครั้งเป็นผลทำให้เกิดรูปร่างที่แตกหัก (Lima และคณะ, 2008)

2.7.1.3 ไยถ่านกัมมันต์

มีการพัฒนาเทคโนโลยีทางอุตสาหกรรมอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้พบคาร์บอนชนิดใหม่ ๆ เกิดขึ้น และสามารถนำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์ต่อไปได้ดังเช่นใยถ่านกัมมันต์ (activated charcoal fibers) ซึ่งเป็นใยคาร์บอนที่คาร์บอนแล้วถูกออกซิไดซ์ในบรรยากาศที่ความร้อนสูง (ขั้นการกระตุ้น) โดยเริ่มมีการผลิตตั้งแต่ปี ค.ศ. 1970 (Menéndez-Díaz และ Martín-Gullón, 2006) ซึ่งการผลิตใยถ่านกัมมันต์มีการกระตุ้นทั้งทางกายภาพและทางเคมี จะได้ใยถ่านกัมมันต์ที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Janman และคณะ (2015) รายงานว่า เชื้อเพลิงเอทานอลเป็นพลังงานหมุนเวียนที่สะอาดและยั่งยืน ซึ่งสามารถผลิตได้โดยกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์หรือกระบวนการทางเคมี เอทานอลเป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน สามารถนำมาใช้ในด้านอุตสาหกรรม เช่น สารทำความสะอาด สารกันความชื้น ยา อุตสาหกรรมสี และด้านพลังงาน เป็นต้น นอกจากนี้ Richardson (2006) ยังรายงานอีกว่า การผลิตไบโอเอทานอลสามารถใช้วัตถุดิบต้นทุนราคาต่ำ นิยมใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น หญ้า ชี้เสื่อย และของเสียเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเศษเหลือทิ้งทางการเกษตร พร้อมทั้งเป็นการลดการนำเข้าเชื้อเพลิงประเภทน้ำมันดิบจากต่างประเทศได้

Mikulski และคณะ (2019) รายงานการปรับสภาพกากข้าวโพดด้วยคลื่นไมโครเวฟเพื่อการผลิตไบโอเอทานอล พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของน้ำตาลกลูโคสที่ได้หลังจากการปรับสภาพได้เท่ากับ 104.4 ± 0.4 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และค่าผลได้สูงสุดของการนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นจากขั้นตอนการปรับสภาพร้อยละ 75.8 ± 0.9 โดยสภาวะที่ส่งผลให้ได้ผลการทดลองข้างต้น คือ ไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 300 วัตต์ เวลาในการปรับสภาพ 15 นาที ภายใต้ความดัน 54 PSI นอกจากนี้ในสภาวะการปรับสภาพดังกล่าวยังส่งผลให้เกิดสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการหมัก ได้แก่ ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลที่ความเข้มข้น 6.8 ± 0.4 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเฟอร์ฟูรัลที่ความเข้มข้น 6.0 ± 1.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งการใช้ผงถ่านกัมมันต์ในการกำจัดสารยับยั้งดังกล่าวส่งผลให้มีค่าผลได้ของการหมักสูงถึงร้อยละ 77 ของค่าผลได้ตามทฤษฎี

นอกจากนี้ Mikulski และ Ktosowski (2020) รายงานว่าการปรับสภาพกากข้าวสาลีและข้าวไรย์ด้วยกรดเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟและทำการย่อยสลายต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส มีประสิทธิภาพในการสลายโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสสูง โดยในงานวิจัยนี้ประเมินประสิทธิภาพของการปรับสภาพด้วยวิธีดังกล่าวในแง่ของ 1) ปริมาณของน้ำตาลที่ถูกปล่อยออกมา 2) ปริมาณของสารเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งที่เกิดขึ้นและการกำจัดออก 3) ประสิทธิภาพในกระบวนการหมัก โดยไม่คำนึงถึงประเภทของกากของเหลือที่นำมาใช้ในกระบวนการ ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นสูงสุดของน้ำตาลกลูโคสที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพได้เท่ากับ 156 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และค่าผลได้สูงสุดของการนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้รับน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นจากขั้นตอนการปรับสภาพมากกว่าร้อยละ 70 โดยสภาวะที่ส่งผลให้ได้ผลการทดลองข้างต้น คือ ไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 300 วัตต์ เวลาในการปรับสภาพ 15 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 54 PSI และในแง่ของประสิทธิภาพในการหมักด้วยไฮโดรไลสที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสภาวะดังกล่าว ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงถึง 20 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ในแง่ของการกำจัดสารยับยั้งที่เกิดขึ้นภายหลังจากการปรับสภาพ การใช้ผงถ่านกัมมันต์สามารถลดปริมาณสารยับยั้งที่เกิดขึ้นภายหลังจากขั้นตอนการปรับสภาพและช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในกระบวนการหมักให้ดียิ่งขึ้น

ต่อมา Ríos-González และคณะ (2021) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการใช้คลื่นไมโครเวฟและคลื่นอัลตราซาวด์ในการปรับสภาพต้นอากาศเวร์ร่วมกับกรดซัลฟิวริกเจือจาง เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพในการกำจัดองค์ประกอบประเภทเฮมิเซลลูโลสและเพิ่มความสามารถในการย่อยด้วยเอนไซม์ ผลการทดลองพบว่าภายใต้สภาวะการปรับสภาพที่เหมาะสม การใช้คลื่นไมโครเวฟมีความสามารถในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้ดีกว่า โดยสามารถกำจัดได้สูงถึงร้อยละ 77.5 เมื่อเทียบกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่มีความสามารถในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้เพียงร้อยละ 28.2 นอกจากนี้การย่อยต่อด้วยเอนไซม์ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟในสภาวะที่เหมาะสมมีค่าผลได้สูงกว่าการปรับสภาพด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมถึง 2 เท่า และในการปรับสภาพต้นอากาศเวร์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟิวริกเจือจางในสภาวะที่เหมาะสมส่งผลให้ได้น้ำตาลกลูโคสสูงถึง 47.7 กรัมต่อลิตร และไม่พบสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการหมัก นอกจากนี้การใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพยังใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่าและอุณหภูมิที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับการปรับสภาพโดยให้ความร้อนด้วยวิธีดั้งเดิม

และในแง่ของการปรับสภาพชีวมวลของต้นกล้วย Zhang และคณะ (2020) ได้ทำการทดลองนำกล้วยทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Helena, SS Beta, Tygra และ Elleta Campana มาปรับสภาพด้วยน้ำที่ผ่านการให้ความร้อน กรดซัลฟิวริก และด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อการผลิตไบโอเอทานอล โดยศึกษาประสิทธิภาพในการปรับสภาพทั้งในแง่ของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและทางสัณฐานวิทยาของชีวมวลกล้วยทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ผ่านขั้นตอนการปรับสภาพด้วยวิธีดังกล่าว ผลการทดลองพบว่า การปรับสภาพด้วยน้ำที่ผ่านการให้ความร้อนได้รับกลูแคนร้อยละ 85-98 และได้รับไซแลนร้อยละ 67-71 ส่วนการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกเหนียวทำให้เกิดการสลายของกลูแคน 5.9-10.6 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังเกิดสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการหมัก ได้แก่ HMF 4.5-7.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรัมต่อลิตร และเฟอ์ฟูรัล 2.8-4.5 กรัมต่อลิตร ซึ่งวิธีการปรับสภาพด้วยน้ำที่ผ่านการให้ความร้อน และกรดซัลฟิวริกมีค่าผลได้ของน้ำตาลกลูโคสและเอทานอลต่ำแปรผันตรงกับประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนิน ในทางตรงกันข้ามการปรับสภาพด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่าผลได้ของน้ำตาลกลูโคสและเอทานอลสูงเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนินสูงถึงร้อยละ 58.6-75.3 และในแง่ของสายพันธุ์กัญชงทั้ง 4 สายพันธุ์ที่นำมาทำการทดลอง ค่าผลได้ของน้ำตาลกลูโคสและเอทานอลที่ได้จากการปรับสภาพด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

3.1.2 เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182

3.1.3 เชื้อรา *Aspergillus oryzae* TISTR 3086

ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.2 สารเคมี

3.2.1 3,5-dinitrosalicylic acid

3.2.2 5-HMF (5-hydroxymethylfurfural)

3.2.3 Absolute ethyl alcohol (C₂H₅OH)

3.2.4 Acetic acid (CH₃COOH)

3.2.5 Agar

3.2.6 Furfural

3.2.7 Glucose หรือ Dextrose (C₆H₁₂O₆)

3.2.8 Mannose (C₆H₁₂O₆)

3.2.9 Propanol (C₃H₈O)

3.2.10 Peptone

3.2.11 Potassium sodium tartrate (KNaC₄H₄O₆)

3.2.12 Sodium acetate (CH₃COONa)

3.2.13 Sodium hydroxide (NaOH)

3.2.14 Sulfuric acid (H₂SO₄)

3.2.15 Xylose (C₅H₁₀O₅)

3.2.16 Yeast extract

3.2.17 เอนไซม์เซลลูเลส ชื่อทางการค้า Cellulase Cel BX, EnerGen Supreme และ Viscosity Reduction Enzyme

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) รุ่น GC-17A ยี่ห้อ Shimadzu

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) รุ่น BVT123 ยี่ห้อ Issco
- 3.3.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น Modell 600 ยี่ห้อ Memmert
- 3.3.4 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) รุ่น Polar1000/Orbit1900 ยี่ห้อ Contherm/Labnet
- 3.3.5 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Centrifuge) รุ่น Z383K ยี่ห้อ Hermle
- 3.3.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Helios Gramma ยี่ห้อ Thermo Electron Corporation
- 3.3.7 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH meter) รุ่น Starter 3000 ยี่ห้อ Ohaus
- 3.3.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รุ่น WNB 45
- 3.3.9 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น ES-315 ยี่ห้อ Tomy
- 3.3.10 ไมโครเวฟ (Microwave)
- 3.3.11 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 3.3.12 เครื่องแก้ว (ฟลากลัส หลอดทดลอง กรวย ปีกเกอร์ ฯลฯ)
- 3.3.13 อุปกรณ์วัดปริมาตร (ปิเปต ไมโครปิเปต ขวดปรับปริมาตร ฯลฯ)
- 3.3.14 ลวดเย็บเยื่อ

3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.4.1 การเตรียมกากกัญชง

กากต้นกัญชงซึ่งเป็นของเหลือจากระบวนการสกัดสารที่สำคัญ ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัทในช่วงเดือนสิงหาคม 2564 นำมาบดด้วยเครื่องบดละเอียด และทำการร่อนด้วยตะแกรงร่อนสแตนเลสขนาด 500 ไมโครเมตร เก็บรักษาไว้ในถุงพลาสติกปิดสนิทเพื่อป้องกันความชื้น

3.4.2 การศึกษาชนิดเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยวัตถุดิบกากต้นกัญชง

นำกากต้นกัญชง 10 กรัม ทำการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกหรือสารละลายต่าง โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนกากต้นกัญชงต่อสารละลาย 1:10) ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟในสภาวะคงที่ (450 วัตต์ 4 นาที) จากนั้นทำการกรองเพื่อแยกส่วนกากและของเหลวออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีค่าพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำกากต้นกัญชงไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนแห้ง นำมาบดให้ละเอียด และนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 3 ชนิด ดังนี้ Cellulase Cel BX, EnerGen Supreme และ Viscosity Reduction Enzyme ความเข้มข้น 0.5

มิลลิลิตรต่อกรัมของกากต้นกัญชง ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.05 โมลาร์ พีเอช 5 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส (Miller, 1959) เพื่อเลือกชนิดของเอนไซม์ที่ส่งผลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

3.4.3.1 การศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายกรดและด่างเจือจางที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ

นำกากต้นกล้วย 10 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกหรือสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนกากต้นกล้วยต่อสารละลาย 1:10) ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อทำการปรับสภาพที่กำลังไฟคงที่เท่ากับ 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นทำการกรองเพื่อแยกส่วนกากและของเหลวออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีค่าพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำกากต้นกล้วยไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนแห้ง นำมาบดให้ละเอียด และนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งคัดเลือกได้จากหัวข้อที่ 3.4.2 เพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 1 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากต้นกล้วย ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS เพื่อเลือกความเข้มข้นของสารละลายกรดและด่างที่ส่งผลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.3.2 การศึกษาหากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ

นำกากต้นกล้วย 10 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกหรือสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นเหมาะสม (จากการทดลองในหัวข้อที่ 3.2.1) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนกากต้นกล้วยต่อสารละลาย 1:10) ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อทำการปรับสภาพที่กำลังไฟเท่ากับ 300 450 และ 600 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นทำการกรองเพื่อแยกส่วนกากและของเหลวออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีค่าพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำกากต้นกล้วยไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนแห้ง นำมาบดให้ละเอียด และนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (เช่นเดียวกับ

หัวข้อที่ 3.4.1) จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตให้ถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใส่ที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS เพื่อเลือกกำลังวัตต์ของไมโครเวฟที่ส่งผลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.3.3 การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ

นำกากต้นกล้วย 10 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกหรือสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นเหมาะสม (จากการทดลองในหัวข้อที่ 3.2.1) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนกากต้นกล้วยต่อสารละลาย 1:10) ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อทำการปรับสภาพที่กำลังไฟเหมาะสม (จากการทดลองในหัวข้อที่ 3.2.2) เป็นเวลา 2 4 และ 6 นาที จากนั้นทำการกรองเพื่อแยกส่วนกากและของเหลวออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีค่าพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำกากต้นกล้วยไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนแห้ง นำมาบดให้ละเอียด และนำมาบดต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 3.4.1) จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS เพื่อเลือกระยะเวลาในการปรับสภาพที่ส่งผลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด

3.4.3.4 การศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในย่อยไฮโดรไลสเสทส่วนกากด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

นำไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟในสภาวะที่เหมาะสม (ดังที่กล่าวไว้ในหัวข้อที่ 3.4.3.1 ถึง 3.4.3.3) 10 กรัม เติมเอนไซม์เซลลูเลสความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากต้นกล้วย ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่ 12 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS เพื่อเลือกระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ส่งผลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด

3.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ของกากต้นกล้วยหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม

นำกากต้นกล้วยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดหรือด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟในสภาวะที่เหมาะสม อบแห้ง และนำส่งวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) โดยทำการวิเคราะห์หา Neutral Detergent Fiber (NDF), Acid Detergent Fiber (ADF) และ Acid Detergent Lignin (ADL) (Van Soest

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และคณะ, 1991) ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

3.4.5 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของกากต้นกล้วยหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM)

นำกากต้นกล้วยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดหรือด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟในสภาวะที่เหมาะสม อบแห้ง และนำส่งวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) ที่ศูนย์เครื่องมือคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4.6 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแมนโนส ที่ได้ภายหลังการปรับสภาพกากต้นกล้วยและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

นำส่วนใสของไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสมและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ มาทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ BP-800 Ca (24267) ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ได้แก่สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดชนิด refractive index detector (RI Detector) ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลที่มี Retention time เทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแมนโนส หากความเข้มข้นของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลแต่ละชนิด

3.4.7 การวิเคราะห์ปริมาณสารยับยั้งที่เกิดขึ้นภายหลังการปรับสภาพกากต้นกล้วยและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

นำส่วนใสของไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสมและย่อยด้วยเอนไซม์ มาทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของสารยับยั้ง ได้แก่เพอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล (HMF) ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ ACE C18 ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 4.6 มิลลิเมตร ความยาว 250 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ได้แก่สารละลายผสมระหว่างเมทานอล น้ำกลั่น และกรดฟอสฟอริก (อัตราส่วน 75:25:0.1) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดชนิด UV Detector ที่ความยาวคลื่น 220 และ 320 นาโนเมตร ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายที่มี Retention time เทียบกับสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานเฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (HMF) หาความเข้มข้นของสารยับยั้งทั้งสองชนิด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารยับยั้งดังกล่าว

3.4.8 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยไฮโดรไลสเททากากตันกัญชง

3.4.8.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เจริญบนอาหารวุ้นเอียง Yeast extract-Peptide-Dextrose (YPD) ประกอบด้วยยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร เปปโตเนน 20 กรัมต่อลิตร กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.0 ลงในอาหารเหลว YPD ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศโดยวางในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 เพื่อนำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับกระบวนการหมัก (Yadav และคณะ, 2011)

3.4.8.2 กระบวนการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

นำส่วนไฮโดรไลสเททากากตันกัญชงที่ได้หลังจากการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ในสภาวะที่เหมาะสม ปรับพีเอชเป็น 5.5 ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยมีปริมาตรอาหารเท่ากับ 150 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้อาหารเย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมหัวเชื้อของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อ 3.4.8.1) ลงในอาหารที่เตรียมไว้ ทำการหมักในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) รวมทั้งวิเคราะห์ค่าพีเอช และส่วนตะกอนเซลล์นำไปวัดน้ำหนักเซลล์แห้งของตัวอย่าง

3.4.9 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยมันสำปะหลัง

3.4.9.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ถ่ายเชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato-Dextrose-Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เตรียมสารละลายสปอร์เชื้อราโดยใช้ Tween-80 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร เติลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ชูดเบา ๆ ด้วยเข็มเขี่ยเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำสารละลายสปอร์เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ขูดได้ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสทิ้ง และเติมสารละลาย Tween-80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง นับจำนวนสปอร์ด้วยด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ ให้ความเข้มข้นของสปอร์ที่ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับกระบวนการหมัก

3.4.9.2 การเตรียมหัวเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เจริญบนอาหารวุ้นเย็บ Yeast extract-Peptone-Dextrose (YPD) ประกอบด้วยยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร เปปโตเนน 20 กรัมต่อลิตร กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.0 ลงในอาหารเหลว YPD ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศโดยวางในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 เพื่อนำไปใช้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส และเป็นหัวเชื้อสำหรับกระบวนการหมักต่อไป

3.4.9.3 การเตรียมสารละลายไขมันสำหรับกระบวนการหมัก

มันสำปะหลังซื้อจากตลาดหัวตะเข้ เขตตลาดกระบี่ กรุงเทพมหานคร นำมาล้างทำความสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นบางๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำชิ้นมันสำปะหลังที่อบแห้งแล้วบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนสแตนเลสขนาด 500 ไมโครเมตร ละลายไขมันสำปะหลังในน้ำกลั่น โดยใช้ความเข้มข้นของไขมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 ถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเป็นการละลายไขมันสำปะหลัง คนสารละลายมันสำปะหลังตลอดเวลาในระหว่างให้ความร้อน ปรับค่าพีเอชของสารละลายที่ 5.0 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อนำไปใช้เป็นอาหารสำหรับกระบวนการหมัก

3.4.9.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

นำสารแขวนลอยเชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 (จากข้อที่ 3.4.9.1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมนลงในสารละลายมันสำปะหลัง (จากข้อที่ 3.4.9.3) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสตามวิธีการของ Ramadas

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1996) โดยนำตัวอย่างที่ต้องการทดสอบปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลายโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ (pH 4.0) ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายแป้งความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้สารเข้ากัน และนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นลง และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu รุ่น UV-1800) โดยกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคสไมเลส 1 หน่วย เท่ากับปริมาณของเอนไซม์ที่ทำให้เกิด 1 ไมโครโมลของน้ำตาลรีดิวซ์ (เทียบเท่ากับน้ำตาลกลูโคส) จากการย่อยสารละลายแป้งความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด เปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์กลูโคสไมเลสของเชื้อราทั้งสองชนิด

3.4.9.5 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

3.4.9.5.1 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)

นำสารละลายมันสำปะหลัง (จากข้อที่ 3.4.9.3) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 หรือ *A. oryzae* TISTR 3086 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.1) ลงในสารละลายมันสำปะหลังที่เตรียมไว้ ทำการบ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำตัวอย่างมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำให้เอนไซม์ในตัวอย่างที่ได้จากเชื้อราข้างต้นเสื่อมสภาพ จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.2) บ่มต่อในสภาวะเดียวกันกับข้างต้น เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เปรียบเทียบการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 หรือ *A. oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

3.4.9.5.2 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

นำสารละลายมันสำปะหลัง (จากข้อที่ 3.4.9.3) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 หรือ *A. oryzae* TISTR 3086 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.1) ลงในสารละลายมันสำปะหลังที่เตรียมไว้ จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.2) บ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เปรียบเทียบการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 หรือ *A. oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

3.4.9.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมักเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

3.4.9.6.1 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำมันสำปะหลังที่ใช้ในกระบวนการหมัก

นำสารละลายน้ำมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 4 6 8 และ 10 โดยปริมาตร ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับข้อที่ 3.4.9.3) เติมเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.1) ลงในสารละลายน้ำมันสำปะหลังที่เตรียมไว้ จากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.2) ทำการบ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของน้ำมันสำปะหลังที่ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด

3.4.9.6.2 การศึกษาค่าพีเอชที่ใช้ในกระบวนการหมัก

นำสารละลายน้ำมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นเหมาะสม (จากข้อที่ 3.4.9.6.1) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับข้อที่ 3.4.9.3) ปรับพีเอชของสารละลายน้ำมันสำปะหลังที่ระดับต่าง ๆ ได้แก่ พีเอช 4.0 5.0 และ 6.0 เติมเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.1) ลงในสารละลายน้ำมันสำปะหลังที่เตรียมไว้ จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (จากข้อที่ 3.4.9.2) ทำการบ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เพื่อคัดเลือกระดับของค่าพีเอชที่ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.10 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.4.10.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

เจือจางตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม นำตัวอย่างที่ทำการเจือจางแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DNS ลงไปปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง ผสมสาร นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นจนอุณหภูมิลดลงเพื่อหยุด ปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโน เมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu รุ่น UV-1800) ทำการคำนวณความเข้มข้นของ น้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

3.4.10.2 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

นำส่วนใสที่ได้ภายหลังจากกระบวนการหมัก ผสมกับโพรพานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร (อัตราส่วน 1:1) จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (GC) รุ่น Shimadzu 2014 โดยใช้คอลัมน์ DB-1 เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ได้แก่แก๊ส ฮีเลียม ความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร ตัวอย่าง (Injector) อยู่ที่ 150 องศาเซลเซียส จากนั้นวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายที่มี Retention time เทียบกับสารละลายมาตรฐานเอทานอลต่อโพรพานอล เพื่อคำนวณหาความเข้มข้น ของเอทานอลแต่ละตัวอย่าง

3.4.10.3 การวิเคราะห์น้ำหนักรีดิวซ์

นำตัวอย่างที่ได้ภายหลังจากกระบวนการหมักปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำ กลั่น 2 ครั้ง จากนั้นนำหลอดปั่นเหวี่ยงไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนแห้ง นำ ออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักของหลอดปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งพร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของหลอดทั้งก่อนและหลังใส่ตัวอย่าง

3.4.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีจำนวนการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ทำการ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างที่ระดับ ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) ด้วยวิธีของ Duncan Multiple Rang Test (DMRT) โดยใช้ โปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาชนิดเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยวัตถุดิบกากต้นกล้วย

จากการศึกษานำกากต้นกล้วย 10 กรัม ทำการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกหรือสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนกากต้นกล้วยต่อสารละลาย 1:10) ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟในสภาวะคงที่ (450 วัตต์ 4 นาที) จากนั้น นำส่วนกากที่ได้มาทำการศึกษาชนิดเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ Cellulase Cel BX (CBX), EnerGen Supreme (EGS) และ Viscosity Reduction Enzyme (VRE) ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากต้นกล้วย ทำการย่อยเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ จากการศึกษาพบว่า การปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ EGS ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 16.25 ± 1.56 กรัมต่อลิตร และการย่อยด้วยเอนไซม์ VRE และ CBX ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รองลงมา เท่ากับ 13.43 ± 0.82 และ 11.66 ± 0.66 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์และนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 26.80 ± 0.71 กรัมต่อลิตร และการย่อยด้วยเอนไซม์ CBX และ EGS ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รองลงมา เท่ากับ 24.66 ± 1.50 และ 7.61 ± 0.21 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

การปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ EGS ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เป็นผลมาจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดส่งผลให้เกิดการตัดพันธะไกลโคซิดิกในโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนมาก เปลี่ยนเป็นโพลีแซคคาไรด์สายสั้น ๆ (Solarte-Toro และคณะ, 2019) และเนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของเอนไซม์ EGS ประกอบไปด้วย เอนไซม์ไซลานเนส (xylanase) และแมนแนนเนส (mannanase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ตัดจำเพาะบริเวณพันธะไกลโคซิดิกของพอลิเมอร์ชนิดไซแลน และแมนแนน ตามลำดับ ซึ่งพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิดข้างต้น พบเป็นส่วนมากในองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส ทั้งนี้ เมื่อเกิดการทำงานร่วมกันระหว่างสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ตัดพันธะไกลโคซิดิกบริเวณเฮมิเซลลูโลสให้ได้เป็นสายสั้น ๆ และเอนไซม์ EGS ที่องค์ประกอบส่วนใหญ่มีความจำเพาะต่อไซแลน และแมนแนน จึงส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด

ในทางกลับกัน การปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นการทำลายพันธะภายในโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส บริเวณพันธะที่เชื่อมต่อระหว่างลิกนินกับหมู่คาร์โบไฮเดรตของเฮมิเซลลูโลส (LCC) ด้วยปฏิกิริยาสะพอนิฟิเคชัน (saponification) และปฏิกิริยาการละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(salvation) ทั้งยังเกิดการกำจัดหมู่อะซิทิล และกรดยูโรนิคภายในโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส (Kumar และคณะ, 2020) แต่ไม่เกิดการตัดพันธะไกลโคซิดิกในโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นจึงไม่เหมาะกับการย่อยด้วยเอนไซม์ EGS สอดคล้องกับผลในตารางที่ 4.1 ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุด

ในขณะเดียวกัน การปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ VRE ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของเอนไซม์ VRE ประกอบไปด้วย เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) และโพลีกาแล็กทูโรเนส (polygalacturonase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ตัดจำเพาะบริเวณพันธะไกลโคซิดิกของเซลลูโลส และเพคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช ตามลำดับ ทั้งนี้ เมื่อเกิดการทำงานร่วมกันระหว่างสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทำลายพันธะบริเวณลิกนินและเฮมิเซลลูโลสซึ่งส่งผลให้โครงสร้างของลิกนินเซลลูโลสเกิดรูพรุน และเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้แก่เอนไซม์ เมื่อนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ VRE ที่องค์ประกอบส่วนใหญ่มีความจำเพาะต่อเซลลูโลสที่เป็นโครงสร้างชั้นในสุดของลิกนินเซลลูโลส จึงส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยไฮโดรไลสส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ ด้วยชนิดเอนไซม์ที่แตกต่างกัน

ชนิดของเอนไซม์	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
	H ₂ SO ₄	NaOH
Cellulase Cel BX (CBX)	11.66 ± 0.66 ^b	24.66 ± 1.50 ^b
EnerGen Supreme (EGS)	16.25 ± 1.56 ^a	7.61 ± 0.21 ^c
Viscosity Reduction Enzyme (VRE)	13.43 ± 0.82 ^b	26.80 ± 0.71 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2 ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพกากต้นกัญชงด้วยกรดและต่าง เจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

4.2.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดและต่างเจือจางที่เหมาะสมต่อการปรับ สภาพ

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกัญชงด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำการแปรผันความเข้มข้นของสารละลายที่ 0.2 0.4 และ 0.6 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกัญชงต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพพร้อมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์และระยะเวลาคงที่ เท่ากับ 450 วัตต์ 4 นาที ตามลำดับ จากนั้นแยกส่วนใสที่ได้หลังจากการปรับสภาพมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ส่วนกากนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE (จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.1) โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัมต่อกรัมกากต้นกัญชง ทำการย่อยเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งก่อนและหลังขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์

จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 โมลาร์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ภายหลังจากการปรับสภาพเท่ากับ 1.45 ± 0.11 , 2.12 ± 0.09 และ 2.66 ± 0.13 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 โมลาร์ ไปทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 15.28 ± 0.17 , 14.73 ± 0.45 และ 14.74 ± 0.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 โมลาร์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ภายหลังจากการปรับสภาพเท่ากับ 0.69 ± 0.02 , 0.68 ± 0.01 และ 0.81 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 โมลาร์ ไปทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 39.88 ± 0.95 , 39.81 ± 0.10 และ 39.27 ± 1.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย สารละลายที่มีความเข้มข้นสูงที่สุด (0.6 โมลาร์) ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด และเมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ การใช้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 โมลาร์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิจารณาในแง่ของการนำไปใช้ในกระบวนการหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพมีปริมาณน้อย (อยู่ในช่วง 0.6 – 2.6 กรัมต่อลิตร) เมื่อเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ (อยู่ในช่วง 14.7 – 39.8 กรัมต่อลิตร) เมื่อพิจารณาน้ำส่วนใสที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ไปใช้ในกระบวนการหมักเพียงส่วนเดียว ดังนั้น จึงเลือกสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด (0.2 โมลาร์) ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ใกล้เคียงกับความเข้มข้น 0.4 และ 0.6 โมลาร์ ไปใช้ในการปรับสภาพกากต้นกัญชงในการศึกษาสถานะอื่น ๆ ต่อไป

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและต่างเจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สารละลาย (โมลาร์)	ความเข้มข้นของ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
		ภายหลังจากการปรับสภาพ	ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์
H ₂ SO ₄	0.2	1.45 ± 0.11 ^c	15.28 ± 0.17 ^a
	0.4	2.12 ± 0.09 ^b	14.73 ± 0.45 ^a
	0.6	2.66 ± 0.13 ^a	14.74 ± 0.20 ^a
NaOH	0.2	0.69 ± 0.02 ^b	39.88 ± 0.95 ^a
	0.4	0.68 ± 0.01 ^b	39.81 ± 0.10 ^a
	0.6	0.81 ± 0.04 ^a	39.27 ± 1.32 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง เมื่อใช้สารละลายชนิดเดียวกัน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2.2 ผลการศึกษากำลังวัตต์ของไมโครเวฟที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกัญชงด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกัญชงต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์แตกต่างกัน (300 450 และ 600 วัตต์) และระยะเวลาคงที่ 4 นาที จากนั้นแยกส่วนใสที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ส่วนกากนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ VRE (จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.1) โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัมต่อกรัมกากต้นกัญชง ทำการย่อยเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งก่อนและหลังขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์

จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกพร้อมกับคลีนไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 300 450 และ 600 วัตต์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากการปรับสภาพเท่ากับ 0.64 ± 0.01 , 1.38 ± 0.08 และ 1.30 ± 0.11 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกพร้อมกับคลีนไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 300 450 และ 600 วัตต์ ไปทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 13.89 ± 0.38 , 15.77 ± 0.64 และ 14.77 ± 0.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลีนไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 300 450 และ 600 วัตต์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากการปรับสภาพเท่ากับ 0.59 ± 0.01 , 0.70 ± 0.02 และ 1.19 ± 0.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลีนไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 300 450 และ 600 วัตต์ ไปทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 37.58 ± 0.66 , 39.81 ± 0.25 และ 39.30 ± 0.51 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า การปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ด้วยกำลังวัตต์เท่ากับ 450 และ 600 วัตต์ ที่ความเข้มข้นของสารละลายและเวลาคงที่ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังจากการนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ สูงที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้น จึงเลือกกำลังวัตต์ของคลีนไมโครเวฟที่ 450 วัตต์ ไปใช้ในการปรับสภาพกากต้นกัญชงในการศึกษาสภาวะอื่น ๆ ต่อไป

ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจาง ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่าง ๆ เป็นเวลา 4 นาที และย่อยต่อด้วย เอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

	กำลังวัตต์ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
		ภายหลังจากการปรับสภาพ	ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์
H ₂ SO ₄	300	0.64 ± 0.01 ^b	13.89 ± 0.38 ^b
	450	1.38 ± 0.08 ^a	15.77 ± 0.64 ^a
	600	1.30 ± 0.11 ^a	14.77 ± 0.50 ^{ab}
NaOH	300	0.59 ± 0.01 ^b	37.58 ± 0.66 ^b
	450	0.70 ± 0.02 ^b	39.81 ± 0.25 ^a
	600	1.19 ± 0.16 ^a	39.30 ± 0.51 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง เมื่อใช้สารละลายชนิดเดียวกัน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2.3 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกล้วยขงด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกล้วยขงต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน (2 4 และ 6 นาที) จากนั้นแยกส่วนใสที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ส่วนกากนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE (จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.1) โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1 มิลลิตรต่อกรัมกากต้นกล้วยขง ทำการย่อยเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งก่อนและหลังขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์

จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่ระยะเวลา 2 4 และ 6 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ภายหลังจากการปรับสภาพเท่ากับ 0.44 ± 0.03 , 1.48 ± 0.14 และ 1.24 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่ระยะเวลา 2 4 และ 6 นาที ไปทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 16.82 ± 0.24 , 15.77 ± 1.01 และ 15.38 ± 0.44 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่ระยะเวลา 2 4 และ 6 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ภายหลังจากการปรับสภาพเท่ากับ 0.49 ± 0.02 , 0.63 ± 0.01 และ 1.01 ± 0.11 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่ระยะเวลา 2 4 และ 6 นาที ไปทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 35.11 ± 0.40 , 39.37 ± 0.08 และ 40.07 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.4

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า การปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่ระยะเวลา 2 4 และ 6 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ แปรผกผันกับระยะเวลาที่ใช้ การปรับสภาพด้วยระยะเวลา 2 นาทีให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดในทางตรงกันข้าม การปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่ระยะเวลา 2 4 และ 6 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ แปรผันตรงกับระยะเวลาที่ใช้ การปรับสภาพด้วยระยะเวลา 6 นาทีให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด

ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ ในระยะเวลาต่าง ๆ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

	เวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ (นาที)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
		ภายหลังจากการปรับสภาพ	ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์
H ₂ SO ₄	2	0.44 ± 0.03^c	16.82 ± 0.24^a
	4	1.48 ± 0.14^a	15.77 ± 1.01^{ab}
	6	1.24 ± 0.03^b	15.38 ± 0.44^b
NaOH	2	0.49 ± 0.02^c	35.11 ± 0.40^c
	4	0.63 ± 0.01^b	39.37 ± 0.08^b
	6	1.01 ± 0.11^a	40.07 ± 0.04^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง เมื่อใช้สารละลายชนิดเดียวกัน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพกากต้นกล้วยชงด้วยกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ โดยทำการศึกษาทั้งหมด 3 ตัวแปร ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลาย กำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟ และระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ พบว่า การปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (16.82 ± 0.24 กรัมต่อลิตร) ในขณะเดียวกัน การปรับสภาพเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (40.07 ± 0.04 กรัมต่อลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 4.5 เมื่อทำการเทียบชนิดของสารละลายที่ใช้ในการปรับสภาพระหว่างกรดและด่างพบว่า การใช้สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้น จึงเลือกสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์และสภาวะข้างต้นไปใช้ในการปรับสภาพกากต้นกัญชงในการศึกษาอื่น ๆ ต่อไป

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางในสภาวะที่เหมาะสม และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สารละลาย	สภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพ			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ (กรัมต่อลิตร)
	ความเข้มข้น (โมลาร์)	กำลังวัตต์ (วัตต์)	ระยะเวลา (นาที)	
H ₂ SO ₄	0.2	450	2	$16.82 \pm 0.24^*$
NaOH	0.2	450	6	40.07 ± 0.04

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง สัญลักษณ์ (*) หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อวิเคราะห์ด้วย T-Test

4.2.4 ผลการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในย่อยไฮโดรไลเสทส่วนกากด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกัญชงด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกัญชงต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพพร้อมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที แยกส่วนกากนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัมต่อกรัมกากต้นกัญชง ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ VRE ที่ระยะเวลา 12 24 และ 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 30.31 ± 0.49 , 33.34 ± 0.18 และ 40.55 ± 0.56 ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ VRE แปรผันตรงกับระยะเวลาที่ใช้ ในชั่วโมงที่ 48 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.6 Yildirim และคณะ (2023) รายงานว่า การเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยด้วยเอนไซม์ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น แต่การใช้ระยะเวลาที่มากเกินไป (สูงกว่า 60 ชั่วโมง) จะส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการเสียดสภาพของเอนไซม์ นอกจากนี้ Özbek และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะ (2018) รายงานอีกว่า เมื่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาของเอนไซม์สะสมมากเกินไป ปฏิกิริยาของเอนไซม์สามารถย้อนกลับได้ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณลดลง

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE ในระยะเวลาต่าง ๆ

ระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยด้วยเอนไซม์ (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ภายหลังจากการย่อยด้วย เอนไซม์ (กรัมต่อลิตร)
12	30.31 ± 0.49 ^c
24	33.34 ± 0.18 ^b
48	40.55 ± 0.56 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ของกากต้นกล้วยหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกล้วยต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และนำส่วนของกากต้นกล้วยที่กรองได้มาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีค่าพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนแห้ง นำส่วนกากต้นกล้วยทั้งก่อนและหลังการปรับสภาพส่งวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน พบว่า ตัวอย่างกากต้นกล้วยก่อนการปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 52.62 ± 0.06, 14.04 ± 0.02 และ 10.79 ± 0.03 ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกัน ตัวอย่างกากต้นกล้วยที่ผ่านการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสมข้างต้นมีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 55.86 ± 0.01, 12.33 ± 0.06 และ 10.74 ± 0.03 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 แม้ว่าองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสจะแตกต่างกันไปตามแหล่งที่มา ชนิดของเนื้อไม้ ไม่ว่าจะเป็นไม้เนื้อแข็ง ไม้เนื้ออ่อน หรือไม้ล้มลุก แต่โดยทั่วไปแล้วมักประกอบไปด้วย เซลลูโลส (ร้อยละ 40-60) เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ 20-40) และลิกนิน (ร้อยละ 10-24) (Yogalakshmi และคณะ, 2022) ทั้งนี้ การปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นการทำลายพันธะภายในโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส ยกตัวอย่างเช่น พันธะที่เชื่อมต่อระหว่างลิกนินกับหมู่

คาร์โบไฮเดรตของเฮมิเซลลูโลส (LCC) ด้วยปฏิกิริยาสะพอนิฟิเคชัน (saponification) และปฏิกิริยาเอกสาร์เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การละลาย (salvation) นอกจากนี้ยังเกิดการกำจัดหมู่อะซิทิล และกรดยูโรนิกของโครงสร้างเฮมิเซลลูโลสตามมา (Kumar และคณะ, 2020) ด้วยเหตุผลนี้ การปรับสภาพด้วยสารละลายต่างจึงส่งผลให้องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสมีการเปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 4.7 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากต้นกล้วยชงก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที

ตัวอย่างกากต้นกล้วยชง	ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ร้อยละ)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ก่อนการปรับสภาพ	52.62 ± 0.06*	14.04 ± 0.02*	10.79 ± 0.03
หลังการปรับสภาพ	55.86 ± 0.01	12.33 ± 0.06	10.74 ± 0.03

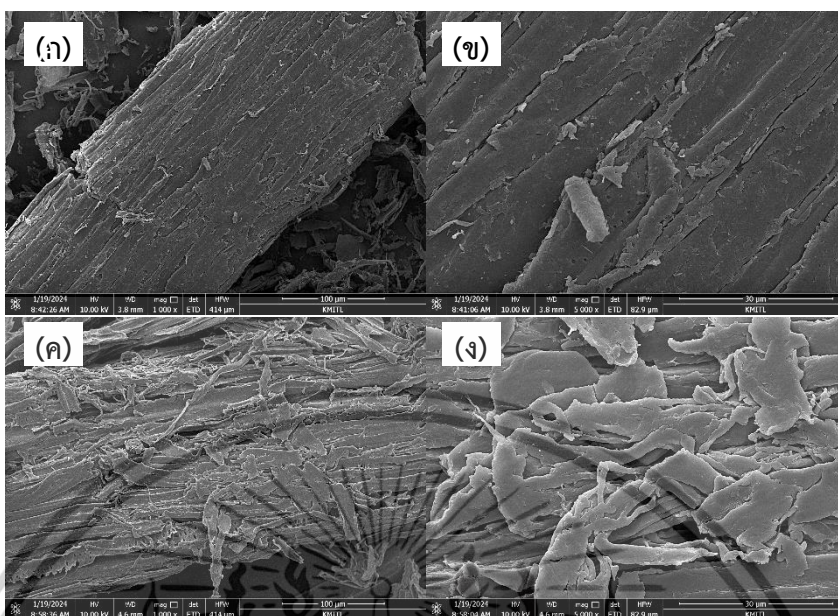
หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง สัญลักษณ์ (*) หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อวิเคราะห์ด้วย T-Test

4.4 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของกากต้นกล้วยชงภายหลังการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM)

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกล้วยชงด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกล้วยชงต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และนำส่วนของกากต้นกล้วยชงที่กรองได้มาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีค่าพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนแห้ง นำส่วนกากต้นกล้วยชงทั้งก่อนและหลังการปรับสภาพมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 1000 และ 5000 เท่า พบว่า ตัวอย่างกากต้นกล้วยชงก่อนการปรับสภาพมีลักษณะพื้นผิวค่อนข้างเรียบ และจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ ดังแสดงในรูปที่ 4.1(ก, ข) ในขณะที่ตัวอย่างกากต้นกล้วยชงที่ผ่านการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม พื้นผิวของตัวอย่างมีลักษณะเป็นรูพรุน เส้นใยไม่มีความเป็นระเบียบ เปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับตัวอย่างกากต้นกล้วยชงก่อนการปรับสภาพ ดังแสดงในรูปที่ 4.1(ค, ง) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างกากต้นกล้วยชงดังกล่าว ส่งผลดีต่อกระบวนการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ในแง่ของการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างตัวอย่างกับเอนไซม์เซลลูเลส เนื่องจากพื้นที่ผิวที่เข้าถึงได้เป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อปริมาณผลผลิตในระยะแรกของกระบวนการไฮโดรไลซิส

(Podgorbunskikh และคณะ, 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของกากต้นกล้วยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM); (ก) ก่อนการปรับสภาพ กำลังขยาย 1,000 เท่า (ข) ก่อนการปรับสภาพ กำลังขยาย 5,000 เท่า (ค) หลังการปรับสภาพ กำลังขยาย 1,000 เท่า (ง) หลังการปรับสภาพ กำลังขยาย 5,000 เท่า

4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแมนโนส ที่ได้ภายหลังการปรับสภาพกากต้นกล้วยและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกล้วยต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที แยกส่วนกากนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE จากนั้นนำตัวอย่างส่วนใสที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์มาทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของน้ำตาลกลูโคส ไซโลส แมนโนส ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่า ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และไซโลส เท่ากับ 17.31 ± 0.62 และ 4.44 ± 0.14 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันไม่พบปริมาณน้ำตาลแมนโนสในตัวอย่างดังกล่าว ดังแสดงในตารางที่ 4.8 ซึ่งในระหว่างกระบวนการไฮโดรไลซิส เอนไซม์จะถูกใช้เพื่อย่อยหรือตัดพันธะของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสสายยาว เพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคส ไซโลส อาราบิโนส กาแลคโตส และแมนโนส (Sharma และคณะ, 2022)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตัวอย่างกากต้นกล้วย	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)			
	กลูโคส	ไซโลส	แมนโนส	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด
หลังการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์	17.31 ± 0.62	4.44 ± 0.14	0.00 ± 0.00	40.07 ± 0.04

4.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารยับยั้งที่เกิดขึ้นภายหลังการปรับสภาพกากต้นกล้วยและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนกากต้นกล้วยต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที แยกส่วนกากนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE จากนั้นนำตัวอย่างส่วนใสที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์มาทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของสารประกอบเฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (HMF) พบว่า การปรับสภาพกากต้นกล้วยด้วยสภาวะข้างต้น และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE ไม่ส่งผลให้เกิดสารยับยั้งทั้ง 2 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.9 ทั้งนี้ เป็นผลมาจากการใช้ต่างในการปรับสภาพวัตถุดิบจำพวกกลีโคโนเซลลูโลส สารยับยั้งที่เกิดขึ้นพบเพียงอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอล และกรดต่าง ๆ (Toquero และ Bolado, 2014) สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า Hou และคณะ (2017) รายงานว่า สารยับยั้งที่เกิดขึ้นภายหลังจากการปรับสภาพฟางข้าวด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตรวจพบอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอล และกรดต่าง ๆ แต่ไม่พบอนุพันธ์ของสารประกอบจำพวกฟูแรน (เฟอร์ฟูรัล และ HMF)

ตารางที่ 4.9 ปริมาณสารยับยั้งที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตัวอย่างกากต้นกล้วย	ปริมาณสารยับยั้ง (กรัมต่อลิตร)	
	เฟอร์ฟูรัล	ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล
หลังการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยไฮโดรไลเสทจากต้นกล้วยขง

4.7.1 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ใน

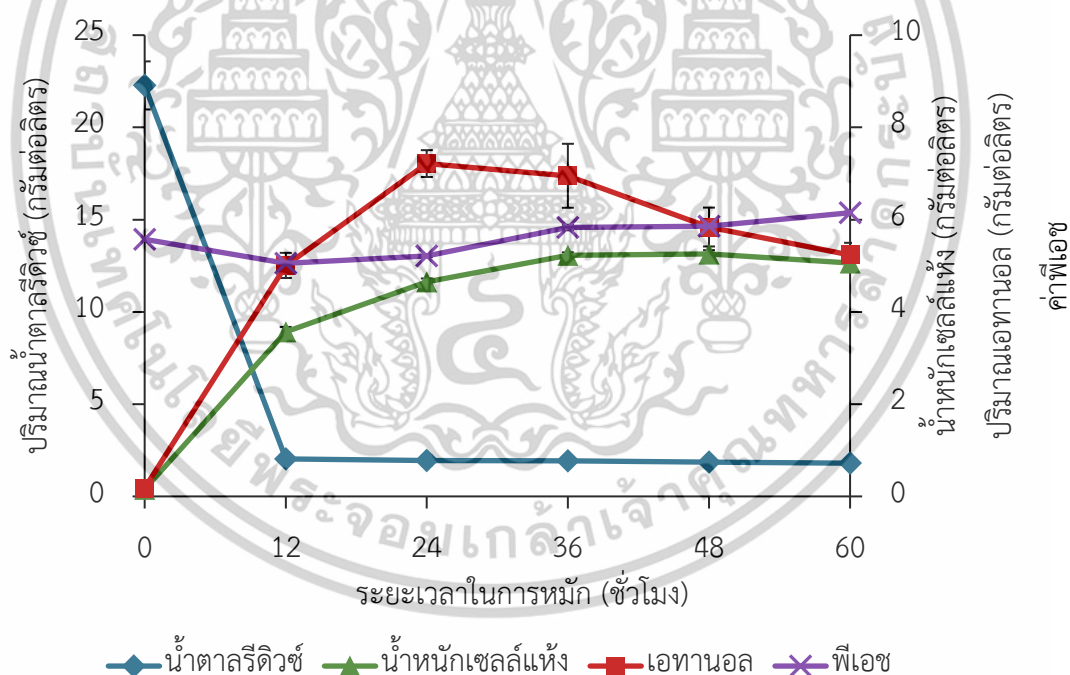
ไฮโดรไลเสทจากต้นกล้วยขง เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD

จากการศึกษาการปรับสภาพจากต้นกล้วยขงด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (อัตราส่วนจากต้นกล้วยขงต่อสารละลาย 1:10) ทำการปรับสภาพพร้อมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที แยกส่วนกากนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE นำตัวอย่างส่วนใสที่ได้ภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์มาปรับค่าพีเอช เท่ากับ 5.5 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับการใช้อาหาร YPD เป็นชุดควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปหมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และค่าพีเอช ส่วนตะกอนเซลล์นำไปวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง จากการศึกษาพบว่า กระบวนการหมักในอาหารชุดควบคุม (YPD) ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 22.28 ± 1.30 กรัมต่อลิตร ในระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 12 ของกระบวนการหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้า ๆ จนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก สอดคล้องกับผลของน้ำหนักเซลล์แห้งในระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 12 (0.16 ± 0.03 และ 3.57 ± 0.11 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) พบว่าการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างทวีคูณ หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนกระทั่งในชั่วโมงที่ 60 การเจริญของเชื้อมีปริมาณลดลง ในส่วนของปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักพบว่า ในชั่วโมงที่ 24 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 7.22 ± 0.29 กรัมต่อลิตร และมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.21 ± 0.03 ดังแสดงในตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักรเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช
0	22.28 ± 1.30 ^a	0.16 ± 0.03 ^e	0.18 ± 0.08 ^d	5.57 ± 0.01 ^c
12	2.04 ± 0.11 ^b	3.57 ± 0.11 ^d	5.01 ± 0.27 ^c	5.05 ± 0.01 ^e
24	1.95 ± 0.14 ^b	4.65 ± 0.08 ^c	7.22 ± 0.29 ^a	5.21 ± 0.03 ^d
36	1.93 ± 0.02 ^b	5.23 ± 0.06 ^b	6.95 ± 0.69 ^a	5.83 ± 0.06 ^b
48	1.85 ± 0.26 ^b	5.26 ± 0.08 ^a	5.84 ± 0.42 ^b	5.86 ± 0.04 ^b
60	1.80 ± 0.24 ^b	5.06 ± 0.14 ^{ab}	5.24 ± 0.26 ^{bc}	6.15 ± 0.03 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักรเซลล์แห้ง ปริมาณเอทานอล และค่าพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

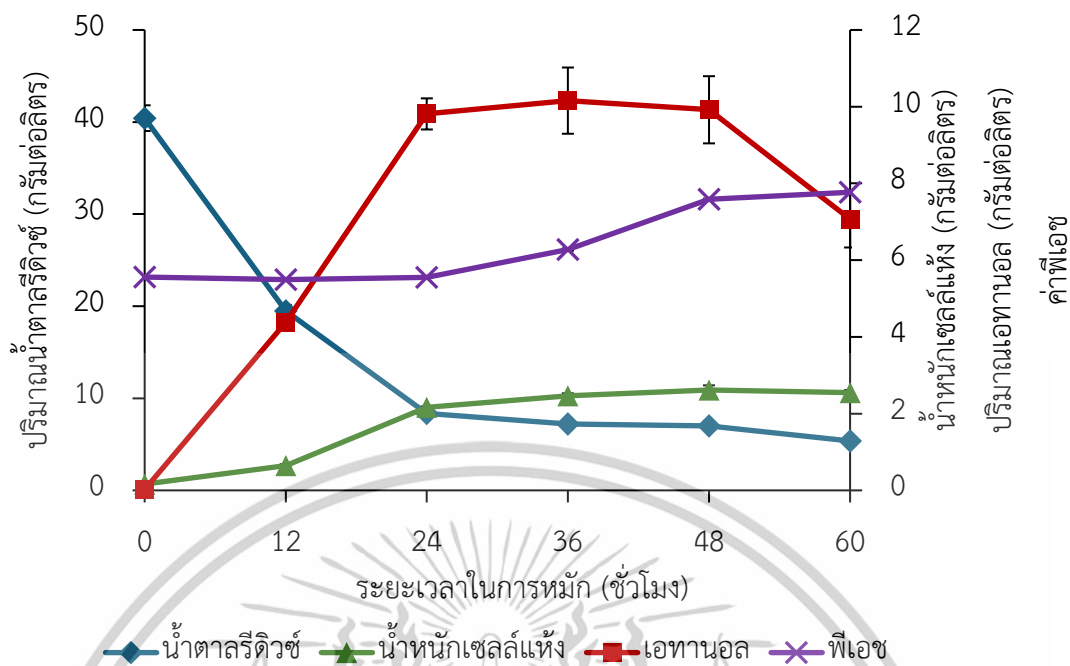
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาพบว่า กระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 40.42 ± 1.40 กรัมต่อลิตร ในระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 24 ของกระบวนการหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้า ๆ จนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก สอดคล้องกับผลของน้ำหนักเซลล์แห้งในระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 24 (0.16 ± 0.03 และ 2.17 ± 0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) พบว่าการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างทวีคูณ หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนกระทั่งในชั่วโมงที่ 60 การเจริญของเชื้อมีปริมาณลดลง ในส่วนของปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักพบว่า ในชั่วโมงที่ 36 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 10.16 ± 0.86 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชั่วโมงที่ 24 ซึ่งให้ปริมาณเอทานอลรองลงมาเท่ากับ 9.81 ± 0.4 กรัมต่อลิตร และมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.55 ± 0.01 ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช
0	40.42 ± 1.40^a	0.16 ± 0.03^e	0.02 ± 0.04^d	5.56 ± 0.01^d
12	19.50 ± 0.65^b	0.64 ± 0.04^d	4.38 ± 0.02^c	5.49 ± 0.01^e
24	8.36 ± 0.16^c	2.17 ± 0.02^c	9.81 ± 0.41^a	5.55 ± 0.01^d
36	7.22 ± 0.04^{cd}	2.47 ± 0.06^b	10.16 ± 0.86^a	6.28 ± 0.03^c
48	6.99 ± 0.06^d	2.62 ± 0.12^a	9.92 ± 0.88^a	7.58 ± 0.02^b
60	5.37 ± 0.23^e	2.55 ± 0.07^{ab}	7.07 ± 0.74^b	7.77 ± 0.01^a

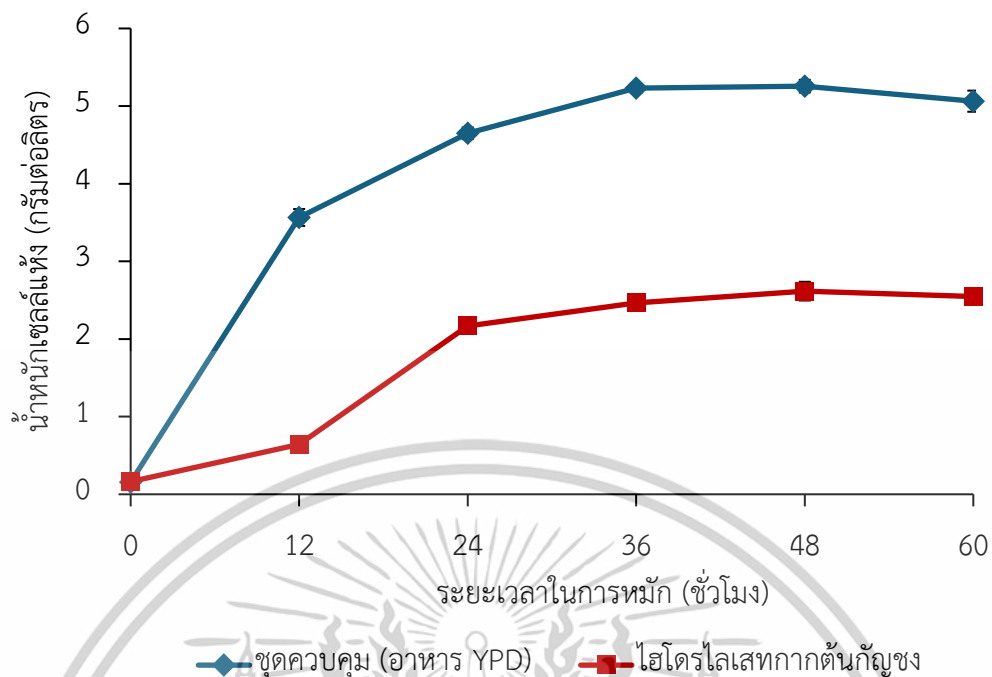
หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณเอทานอล และค่าพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสททากาคตันกัญชงที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ในแง่ของอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลในอาหารชุดควบคุม (YPD) เปรียบเทียบกับไฮโดรไลเสททากาคตันกัญชง อาหารชุดควบคุม YPD มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าการใช้ไฮโดรไลเสททากาคตันกัญชง (ดังแสดงในรูปที่ 4.4) พบว่าทั้งนี้ เนื่องจากในอาหารชุดควบคุมนอกจากจะมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบแล้ว ยังประกอบไปด้วยแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ยีสต์สกัด และเปปโตน ในขณะที่เดียวกัน ไฮโดรไลเสททากาคตันกัญชงมีเพียงน้ำตาลรีดิวซ์เป็นองค์ประกอบ และไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนอื่น ๆ ลงไป ซึ่งแหล่งไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่สำคัญในการเจริญเติบโตของยีสต์ (Martínez-Moreno และคณะ, 2012) นอกจากนี้ไนโตรเจนยังมีบทบาทสำคัญในจลนศาสตร์ของกระบวนการหมัก รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการหมัก การขาดแหล่งไนโตรเจนจะส่งผลให้กระบวนการหมักเกิดการล่าช้า (Mendes-Ferreira และคณะ, 2004)

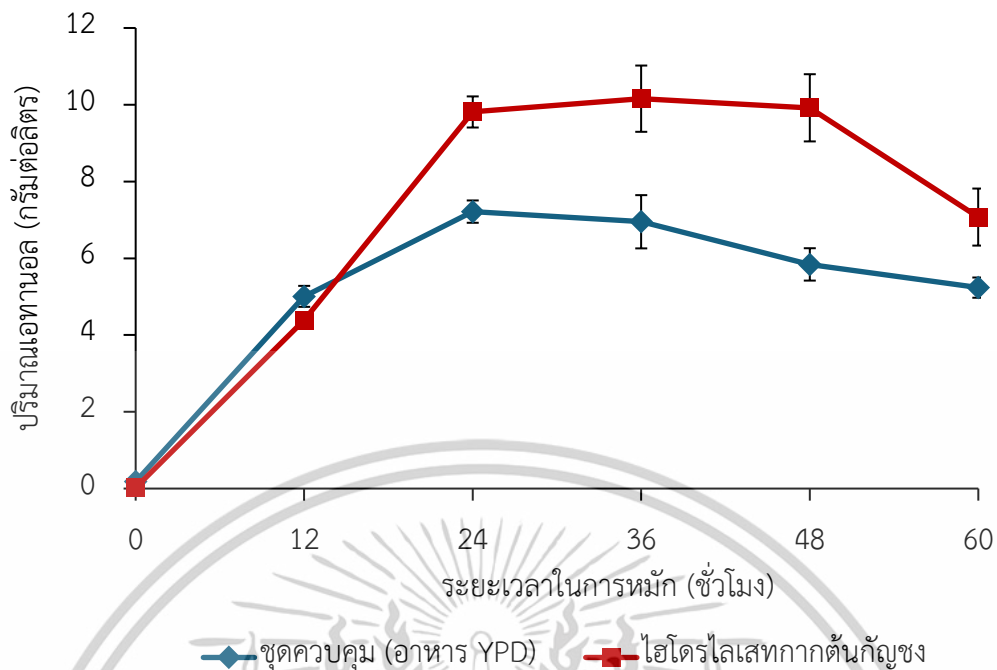
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในชุดควบคุม (อาหาร YPD) และในไฮโดรไลเสทกากต้นกัญชง เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

และในแง่ของปริมาณเอทานอลที่ได้รับระหว่างกระบวนการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม (YPD) เปรียบเทียบกับไฮโดรไลเสทกากต้นกัญชง พบว่า ในชั่วโมงที่ 12 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยอาหารชุดควบคุม (5.01 ± 0.27 กรัมต่อลิตร) สูงกว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยไฮโดรไลเสทกากต้นกัญชง (4.38 ± 0.02 กรัมต่อ ลิตร) สอดคล้องกับผลอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อข้างต้น เนื่องจากการใช้ไฮโดรไลเสทกากต้นกัญชง เพียงอย่างเดียว โดยปราศจากแหล่งไนโตรเจน ส่งผลให้เกิดความล่าช้าในกระบวนการหมัก จึงส่งผล ให้อาหารชุดควบคุมที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ มีอัตราการผลิตเอทานอลที่สูงกว่าในช่วงต้น ของกระบวนการหมัก อย่างไรก็ตาม ในช่วงกลางจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก ไฮโดรไลเสทกาก ต้นกัญชงให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าอาหารชุดควบคุม (ดังแสดงในรูปที่ 4.5) ทั้งนี้ในไฮโดรไลเสทกาก ต้นกัญชงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น เท่ากับ 40.42 ± 1.40 กรัมต่อลิตร (ประกอบไปด้วยน้ำตาล กลูโคส 17.31 ± 0.62 กรัมต่อลิตร ไซโลส 4.44 ± 0.14 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลชนิดอื่น ๆ) ซึ่งมากกว่าปริมาณน้ำตาลในอาหารชุดควบคุม Laopai boon และคณะ (2009) กล่าวว่า การเพิ่มปริมาณ ความเข้มข้นของน้ำตาลสามารถเพิ่มอัตราการหมักและค่าผลได้ของเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในชุดควบคุม (อาหาร YPD) และในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

4.7.2 ผลการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลในอาหารชุดควบคุม (YPD) เปรียบเทียบกับกระบวนการหมักเอทานอลไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปปั่นในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และค่าพีเอช ส่วนตะกอนเซลล์นำไปวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง (ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.7.1) นำมาคำนวณหาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก จากการศึกษาพบว่า ค่าผลได้ของมวลเซลล์ต่อสารตั้งต้น ($Y_{x/s}$) และประสิทธิภาพในการผลิตมวลเซลล์ (Q_x) ในอาหารชุดควบคุม YPD เท่ากับ 0.23 ± 0.01 กรัมต่อกรัม และ 0.19 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.07 ± 0.01 กรัมต่อกรัม และ 0.09 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้เป็นผลมาจากแหล่งไนโตรเจนในอาหารชุดควบคุม YPD ส่งเสริมให้การ

เจริญเติบโตของเชื้อมีประสิทธิภาพมากขึ้น
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะเดียวกัน ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น ($Y_{p/s}$) ในอาหารชุดควบคุม YPD เท่ากับ 0.36 ± 0.01 กรัมต่อกรัม มีค่าใกล้เคียงกับในไฮโดรไลเสทกากต้นถั่วซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.31 ± 0.01 กรัมต่อกรัม เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในทางกลับกัน ประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q_p) ในอาหารชุดควบคุม YPD มีค่าเท่ากับ 0.30 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าในไฮโดรไลเสทกากต้นถั่วซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.41 ± 0.02 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นถั่วเปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม (YPD)

ค่าจลนพลศาสตร์	อาหารชุดควบคุม YPD (ชั่วโมงที่ 24)	ไฮโดรไลเสทกากต้นถั่ว (ชั่วโมงที่ 24)
$Y_{x/s}$	$0.23 \pm 0.01^*$	0.07 ± 0.01
$Y_{p/s}$	0.36 ± 0.01	0.31 ± 0.01
Q_x	$0.19 \pm 0.01^*$	0.09 ± 0.01
Q_p	$0.30 \pm 0.01^*$	0.41 ± 0.02

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน สัญลักษณ์ (*) หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$Y_{x/s}$ คือ ค่าผลได้ของมวลเซลล์ต่อสารตั้งต้น (กรัมต่อกรัม)

$Y_{p/s}$ คือ ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น (กรัมต่อกรัม)

Q_x คือ ประสิทธิภาพในการผลิตมวลเซลล์ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

Q_p คือ ประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

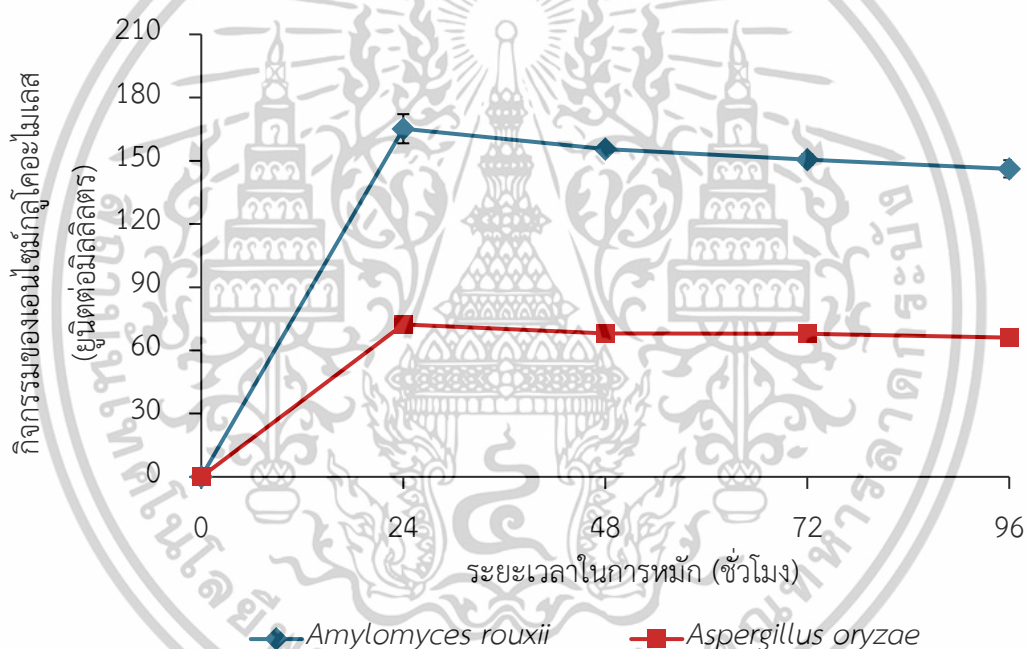
4.8 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยมันสำปะหลัง

4.8.1 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคสไมเลส

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคสไมเลส โดยเริ่มจากนำหัวเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมนลงในสารละลายมันสำปะหลัง ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปป้อนในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาที่ เมื่อนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่า ในช่วงเวลาที่ 24 *Amy. rouxii* TISTR 3182 มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสสูงที่สุด เท่ากับ 165.22 ± 6.92 ยูนิ ตต่อมิลลิลิตร ในขณะที่เดียวกัน *A. oryzae* TISTR 3086 พบกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพียง 72.34 ± 3.50 ยูนิ ตต่อมิลลิลิตร (ดังแสดงในรูปที่ 4.6) และเมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์ค่าทาง สถิติพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 อย่างไรก็ตาม ใน การศึกษาก่อนหน้านี้ชี้ให้เห็นว่ามีการตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในเชื้อรา *Amy. rouxii* สายพันธุ์ PB03, SR02 และ UD02 รวมถึง *A. oryzae* สายพันธุ์ UD01 ซึ่งค่ากิจกรรมเอนไซม์ กลูโคอะไมเลสของเชื้อราดังกล่าวตรวจพบอยู่ในช่วง 149.20 ถึง 152.60 ยูนิ ตต่อมิลลิลิตร (Roongrojmongkhon และคณะ, 2020) ทั้งนี้ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสขึ้นอยู่กับหลาย ปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นชนิดของสารตั้งต้น สภาวะที่ใช้ในการบ่ม และสายพันธุ์ของเชื้อรา



รูปที่ 4.6 กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ได้ภายหลังจากการหมักสารละลายมันสำปะหลัง ร่วมกับเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ในระยะเวลาต่าง ๆ

4.8.2 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

4.8.2.1 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยสารละลายมันสำปะหลัง โดยเริ่มจากการเติมหัวเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 หรือ *A. oryzae* TISTR 3086 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ลงในสารละลายมันสำปะหลังที่เตรียมไว้ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ทำการบ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (เก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง) เมื่อครบเวลา นำตัวอย่างมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เอนไซม์ในตัวอย่างไม่ได้จากหัวเชื้อข้างต้นเสื่อมสภาพ จากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มต่อในสภาวะเดียวกันกับข้างต้น เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล จากการศึกษาพบว่า ในระหว่างชั่วโมง 0 ถึงชั่วโมงที่ 24 ของกระบวนการหมักด้วยเชื้อราในสารละลายมันสำปะหลัง มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น เป็นผลมาจากกระบวนการย่อยแบ่งด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากเชื้อราข้างต้นที่ใช้ในกระบวนการหมัก โดย *Amy. rouxii* TISTR 3182 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 45.42 ± 0.09 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เดียวกัน การใช้เชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *A. oryzae* TISTR 3086 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รองลงมา (42.92 ± 0.22 กรัมต่อลิตร) และการใช้ *A. oryzae* TISTR 3086 เพียงตัวเดียว ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุด (40.79 ± 0.07 กรัมต่อลิตร) สอดคล้องกับผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.8.1 เชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสสูงกว่า ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักสูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.7

ในแง่ของปริมาณเอทานอล การเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ลงในสารละลายมันสำปะหลังที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อราทั้ง 2 ชนิดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วบ่มต่อจนครบเวลา 120 ชั่วโมง พบว่า ในชั่วโมงที่ 96 ของกระบวนการหมัก การใช้ *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด เท่ากับ 25.33 ± 0.11 กรัมต่อลิตร ขณะเดียวกัน การใช้ *A. oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลรองลงมา เท่ากับ 22.15 ± 0.01 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้การใช้เชื้อราพร้อมกันทั้ง 2 ชนิดในกระบวนการหมัก ได้แก่ *Amy. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลต่ำที่สุด เท่ากับ 22.00 ± 0.37 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.7

ตารางที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

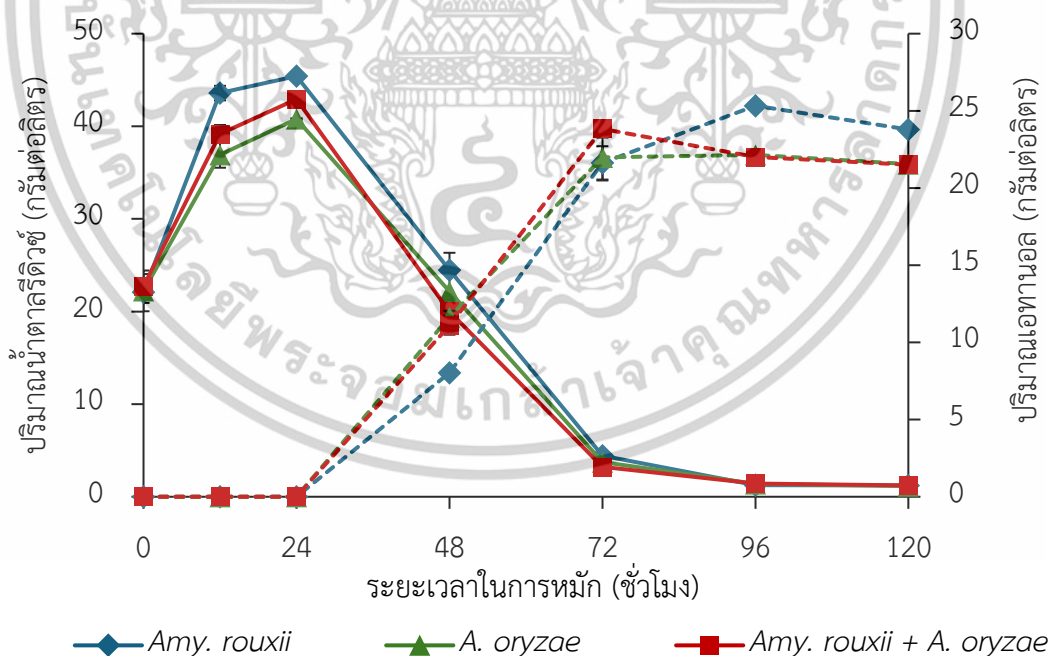
ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		
	<i>Amy. rouxii</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>Amy. rouxii</i> และ <i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>
0	22.10 ± 1.17^a	22.23 ± 2.20^a	22.73 ± 1.32^a
12	43.58 ± 0.79^a	36.94 ± 1.41^c	39.17 ± 0.97^b
24	45.42 ± 0.09^a	40.79 ± 0.07^c	42.92 ± 0.22^b
48	24.49 ± 0.23^a	22.17 ± 4.18^a	19.98 ± 1.80^a
72	4.42 ± 0.33^a	3.75 ± 0.71^{ab}	3.23 ± 0.28^b
96	1.26 ± 0.02^b	1.40 ± 0.10^{ab}	1.44 ± 0.09^a
120	1.22 ± 0.03^a	1.16 ± 0.13^a	1.12 ± 0.07^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายไขมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)		
	<i>Amy. rouxii</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>Amy. rouxii</i> และ <i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
24	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
48	8.03 ± 0.23 ^b	11.64 ± 0.40 ^a	11.10 ± 0.61 ^a
72	21.63 ± 1.08 ^a	21.98 ± 1.49 ^a	23.83 ± 0.56 ^a
96	25.33 ± 0.11 ^a	22.15 ± 0.01 ^b	22.00 ± 0.37 ^b
120	23.80 ± 0.20 ^a	21.56 ± 0.30 ^b	21.52 ± 0.17 ^b

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

4.8.2.2 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยสารละลายมันสำปะหลัง โดยเริ่มจากการเติมหัวเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 หรือ *A. oryzae* TISTR 3086 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ลงในสารละลายมันสำปะหลังที่เตรียมไว้ปริมาตร 150 มิลลิลิตร จากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ทำการบ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใส่นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล จากการศึกษาพบว่า ในระหว่างชั่วโมงที่ 12 ของกระบวนการหมักมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในชั่วโมงที่ 0 เป็นผลมาจากกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลของเชื้อราเกิดขึ้นรวดเร็วกว่ากระบวนการหมักเอทานอลของเชื้อยีสต์ อย่างไรก็ตาม เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก เป็นผลมาจากกระบวนการหมักเอทานอลของยีสต์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในตารางที่ 4.15 และรูปที่ 4.8

ในแง่ของปริมาณเอทานอล การเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ลงในสารละลายมันสำปะหลังพร้อมกับเชื้อราทั้ง 2 ชนิด พบว่า ในชั่วโมงที่ 48 ของกระบวนการหมัก การใช้ *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด เท่ากับ 25.73 ± 0.14 กรัมต่อลิตร ขณะเดียวกัน การใช้เชื้อราพร้อมกันทั้ง 2 ชนิดในกระบวนการหมัก ได้แก่ *Amy. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลรองลงมา เท่ากับ 25.27 ± 0.34 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้การใช้เพียง *A. oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลต่ำที่สุด เท่ากับ 25.27 ± 0.34 ดังแสดงในตารางที่ 4.16 และรูปที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ระยะเวลาใน การหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		
	<i>Amy. rouxii</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>Amy. rouxii</i> และ <i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>
0	21.52 ± 0.26 ^b	22.04 ± 0.07 ^a	21.66 ± 0.11 ^b
12	22.72 ± 0.24 ^b	23.24 ± 0.08 ^a	22.86 ± 0.13 ^b
24	9.97 ± 0.40 ^a	9.18 ± 0.05 ^a	8.23 ± 0.62 ^b
48	3.08 ± 0.07 ^b	3.33 ± 0.11 ^a	2.13 ± 0.04 ^c
72	1.75 ± 0.14 ^a	1.85 ± 0.05 ^a	1.74 ± 0.05 ^a
96	1.37 ± 0.05 ^a	1.48 ± 0.15 ^a	1.43 ± 0.03 ^a
120	1.22 ± 0.05 ^b	1.21 ± 0.04 ^b	1.32 ± 0.04 ^a

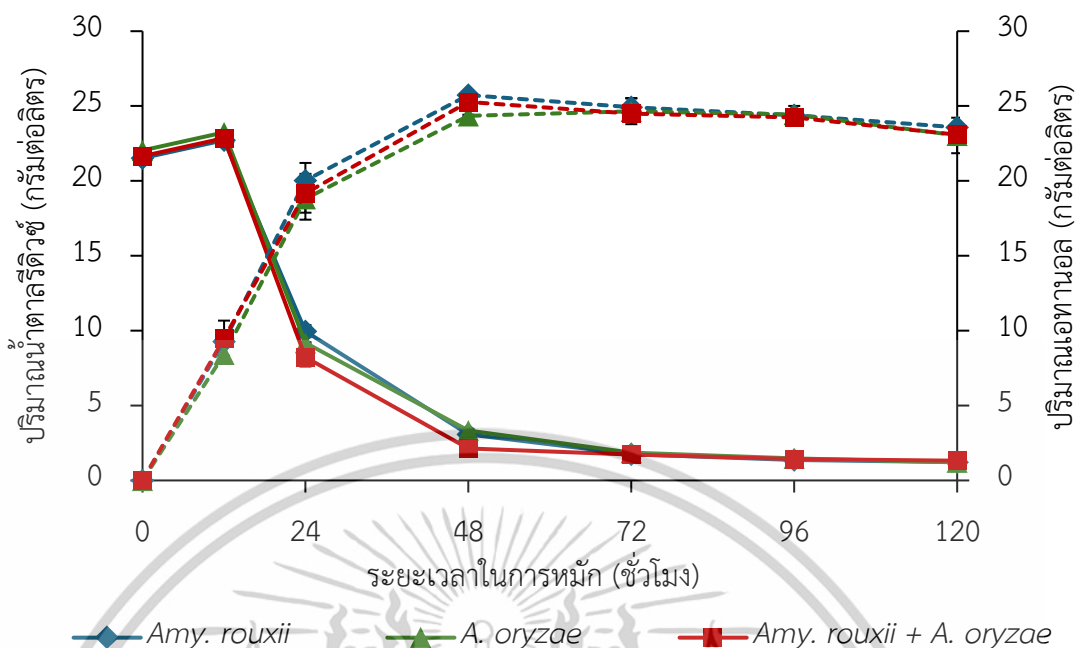
หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ระยะเวลาใน การหมัก (ชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)		
	<i>Amy. rouxii</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>Amy. rouxii</i> และ <i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	9.29 ± 0.34 ^a	8.43 ± 0.61 ^a	9.50 ± 1.17 ^a
24	20.04 ± 1.16 ^a	18.81 ± 1.40 ^a	19.18 ± 1.30 ^a
48	25.73 ± 0.14 ^a	24.35 ± 0.07 ^c	25.27 ± 0.34 ^b
72	24.92 ± 0.61 ^a	24.65 ± 0.86 ^a	24.49 ± 0.49 ^a
96	24.39 ± 0.16 ^a	24.44 ± 0.57 ^a	24.24 ± 0.52 ^a
120	23.59 ± 0.19 ^a	23.04 ± 1.19 ^a	23.08 ± 0.43 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

4.8.2.3 ผลการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาล ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยวิธี SHF เปรียบเทียบกับวิธี SSF (ในหัวข้อที่ 4.8.2.1 และ 4.8.2.2) จากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก พบว่าการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น ($Y_{p/s}$) และประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q_p) สูงที่สุด ทั้งในการหมักด้วยวิธี SHF (0.57 ± 0.01 กรัมต่อกรัม และ 0.26 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ) และวิธี SSF (1.40 ± 0.02 กรัมต่อกรัม และ 0.54 ± 0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 4.15 และเมื่อเปรียบเทียบค่าจลนพลศาสตร์ข้างต้นของทั้ง 2 วิธี พบว่าการหมักเอทานอลด้วยวิธี SSF มีประสิทธิภาพสูงกว่าทั้งในแง่ของค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น และประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ขั้นตอนและระยะเวลาในการหมักด้วยวิธี SSF ไม่ซับซ้อนและใช้เวลาสั้นกว่า จึงถือเป็นการประหยัดทั้งทรัพยากรและเวลา ดังนั้น จึงเลือกเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รา *Amy. rouxii* TISTR 3182 มาใช้ในกระบวนการหมักเอทานอลร่วมกับเชื้อยีสต์ ด้วยวิธี SSF ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.17 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายมันสำปะหลัง ด้วยวิธี SHF และ SSF

ชั่วโมงที่ 96 ของกระบวนการหมักด้วยวิธี SHF			
ค่าจลนพลศาสตร์	<i>Amy. rouxii</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>Amy. rouxii</i> และ <i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>
$Y_{p/s}$	0.57 ± 0.01^a	0.56 ± 0.01^a	0.53 ± 0.01^b
Q_p	0.26 ± 0.01^a	0.24 ± 0.01^b	0.23 ± 0.01^b
ชั่วโมงที่ 48 ของกระบวนการหมักด้วยวิธี SSF			
ค่าจลนพลศาสตร์	<i>Amy. rouxii</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>	<i>Amy. rouxii</i> และ <i>A. oryzae</i> ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i>
$Y_{p/s}$	1.40 ± 0.02^a	1.30 ± 0.02^b	1.29 ± 0.01^b
Q_p	0.54 ± 0.01^a	0.51 ± 0.02^b	0.52 ± 0.01^{ab}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน สัญลักษณ์ (*) หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

$Y_{p/s}$ คือ ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น (กรัมต่อกรัม)

Q_p คือ ประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

4.8.3 ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในกระบวนการหมัก

4.8.2.4 ผลการศึกษาความเข้มข้นของมันสำปะหลังที่ใช้ในกระบวนการหมัก

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยสารละลายมันสำปะหลัง โดยเริ่มจากการเติมหัวเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ลงในสารละลายมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 และ 10 โดยปริมาตร จากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ทำการบ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล จากการศึกษาพบว่า ในชั่วโมงที่ 0 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นของสารละลายมันเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับค่าแตกต่างกัน ซึ่งแปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันสำหรับ โดยที่ความเข้มข้นของน้ำมันสำหรับร้อยละ 10 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด (28.25 ± 0.22 กรัมต่อลิตร) จากนั้นในระหว่างชั่วโมงที่ 12 ของกระบวนการหมักมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น เป็นผลมาจากกระบวนการย่อยแปงเป็นน้ำตาลของเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 เกิดขึ้นรวดเร็วกว่ากระบวนการหมักเอทานอลของเชื้อยีสต์ อย่างไรก็ตาม เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก เป็นผลมาจากกระบวนการหมักเอทานอลของยีสต์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในตารางที่ 4.17 และรูปที่ 4.9

ในแง่ของปริมาณเอทานอล การเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ลงในสารละลายน้ำมันสำหรับพร้อมกับเชื้อราทั้ง 2 ชนิด พบว่า ในชั่วโมงที่ 48 ของกระบวนการหมัก การใช้มันสำหรับที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด เท่ากับ 27.06 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ขณะเดียวกัน การใช้มันสำหรับที่ความเข้มข้นรองลงมาส่งผลให้ปริมาณเอทานอลที่ได้ลดลง (ดังแสดงในตารางที่ 4.18 และรูปที่ 4.9) โดยปริมาณเอทานอลที่ได้แปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันสำหรับ สอดคล้องกับผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ข้างต้น

ตารางที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายน้ำมันสำหรับที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	มันสำหรับ ร้อยละ 4	มันสำหรับ ร้อยละ 6	มันสำหรับ ร้อยละ 8	มันสำหรับ ร้อยละ 10
0	18.65 ± 0.38^d	20.34 ± 0.18^c	24.36 ± 0.18^b	28.25 ± 0.22^a
12	19.25 ± 0.11^d	21.02 ± 0.32^c	25.39 ± 0.07^b	29.32 ± 0.15^a
24	10.66 ± 0.20^c	10.05 ± 0.06^c	12.38 ± 0.04^b	13.76 ± 0.02^a
48	3.13 ± 0.03^d	3.28 ± 0.08^c	4.45 ± 0.03^b	4.65 ± 0.02^a
72	1.76 ± 0.02^d	1.85 ± 0.01^c	1.92 ± 0.02^b	2.03 ± 0.02^a
96	0.88 ± 0.01^c	0.97 ± 0.01^b	0.98 ± 0.02^b	1.12 ± 0.01^a
120	0.75 ± 0.03^c	0.82 ± 0.05^b	0.86 ± 0.01^b	1.02 ± 0.02^a

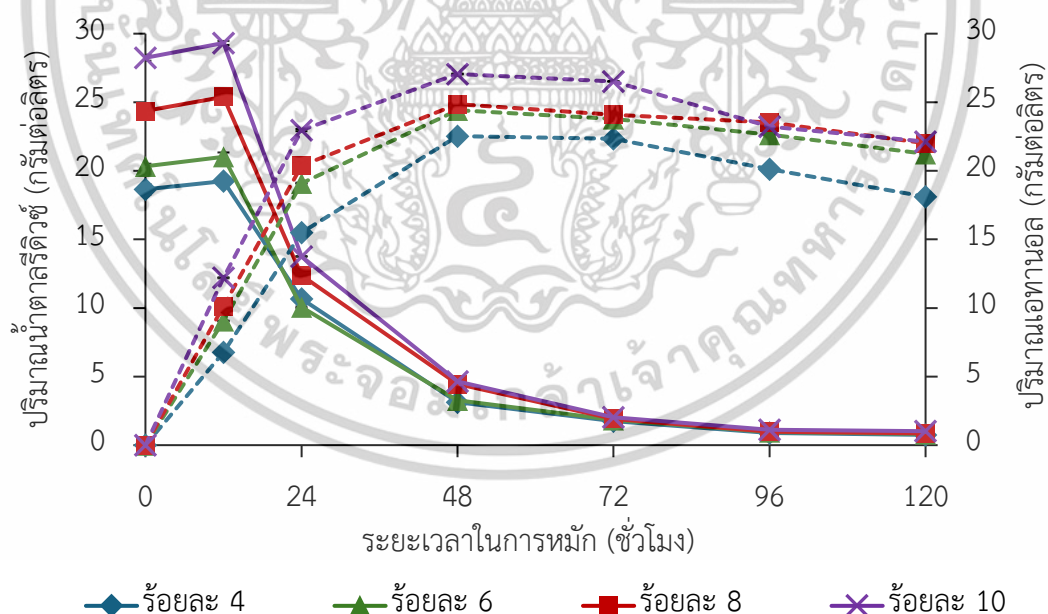
หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายไขมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
	มันสำปะหลัง ร้อยละ 4	มันสำปะหลัง ร้อยละ 6	มันสำปะหลัง ร้อยละ 8	มันสำปะหลัง ร้อยละ 10
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	6.77 ± 0.05 ^d	9.05 ± 0.03 ^c	10.12 ± 0.03 ^b	12.20 ± 0.04 ^a
24	15.50 ± 0.1 ^d	19.10 ± 0.04 ^c	20.37 ± 0.04 ^b	22.97 ± 0.08 ^a
48	22.53 ± 0.11 ^c	24.42 ± 0.04 ^b	24.86 ± 0.04 ^b	27.06 ± 0.03 ^a
72	22.34 ± 0.04 ^d	23.78 ± 0.04 ^c	24.09 ± 0.04 ^b	26.52 ± 0.03 ^a
96	20.12 ± 0.03 ^d	22.63 ± 0.06 ^c	23.52 ± 0.04 ^a	23.22 ± 0.03 ^b
120	18.12 ± 0.04 ^c	21.24 ± 0.05 ^b	22.02 ± 0.03 ^a	22.13 ± 0.04 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายไขมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120

ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8.2.5 ผลการศึกษาค่าพีเอชที่ใช้ในกระบวนการหมัก

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยสารละลายมันสำปะหลัง โดยเริ่มจากการเติมหัวเชื้อ *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ลงในสารละลายมันสำปะหลังที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ได้แก่ พีเอช 4.0 5.0 และ 6.0 ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร จากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ทำการบ่มในสภาวะเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล จากการศึกษาพบว่า ในระหว่างชั่วโมงที่ 12 ของกระบวนการหมักมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในชั่วโมงที่ 0 เป็นผลมาจากกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลของเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 เกิดขึ้นรวดเร็วกว่ากระบวนการหมักเอทานอลของเชื้อยีสต์ อย่างไรก็ตาม เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก เป็นผลมาจากกระบวนการหมักเอทานอลของยีสต์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในตารางที่ 4.19 และรูปที่ 4.10

ในแง่ของปริมาณเอทานอล การเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ลงในสารละลายมันสำปะหลังพร้อมกับเชื้อราทั้ง 2 ชนิด พบว่า ในชั่วโมงที่ 48 ของกระบวนการหมัก การใช้สารละลายมันสำปะหลังที่ปรับค่าพีเอช เท่ากับ 6.0 ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด เท่ากับ 29.36 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ขณะเดียวกัน การใช้สารละลายมันสำปะหลังที่พีเอช 5.0 และ 4.0 ให้ปริมาณเอทานอลรองลงมา เท่ากับ 25.70 ± 0.05 และ 24.78 ± 0.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.20 และรูปที่ 4.10 สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า Duhan และคณะ (2013) รายงานว่า การหมักเอทานอลด้วย *S. cerevisiae* MTCC-170 ที่ค่าพีเอช เท่ากับ 6.0 ส่งผลให้มีค่าผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด ทั้งนี้ เป็นผลมาจากเชื้อยีสต์เจริญเติบโตได้ดีลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะที่ค่าพีเอชเป็นกรด ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอลลดลง (Sovorawet และ Kongkiattikajorn, 2012)

ตารางที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายไขมันสำหรับผลิตเอทานอลต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		
	พีเอช 4	พีเอช 5	พีเอช 6
0	27.20 ± 0.11 ^b	28.05 ± 0.25 ^a	27.01 ± 0.40 ^b
12	28.25 ± 0.13 ^b	28.28 ± 0.15 ^b	29.13 ± 0.17 ^a
24	16.73 ± 0.10 ^a	14.06 ± 0.09 ^b	13.85 ± 0.0 ^c
48	5.65 ± 0.05 ^a	4.86 ± 0.07 ^b	4.53 ± 0.03 ^c
72	4.00 ± 0.02 ^b	2.09 ± 0.01 ^a	1.96 ± 0.02 ^c
96	1.96 ± 0.04 ^a	0.96 ± 0.01 ^b	0.94 ± 0.01 ^b
120	1.05 ± 0.02 ^a	0.85 ± 0.01 ^c	0.93 ± 0.02 ^b

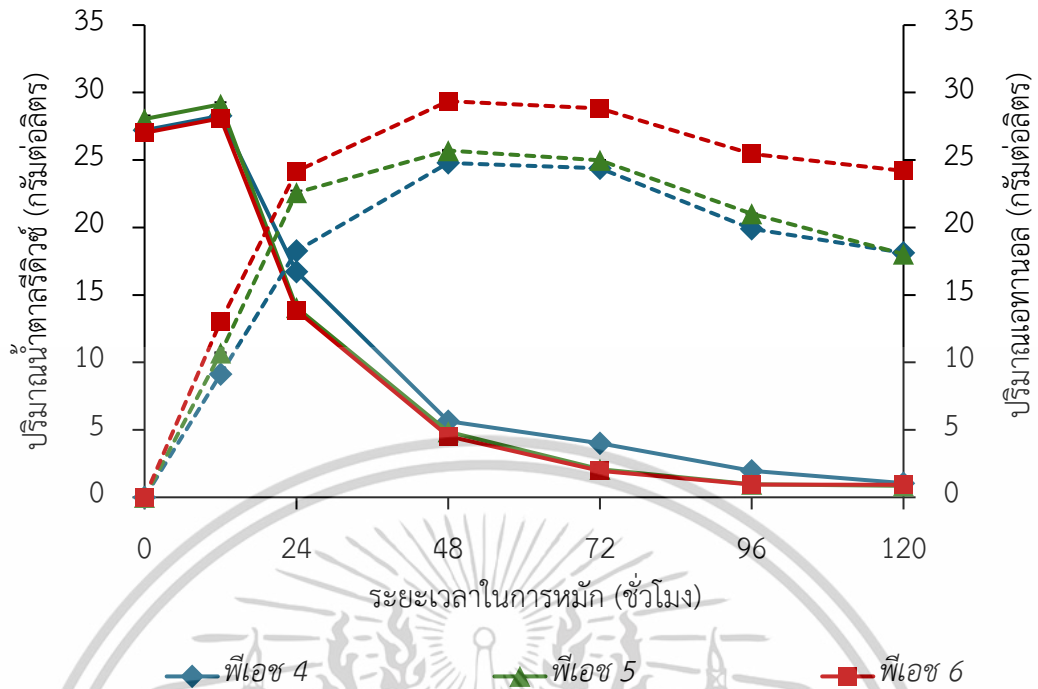
หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายไขมันสำหรับผลิตเอทานอลต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)		
	พีเอช 4	พีเอช 5	พีเอช 6
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	9.14 ± 0.02 ^c	10.70 ± 0.05 ^b	13.05 ± 0.05 ^a
24	18.27 ± 0.04 ^c	22.59 ± 0.14 ^b	24.17 ± 0.04 ^a
48	24.78 ± 0.06 ^c	25.70 ± 0.05 ^b	29.36 ± 0.03 ^a
72	24.38 ± 0.03 ^b	24.97 ± 0.02 ^b	28.82 ± 0.05 ^a
96	19.91 ± 0.08 ^c	21.01 ± 0.03 ^b	25.46 ± 0.06 ^a
120	18.12 ± 0.02 ^b	18.03 ± 0.01 ^b	24.20 ± 0.01 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (เส้นทึบ) และปริมาณเอทานอล (เส้นประ) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสารละลายไขมันสำปะหลังที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ด้วยวิธี SSF เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการปรับสภาพกากต้นกัญชงด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางร่วมกับคลีนไมโครเวฟ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด โดยเริ่มจากการศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยวัตถุดิบกากต้นกัญชง พบว่าเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยกากต้นกัญชงซึ่งส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ได้แก่ เอนไซม์ Viscosity Reduction Enzyme (VRE) จากนั้นทำการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายกรดและด่างเจือจาง กำลังวัตต์ของคลีนไมโครเวฟ และระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ พบว่า การใช้สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ กำลังวัตต์ 450 วัตต์ และระยะเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ข้างต้น ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 40.07 ± 0.04 กรัมต่อลิตร

และจากการศึกษาโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสและลักษณะทางกายภาพของกากต้นกัญชงทั้งก่อนและหลังการปรับสภาพ พบว่า ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ของกากต้นกัญชงก่อนและหลังการปรับสภาพมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณลิกนินที่ลดลงเป็นผลดีต่อกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ สอดคล้องกับผลลักษณะทางกายภาพของกากต้นกัญชง พบว่า ภายหลังจากขั้นตอนการปรับสภาพ พื้นผิวของกากต้นกัญชงมีลักษณะเป็นรูพรุน เส้นใยแตกกระจายไม่เป็นระเบียบ เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้กับเอนไซม์ และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายโครงสร้างของเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ดียิ่งขึ้น

ไฮโดรไลสเสทกากต้นกัญชงที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพร่วมกับคลีนไมโครเวฟในสภาวะที่เหมาะสม และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ถูกนำมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว พบว่ามีปริมาณน้ำตาลกลูโคสและไซโลส เท่ากับ 17.31 ± 0.62 และ 4.44 ± 0.14 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้การปรับสภาพกากต้นกัญชงในสภาวะข้างต้น ไม่ส่งผลให้เกิดสารเฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

จากการนำไฮโดรไลสเสทกากต้นกัญชงมาศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับอาหาร Yeast extract-Peptone-Dextrose (YPD) ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม พบว่า ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ได้ภายหลังจากการหมักด้วยไฮโดรไลสเสทกากต้นกัญชง และในอาหารชุดควบคุม YPD มีค่าเท่ากับ 9.81 ± 0.41 และ 7.22 ± 0.29 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาในแง่ของค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักเอทานอลด้วยไฮโดรไลเสทจากต้นกล้วยงเปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD มีค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น ($Y_{p/s}$) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เริ่มจากการศึกษากิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสของเชื้อรา พบว่า *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เท่ากับ 165.22 ± 6.92 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่า *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 (72.34 ± 3.50 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) จากนั้นทำการศึกษาการหมักเอทานอลด้วยเชื้อราข้างต้นร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยวิธี SHF และ SSF เพื่อคัดเลือกชนิดของเชื้อราและวิธีการหมักที่ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงสุด จากการศึกษพบว่า การใช้เชื้อรา *Amy. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยวิธีการหมักแบบ SSF ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 25.73 ± 0.14 กรัมต่อลิตร รวมถึงมีค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น ($Y_{p/s}$) และประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q_p) สูงที่สุด เมื่อทราบถึงชนิดเชื้อราและกระบวนการหมักที่ส่งผลให้การผลิตเอทานอลมีประสิทธิภาพสูงสุดแล้ว จากนั้นศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมัก พบว่า การใช้มันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ค่าพีเอชเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.0 ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 29.36 ± 0.03 กรัมต่อลิตร

เอกสารอ้างอิง

- เฉลิมเกียรติ สอนเสียม, อมราภรณ์ แก้วชะภา และอรรรคศักดิ์ จารีย์. 2560. "การสังเคราะห์ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พูลจากน้ำตาลฟรุกโตสโดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนไอออนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ." *การประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติมหาวิทยาลัยศรีปทุม*. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีปทุม.
- ชัยวัฒน์. 2564. *กัญชง พืชเศรษฐกิจใหม่ โอกาสและความท้าทาย*. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.krungsri.com/th/research/research-intelligence/hemp-2021>.
- ดุขฎิ กิตติวัฒน์. 2550. "การทำให้บริสุทธิ์และการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของโพลีโคซานอลจากไซรัข้าว" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ปัญญา วัฒนะปภาวงศ์. 2556. "การเปลี่ยนไซโลสเป็นเอทิลีนไกลคอลบนตัวเร่งปฏิกิริยาฐานนิกเกิล." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปมทอง มาลากุล ณ อยุธยา. 2554. *สารานุกรมเปิดโลกปิโตรเคมี*. กรุงเทพฯ : มีเดีย เอกซ์เพอร์ทีส อินเทอร์เน็ตเนชั่นแนล. 450 หน้า
- ประเสริฐ อัครมงคลพร. 2552. *เรซินแลกเปลี่ยนไอออนทางเภสัชกรรมเพื่อนำส่งยานครปฐม* : มหาวิทยาลัยศิลปากร. 208 หน้า
- วิชิต. 2559. *เตาอบไมโครเวฟ*. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://thep-center.org/src2/views/daily-life.php?article_id=16.
- วรวิฑู จุฬาลักษณ์านุกุล. 2558. *เชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งชีวภาพ*. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 124 หน้า.
- ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล. 2553. "ไบโอซังคินิก: ทางเลือกใหม่สำหรับเคมีภัณฑ์สีเขียว." *วารสารเทคโนโลยีวัสดุ*. 61: 54-58.
- สุขใจ ชูใจ. 2554. *การผลิตกรดอินทรีย์จากวัสดุเหลือใช้มวลชีวภาพ*. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 298 หน้า.
- สุภาวดี ผลประเสริฐ. 2557. "การปรับสภาพวัตถุดิบพวกกลีโคเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล." *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 22(5): 641-649.
- สมพร เพลินใจ. 2561. *เคมีอินทรีย์*. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม. 371 หน้า
- อภิสิทธิ์. 2562. *รังสีจากเตาไมโครเวฟ*. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.nst.or.th/article/article494/article49401.html>.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกรนำไปใช้

อลิศรา เรื่องแสง. 2562. **เชื้อเพลิงชีวภาพและชีวเคมีภัณฑ์โดยจุลินทรีย์**. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 568 หน้า.

Duhan, J. S. Kumar, A. and Tanwar, S. K. 2013. "Bioethanol production from starchy part of tuberous plant (potato) using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170." *African Journal of Microbiology Research*. 7(46): 5253-5260.

Hallac, B. B. and Ragauskas, A. J. 2011. "Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol." *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 5(2): 215-225.

Hou, J. Ding, C. Qiu, Z. Zhang, Q. and Xiang, W. N. 2017. "Inhibition efficiency evaluation of lignocellulose-derived compounds for bioethanol production." *Journal of Cleaner Production*. 165: 1107-1114.

Ishizaki, H. and Hasumi, K. 2014. "Ethanol production from biomass." *Research approaches to sustainable biomass systems*. : 243-258.

Kumar, B. Bhardwaj, N. Agrawal, K. Chaturvedi, V. and Verma, P. 2020. "Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: An emerging biorefinery concept." *Fuel processing technology*. 199: 106244.

Kuster, B. F. M. 1990. "5-Hydroxymethylfurfural (HMF). A review focussing on its manufacture." *Starch-Stärke*. 42(8): 314-321.

Laopaiboon, L. Nuanpeng, S. Srinophakun, P. Klanrit, P. and Laopaiboon, P. 2009. "Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: effects of carbon and nitrogen supplementations." *Bioresource technology*. 100(18): 4176-4182.

Martínez-Moreno, R. Morales, P. Gonzalez, R. Mas, A. and Beltran. G. 2012. "Biomass production and alcoholic fermentation performance of *Saccharomyces cerevisiae* as a function of nitrogen source." *FEMS yeast research*. 12(4): 477-485.

Mendes-Ferreira, A. Mendes-Faia, A. and Leão, A. 2004. "Growth and fermentation patterns of *Saccharomyces cerevisiae* under different ammonium concentrations and its implications in winemaking industry." *Journal of Applied Microbiology*. 97(3): 540-545.

Mikulski, D. Kłosowski, G. Menka, A. and Koim-Puchowska, B. 2019. "Microwave-assisted pretreatment of maize distillery stillage with the use of dilute sulfuric acid in the production of cellulosic ethanol." *Bioresource technology*. 278: 318-328.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Mikulski, D. and Kłosowski, G. 2020. "Microwave-assisted dilute acid pretreatment in bioethanol production from wheat and rye stillages." *Biomass and bioenergy*. 136: 105528.
- Miller, G. L. 1959. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar." *Analytical chemistry*. 31(3): 426-428.
- Mota, T. R. Oliveira, D. M. d. Marchiosi, R. Ferrarese-Filho, O. and Santos, W. D. d. 2018. "Plant cell wall composition and enzymatic deconstruction." *AIMS Bioengineering*. 5(1).
- Özbek, H. N. Fockink, D. H. Yanik, D. K. Göğüş, F. and Łukasik, R. M. 2018. "The green biorefinery concept for the valorisation of pistachio shell by high-pressure CO₂/H₂O system." *Journal of Cleaner Production*. 196: 842-851.
- Podgorbunskikh, E. M. Bychkov, A. L. and Lomovsky, O. I. 2019. "Determination of surface accessibility of the cellulose substrate according to enzyme sorption." *Polymers*. 11(7): 1201.
- Ríos-González, L. J. Medina-Morales, M. A. Rodríguez-De la Garza, J. A. Romero-Galarza, A. Medina, D. D. and Morales-Martínez, T. K. 2021. "Comparison of dilute acid pretreatment of agave assisted by microwave versus ultrasound to enhance enzymatic hydrolysis." *Bioresource technology*. 319: 124099.
- Roongrojmongkhon, N. Rungjindamai, N. Vatanavicharn, T. and Ochaikul, D. 2020. "Isolation and Identification of Fungi with Glucoamylase Activity from Loog-pang-khao-mak (A Thai Traditional Fermentation Starter)." *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 14(1).
- Sharma, S. Arumugam, S. M. Kumar, S. Mahala, S. Devi, B. and Elumalai, S. 2022. "Updated technologies for sugar fermentation to bioethanol." *Biomass, Biofuels, Biochemicals*. 95-116.
- Solarte-Toro, J. C. Romero-García, J. M. Martínez-Patiño, J. C. Ruiz-Ramos, E. Castro-Galiano, E. and Cardona-Alzate, C. A. 2019. "Acid pretreatment of lignocellulosic biomass for energy vectors production: a review focused on operational conditions and techno-economic assessment for bioethanol production." *Renewable and sustainable energy reviews*. 107: 587-601.
- Sovorawet, B. and Kongkiattikajorn, J. 2012. "Bioproduction of ethanol in SHF and SSF from cassava stalks." *KKU Research Journal*. 17(4): 565-572.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review." *Bioresource technology*. 83(1): 1-11.
- Toquero, C. and Bolado, S. 2014. "Effect of four pretreatments on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of wheat straw. Influence of inhibitors and washing." *Bioresource technology*. 157: 68-76.
- Van Soest, P. J. v. Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition." *Journal of dairy science*. 74(10): 3583-3597.
- Villamiel, M. Del Castillo, M. D. and Corzo, N. 2006. "Browning reactions." *Food biochemistry and food processing*. 71-100.
- Xue, T. Liu, K. Chen, D. Yuan, X. Fang, J. Yan, H. Huang, L. Chen, Y. and He, W. 2018. "Improved bioethanol production using CRISPR/Cas9 to disrupt the ADH2 gene in *Saccharomyces cerevisiae*." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 34: 1-12.
- Yadav, K. S. Naseeruddin, S. Prashanthi, G. S. Sateesh, L. and Rao, L. V. 2011. "Bioethanol fermentation of concentrated rice straw hydrolysate using co-culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*." *Bioresource technology*. 102(11): 6473-6478.
- Yildirim, O. Tunay, D. and Ozkaya, B. 2023. "Optimization of enzymatic hydrolysis conditions of chemical pretreated cotton stalk using response surface methodology for enhanced bioethanol production yield." *Biomass Conversion and Biorefinery*. 13(8): 6623-6634.
- Yogalakshmi, K. N. Sivashanmugam, P. Kavitha, S. Kannah, Y. Varjani, S. AdishKumar, S. and Kumar, G. 2022. "Lignocellulosic biomass-based pyrolysis: A comprehensive review." *Chemosphere*. 286: 131824.
- Zhao, J. Xu, Y. Wang, W. Griffin, J. and Wang, D. 2020. "Conversion of liquid hot water, acid and alkali pretreated industrial hemp biomasses to bioethanol." *Bioresource technology*. 309: 123383.
- Zoghiami, A. and Paës, G. 2019. "Lignocellulosic biomass: understanding recalcitrance and predicting hydrolysis." *Frontiers in chemistry*. 7: 874.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ข้อมูลการเตรียมสารและกราฟมาตรฐาน

1. การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (Miller 1959)

1.1 การเตรียมสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

นำโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ (โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร มาใช้ทำการละลาย 3,5-Dinitrosalicylic 10 กรัม ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic Stirrer) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 ถึง 90 องศาเซลเซียส เมื่อเข้ากันเป็นเนื้อเดียวแล้วจึงเติมสารโพแทสเซียมทาทาลงไปที่ละน้อยจนครบ 300 กรัม แล้วเติมน้ำให้ครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.2 การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

นำกลูโคสไปอบในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนครบเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้กลูโคสปราศจากความชื้น จากนั้นละลายกลูโคส 0.1 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร เมื่อละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร ได้เป็นสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร นำกลูโคสความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ไปทำการเจือจางให้ได้ 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเตรียมกลูโคสมาตรฐาน

ตัวอย่างการคำนวณสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

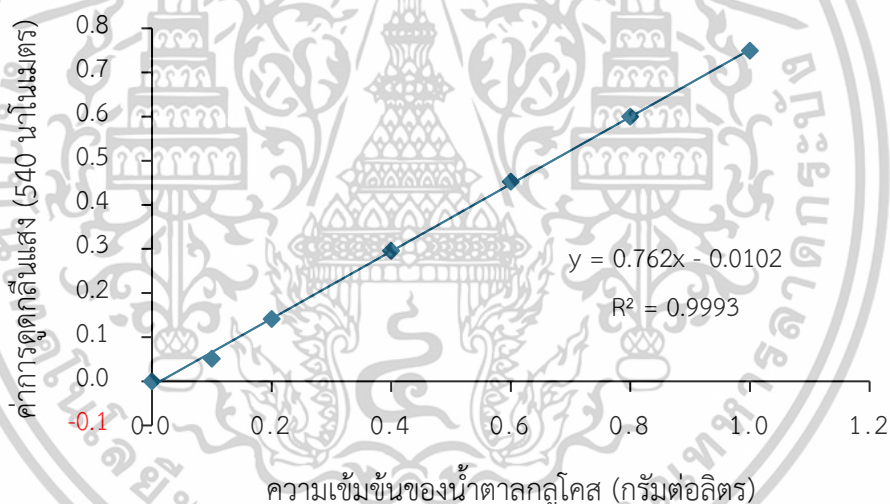
$$\begin{aligned}
 C_1V_1 &= C_2V_2 \\
 (1 \text{ g/L}) \times V_1 &= (0.2 \text{ g/L}) (5 \text{ ml}) \\
 V_1 &= 1 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

จากสมการข้างต้น สามารถเตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร ได้โดยปิเปตสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DNS

ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
0	0.0000
0.1	0.0514
0.2	0.1418
0.4	0.2963
0.6	0.4525
0.8	0.5997
1.0	0.7491



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DNS

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแมนโนส ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

2.1 การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

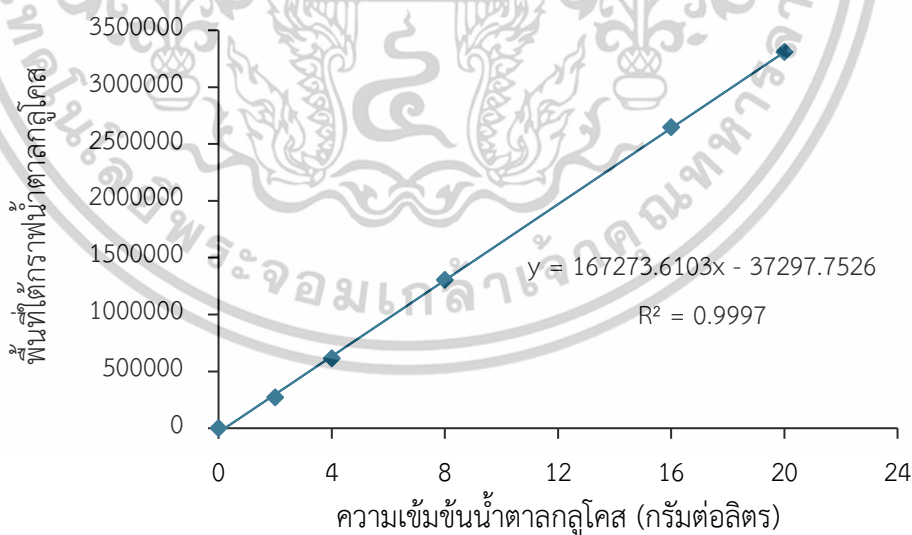
เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และแมนโนส ที่ความเข้มข้น 2 4 8 16 และ 20 กรัมต่อลิตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ BP-800 Ca (24267) ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ได้แก่สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่ออนาที ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดชนิด refractive index detector (RI Detector) ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร

นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ไฮโลส และแมนโนส แต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยกำหนดให้เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเป็นแกน x

ตารางที่ ก.2 พื้นที่ใต้กราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ไฮโลส แลแมนโนส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐาน		
	กลูโคส	ไฮโลส	แมนโนส
2	269446	246089	242244
4	613086	558826	538091
8	1302876	1215859	1163581
16	2646595	2472891	2372152
20	3307891	3093626	2959973

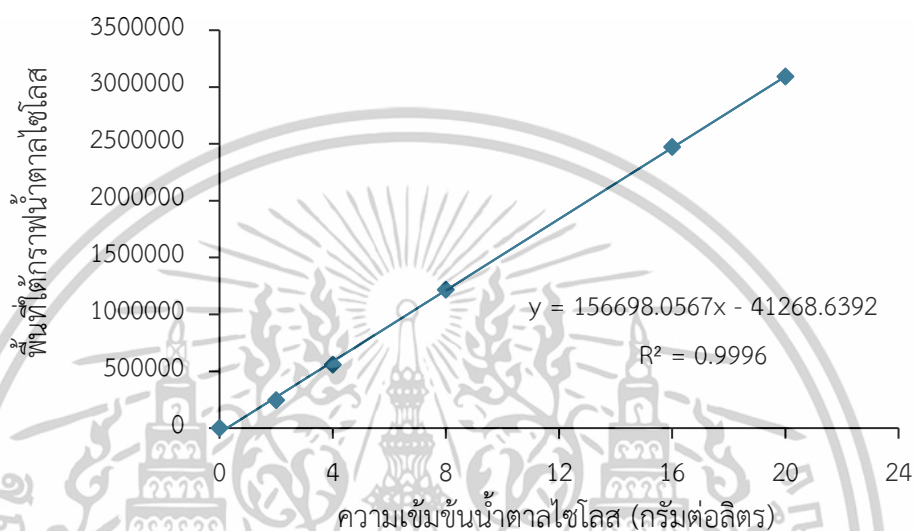


รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคสเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรการคำนวณปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่าง

$$\begin{aligned} \text{สมการ} \quad y &= 167273.61x - 37297.75 \\ \text{ให้} \quad y &= \text{พื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลกลูโคส} \\ \text{ดังนั้น ปริมาณน้ำตาลกลูโคส} &= x \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

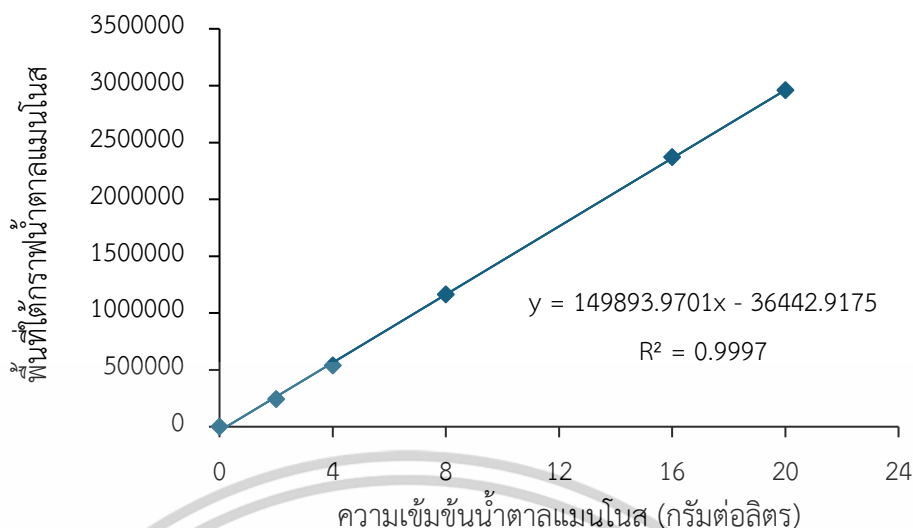


รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลไซโลสเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

สูตรการคำนวณปริมาณน้ำตาลไซโลสในตัวอย่าง

$$\begin{aligned} \text{สมการ} \quad y &= 156698.06x - 41268.64 \\ \text{ให้} \quad y &= \text{พื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลไซโลส} \\ \text{ดังนั้น ปริมาณน้ำตาลไซโลส} &= x \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลแมนโนสเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

สูตรการคำนวณปริมาณน้ำตาลแมนโนสในตัวอย่าง

$$\begin{aligned} \text{สมการ} \quad y &= 149893.97x - 36442.92 \\ \text{ให้} \quad y &= \text{พื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลแมนโนส} \\ \text{ดังนั้น ปริมาณน้ำตาลแมนโนส} &= x \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC)

เตรียมสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard) โดยใช้โพรพานอล (n-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 4 6 8 10 12 และ 14 โดยปริมาตร วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-2014 Chromatograph, Shimazu) ใช้คอลัมน์ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร อุณหภูมิของคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัวตรวจวัด (detector) ชนิด FID ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส อุณหภูมิตำแหน่งฉีดสาร (injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพาโดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa

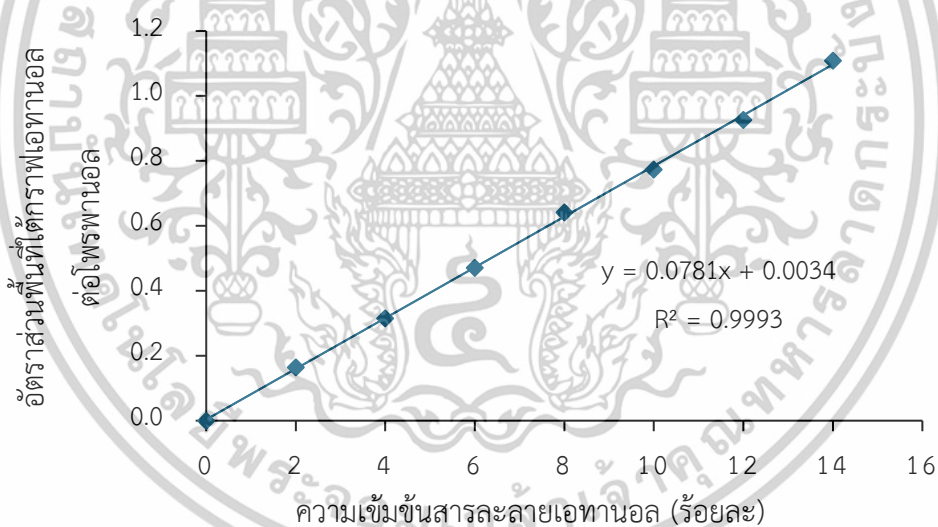
นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้น กำหนดให้เป็น

แกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเป็นแกน x

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟสารละลายเอทานอลมาตรฐานต่อสารละลายโพรพานอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล มาตรฐาน (ร้อยละ)	อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเอทานอล ต่อโพรพานอล
2	0.1641
4	0.3153
6	0.4705
8	0.6419
10	0.7740
12	0.9263
14	1.1092



รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอลเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

สูตรการคำนวณปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง

สมการ $y = 0.0781x + 0.0034$

ให้ y = พื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอล

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ปริมาณเอทานอล = $(x) (0.789) (10)$ กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. ผลการศึกษาชนิดเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยวัตถุบิกากต้นกล้วย

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยไฮโดรไลสeshส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกพร้อมกับคลื่นไมโครเวฟ ด้วยเอนไซม์ที่แตกต่างกัน

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.113	2	16.056	13.641	0.006
Within Groups	7.063	6	1.177		
Total	39.176	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ชนิดของเอนไซม์ เซลล์ูเลส	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
CBX	3	11.6592	
VRE	3	13.4339	
EGS	3		16.2472
Sig.		0.092	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดของ เอนไซม์ เซลล์เลส	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95 %		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
CBX	3	11.6592	0.6634	0.3830	10.0114	13.3071	10.9646	12.2861
EGS	3	16.2472	1.5575	0.8992	12.3782	20.1161	14.5971	17.6916
VRE	3	13.4339	0.8158	0.4710	11.4074	15.4605	12.7677	14.3438
Total	9	13.7801	2.2129	0.7376	12.0791	15.4811	10.9646	17.6916

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ ด้วยเอนไซม์ที่แตกต่างกัน

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	662.965	2	331.483	355.802	<0.001
Within Groups	5.590	6	0.932		
Total	668.555	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ชนิดของเอนไซม์ เซลล์เลส	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
CBX	3	7.6148		
EGS	3		24.6570	
VRE	3			26.7968
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดของ เอนไซม์ เซลล์เลส	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95 %		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
CBX	3	24.6570	1.4990	0.8654	20.9334	28.3807	23.1070	26.0991
EGS	3	7.6148	0.2054	0.1186	7.1046	8.1250	7.4094	7.8202
VRE	3	26.7968	0.7112	0.4106	25.0300	28.5636	26.0335	27.4409
Total	9	19.6895	9.1416	3.0472	12.6627	26.7164	7.4094	27.4409

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพกากต้นกัญชงด้วยกรดและด่าง เจือจางร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

2.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดและด่างเจือจางที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

ตารางที่ ข.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่
ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.197	2	1.098	86.240	0.000
Within Groups	0.076	6	0.013		
Total	2.273	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0.2	3	1.4498		
0.4	3		2.1204	
0.6	3			2.6575
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
0.2	3	1.4498	0.1150	0.0664	1.1642	1.7354	1.3553	1.5778
0.4	3	2.1204	0.0940	0.0543	1.8870	2.3538	2.0528	2.2277
0.6	3	2.6575	0.1271	0.0734	2.3417	2.9732	2.5203	2.7713
Total	9	2.0759	0.5330	0.1777	1.6662	2.4856	1.3553	2.7713

ตารางที่ ข.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ได้หลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที และย่อยต่อด้วย เอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.603	2	0.302	3.314	0.107
Within Groups	0.546	6	0.091		
Total	1.149	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
0.4	3	14.7262	
0.6	3	14.7410	
0.2	3	15.2826	
Sig.		0.072	
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0.2	3	15.2826	0.1713	0.0989	14.8570	15.7082	15.0906	15.4199
0.4	3	14.7262	0.4529	0.2615	13.6011	15.8512	14.3556	15.2310
0.6	3	14.7410	0.1964	0.1134	14.2532	15.2289	14.5144	14.8609
Total	9	14.9166	0.3790	0.1263	14.6253	15.2079	14.3556	15.4199

ตารางที่ ข.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิซท์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.031	2	0.016	19.996	0.002
Within Groups	0.005	6	0.001		
Total	0.036	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.4	3	0.6816	
0.2	3	0.6868	
0.6	3		0.8086
Sig.		0.828	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0.2	3	0.6868	0.0157	0.0090	0.6479	0.7257	0.6694	0.6998
0.4	3	0.6816	0.0149	0.0086	0.6446	0.7186	0.6646	0.6923
0.6	3	0.8086	0.0431	0.0249	0.7015	0.9158	0.7763	0.8576
Total	9	0.7257	0.0668	0.0223	0.6743	0.7770	0.6646	0.8576

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายสารละลายต่าง โขเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.667	2	0.333	0.377	0.701
Within Groups	5.306	6	0.884		
Total	5.972	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
0.6	3		39.2717
0.4	3		39.8086
0.2	3		39.8824
Sig.			0.470
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (โมลาร์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
0.2	3	39.8824	0.9507	0.5489	37.5207	42.2442	39.2946	40.9793
0.4	3	39.8086	0.0996	0.0575	39.5612	40.0561	39.6982	39.8917
0.6	3	39.2717	1.3187	0.7614	35.9958	42.5475	38.1234	40.7119
Total	9	39.6542	0.8640	0.2880	38.9901	40.3184	38.1234	40.9793

2.2 ผลการศึกษากำลังวัตต์ของไมโครเวฟที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ เซลลูเลส

ตารางที่ ข.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่
ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่าง ๆ เป็นเวลา 4 นาที

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.981	2	0.491	73.636	0.000
Within Groups	0.040	6	0.007		
Total	1.021	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

กำลังวัตต์ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	3
300	3	0.6408	
600	3		1.2983
450	3		1.3774
Sig.		1.000	0.280
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

กำลังวัตต์ ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
300	3	0.6408	0.0097	0.0056	0.6166	0.6650	0.6306	0.6500
450	3	1.3774	0.0829	0.0479	1.1715	1.5833	1.2857	1.4470
600	3	1.2983	0.1141	0.0659	1.0148	1.5817	1.1848	1.4130
Total	9	1.1055	0.3573	0.1191	0.8309	1.3801	0.6306	1.4470

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่าง ๆ เป็นเวลา 4 นาที และย่อยต่อด้วย เอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.277	2	2.638	9.727	0.013
Within Groups	1.627	6	0.271		
Total	6.904	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

กำลังวัตต์ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	Subset for alpha = 0.05	
			1
300	3	13.8941	
600	3	14.7712	14.7712
450	3		15.7684
Sig.		0.085	0.057
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

กำลังวัตต์ ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
300	3	13.8941	0.3847	0.2221	12.9386	14.8496	13.4501	14.1266
450	3	15.7684	0.6412	0.3702	14.1756	17.3611	15.0656	16.3215
600	3	14.7712	0.5046	0.2913	13.5178	16.0247	14.3648	15.3360
Total	9	14.8112	0.9290	0.3097	14.0972	15.5253	13.4501	16.3215

ตารางที่ ข.9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่าง ๆ เป็นเวลา 4 นาที

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.608	2	0.304	33.844	0.001
Within Groups	0.054	6	0.009		
Total	0.661	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

กำลังวัตต์ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
300	3	0.5917	
450	3	0.7042	
600	3		1.1904
Sig.		0.196	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

กำลังวัตต์ ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
300	3	0.5917	0.0128	0.0074	0.5598	0.6236	0.5772	0.6017
450	3	0.7042	0.0168	0.0097	0.6625	0.7458	0.6883	0.7217
600	3	1.1904	0.1627	0.0940	0.7862	1.5946	1.0340	1.3588
Total	9	0.8287	0.2875	0.0958	0.6077	1.0498	0.5772	1.3588

ตารางที่ ข.10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายสารละลายต่าง
โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่าง ๆ เป็นเวลา 4
นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.204	2	4.102	16.154	.004
Within Groups	1.524	6	.254		
Total	9.728	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

กำลังวัตต์ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
300	3	37.5820	
600	3		39.3039
450	3		39.8135
Sig.		1.000	.262
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

กำลังวัตต์ ของ ไมโครเวฟ (วัตต์)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
300	3	37.5820	0.6648	0.3838	35.9306	39.2334	36.818	38.0249
450	3	39.8135	0.2470	0.1426	39.1999	40.4271	39.659	40.0984
600	3	39.3039	0.5088	0.2938	38.0399	40.5679	38.816	39.8310
Total	9	38.8998	1.1027	0.3676	38.0522	39.7474	36.818	40.0984

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

ตารางที่ ข.11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ ในระยะเวลาต่าง ๆ

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.775	2	0.888	115.199	0.000
Within Groups	0.046	6	0.008		
Total	1.821	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลา (นาที)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2	3	0.4392		
6	3		1.2380	
4	3			1.4781
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลา (นาทีก)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
2	3	0.4392	0.0330	0.0191	0.3571	0.5212	0.4145	0.4767
4	3	1.4781	0.1445	0.0834	1.1193	1.8370	1.3917	1.6449
6	3	1.2380	0.0340	0.0196	1.1535	1.3224	1.1990	1.2616
Total	9	1.0518	0.4772	0.1591	0.6850	1.4185	.4145	1.6449

ตารางที่ ข.12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ ในระยะเวลาต่าง ๆ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.337	2	1.669	3.926	0.081
Within Groups	2.550	6	0.425		
Total	5.887	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลา (นาที)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6	3	15.3821	
4	3	15.7726	15.7726
2	3		16.8240
Sig.		0.491	0.096
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลา (นาที)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
2	3	16.8240	0.2391	0.1381	16.2300	17.4181	16.6697	17.0995
4	3	15.7726	1.0138	0.5853	13.2541	18.2910	14.6443	16.6070
6	3	15.3821	0.4360	0.2517	14.2991	16.4652	15.1196	15.8854
Total	9	15.9929	0.8578	0.2859	15.3335	16.6523	14.6443	17.0995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ ในระยะเวลาต่าง ๆ

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.442	2	0.221	57.229	0.000
Within Groups	0.023	6	0.004		
Total	0.465	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลา (นาทีก)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2	3	0.4914		
4	3	0.6283		
6	3			1.0148
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลา (นาทีก)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
2	3	0.4914	0.0223	0.0129	0.4361	0.5468	0.4684	0.5129
4	3	0.6283	0.0054	0.0031	0.6149	0.6417	0.6247	0.6345
6	3	1.0148	0.1052	0.0607	0.7536	1.2760	0.9212	1.1286
Total	9	0.7115	0.2411	0.0804	0.5262	0.8969	0.4684	1.1286

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.14 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายสารละลายต่าง โขเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ ใน ระยะเวลาต่าง ๆ และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43.182	2	21.591	388.526	.000
Within Groups	0.333	6	0.056		
Total	43.515	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลา (นาที)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2 min	3	35.1139		
4 min	3		39.3744	
6 min	3			40.0685
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลา (นาที)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
2	3	35.1139	0.3975	0.2295	34.1264	36.1013	34.660	35.3985
4	3	39.3744	0.0832	0.0480	39.1678	39.5809	39.291	39.4575
6	3	40.0685	0.0423	0.0244	39.9634	40.1735	40.037	40.1164
Total	9	38.1856	2.3323	0.7774	36.3928	39.9783	34.660	40.1164

ตารางที่ ข.15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ได้ภายหลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและด่างเจือจางในสภาวะที่เหมาะสม และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means Significance			
	F	Sig.	t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
	Equal variances assumed	10.071	0.034	-165.79	4	<0.001
Equal variances not assumed			-165.79	2.12	<0.001	<0.001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดสารละลาย	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
H ₂ SO ₄	3	16.8240	0.2391	0.1381
NaOH	3	40.0685	0.0423	0.0244

2.4 ผลการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในย่อยไฮโดรไลสของส่วนกากด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

ตารางที่ ข.16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังจากการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ VRE ในระยะเวลาต่าง ๆ

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	166.209	2	83.105	425.863	0.000
Within Groups	1.171	6	0.195		
Total	167.380	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12	3	30.3064		
24	3		33.3440	
48	3			40.5536
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ย ต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย สูงสุด
					ขอบเขต ล่าง	ขอบเขต บน		
12	3	30.3064	0.4895	0.2826	29.0905	31.5223	29.8122	30.7910
24	3	33.3440	0.1794	0.1036	32.8982	33.7898	33.1771	33.5338
48	3	40.5536	0.5600	0.3233	39.1623	41.9448	39.9069	40.8809
Total	9	34.7347	4.5741	1.5247	31.2187	38.2506	29.8122	40.8809

3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ของกากต้นกล้วยหลังจากการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ ข.17 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากต้นกล้วยก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 450 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

เฮมิเซลลูโลส	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means Significance			
	F	Sig.	t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
	Equal variances assumed	2.072	0.223	46.44	4	<0.001
Equal variances not assumed			46.44	2.47	<0.001	<0.001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชลลูโลส	Levene's Test for		t-test for Equality of Means			
	Equality of		Significance			
	Variances		t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
	F	Sig.				
Equal variances assumed	3.719	0.126	-101.34	4	<0.001	<0.001
Equal variances not assumed			-101.34	2.04	<0.001	<0.001

ลิกนิน	Levene's Test for		t-test for Equality of Means			
	Equality of		Significance			
	Variances		t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
	F	Sig.				
Equal variances assumed	0.032	0.866	-0.74	4	0.251	0.502
Equal variances not assumed			-0.74	3.88	0.252	0.503

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

	กากต้นกัญชง	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน
เฮมิเซลลูโลส	ก่อนปรับสภาพ	3	14.0433	0.0208	0.0120
	หลังปรับสภาพ	3	12.3333	0.0603	0.0348
เซลลูโลส	ก่อนปรับสภาพ	3	52.6233	0.0551	0.0318
	หลังปรับสภาพ	3	55.8633	0.0058	0.0033
ลิกนิน	ก่อนปรับสภาพ	3	10.7933	0.0252	0.0145
	หลังปรับสภาพ	3	10.8100	0.0300	0.0173

4. ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลด้วยไฮโดรไลสเททากต้นกัญชง

4.1 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตารางที่ ข.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1036.832	5	207.366	671.523	<0.001
Within Groups	3.706	12	0.309		
Total	1040.537	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
60	3	1.8000	
48	3	1.8500	
36	3	1.9300	
24	3	1.9467	
12	3	2.0367	
0	3		22.2767
Sig.		0.641	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	22.2767	1.3029	0.7522	19.0402	25.5131	20.8100	23.3000
12	3	2.0367	0.1102	0.0636	1.7630	2.3103	1.9100	2.1100
24	3	1.9467	0.1350	0.0780	1.6112	2.2821	1.8100	2.0800
36	3	1.9300	0.0200	0.0115	1.8803	1.9797	1.9100	1.9500
48	3	1.8500	0.2587	0.1493	1.2075	2.4925	1.6200	2.1300
60	3	1.8000	0.2402	0.1387	1.2033	2.3967	1.6100	2.0700
Total	18	5.3067	7.8236	1.8440	1.4161	9.1972	1.6100	23.3000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.19 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักเซลล์แห้งระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	58.813	5	11.763	1502.126	<0.001
Within Groups	0.094	12	0.008		
Total	58.906	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	0.1567				
12	3		3.5656			
24	3			4.6500		
60	3				5.0633	
36	3					5.2300
48	3					5.2567
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	0.718
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.1567	0.0252	0.0145	0.0942	0.2192	0.1300	0.1800
12	3	3.5656	0.1086	0.0627	3.2960	3.8353	3.4574	3.6745
24	3	4.6500	0.0755	0.0436	4.4625	4.8375	4.5800	4.7300
36	3	5.2300	0.0608	0.0351	5.0789	5.3811	5.1900	5.3000
48	3	5.2567	0.0814	0.0470	5.0543	5.4590	5.2000	5.3500
60	3	5.0633	0.1361	0.0786	4.7251	5.4015	4.9100	5.1700
Total	18	3.9871	1.8615	0.4388	3.0614	4.9127	0.1300	5.3500

ตารางที่ ข.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	97.978	5	19.596	131.578	<0.001
Within Groups	1.787	12	0.149		
Total	99.765	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.1833			
12	3		5.0067		
60	3		5.2367	5.2367	
48	3			5.8400	
36	3				6.9533
24	3				7.2167
Sig.		1.000	0.479	0.080	0.420
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.1833	0.0814	0.0470	-0.0190	0.3857	0.0900	0.2400
12	3	5.0067	0.2730	0.1576	4.3285	5.6849	4.8200	5.3200
24	3	7.2167	0.2909	0.1680	6.4940	7.9393	6.9400	7.5200
36	3	6.9533	0.6935	0.4004	5.2306	8.6761	6.1800	7.5200
48	3	5.8400	0.4214	0.2433	4.7931	6.8869	5.4000	6.2400
60	3	5.2367	0.2631	0.1519	4.5830	5.8903	5.0700	5.5400
Total	18	5.0728	2.4225	0.5710	3.8681	6.2775	0.0900	7.5200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.21 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารชุดควบคุม YPD เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.613	5	0.523	475.091	<0.001
Within Groups	0.013	12	0.001		
Total	2.626	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
12	3	5.0533				
24	3		5.2133			
0	3			5.5733		
36	3				5.8300	
48	3				5.8600	
60	3					6.1500
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.290	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	5.5733	0.0058	0.0033	5.5590	5.5877	5.5700	5.5800
12	3	5.0533	0.0058	0.0033	5.0390	5.0677	5.0500	5.0600
24	3	5.2133	0.0252	0.0145	5.1508	5.2758	5.1900	5.2400
36	3	5.8300	0.0600	0.0346	5.6810	5.9790	5.7700	5.8900
48	3	5.8600	0.0400	0.0231	5.7606	5.9594	5.8200	5.9000
60	3	6.1500	0.0265	0.0153	6.0843	6.2157	6.1200	6.1700
Total	18	5.6133	0.3930	0.0926	5.4179	5.8088	5.0500	6.1700

4.2 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ตารางที่ ข.22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2782.269	5	556.454	1363.300	<0.001
Within Groups	4.898	12	0.408		
Total	2787.167	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
60	3	5.3667				
48	3		6.9867			
36	3		7.2233	7.2233		
24	3			8.3567		
12	3				19.4967	
0	3					40.4233
Sig.		1.000	0.658	0.051	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	40.4233	1.3964	0.8062	36.9544	43.8923	38.9200	41.6800
12	3	19.4967	0.6461	0.3730	17.8917	21.1016	18.8300	20.1200
24	3	8.3567	0.1589	0.0917	7.9621	8.7513	8.2600	8.5400
36	3	7.2233	0.0351	0.0203	7.1361	7.3106	7.1900	7.2600
48	3	6.9867	0.0635	0.0367	6.8289	7.1444	6.9500	7.0600
60	3	5.3667	0.2259	0.1304	4.8055	5.9278	5.1300	5.5800
Total	18	14.6422	12.8043	3.0180	8.2748	21.0097	5.1300	41.6800

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.23 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักเซลล์แห้งระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยง เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.875	5	3.375	772.302	<0.001
Within Groups	0.052	12	0.004		
Total	16.927	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	0.2233				
12	3		0.6433			
24	3			2.1667		
36	3				2.4667	
60	3				2.5473	2.5473
48	3					2.6167
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.161	0.223
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.2233	0.0289	0.0167	0.1516	0.2950	0.1900	0.2400
12	3	0.6433	0.0404	0.0233	0.5429	0.7437	0.6200	0.6900
24	3	2.1667	0.0231	0.0133	2.1093	2.2240	2.1400	2.1800
36	3	2.4667	0.0643	0.0371	2.3070	2.6264	2.4200	2.5400
48	3	2.6167	0.1206	0.0696	2.3172	2.9161	2.4900	2.7300
60	3	2.5473	0.0675	0.0390	2.3797	2.7150	2.4787	2.6136
Total	18	1.7773	0.9979	0.2352	1.2811	2.2736	0.1900	2.7300

ตารางที่ ข.24 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยง เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	245.539	5	49.108	132.180	<0.001
Within Groups	4.458	12	0.372		
Total	249.997	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.0233			
12	3		4.3833		
60	3			7.0733	
24	3				9.8100
48	3				9.9200
36	3				10.1567
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.520
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	0.0233	0.0404	0.0233	-0.0771	0.1237	0.0000	0.0700
12	3	4.3833	0.0153	0.0088	4.3454	4.4213	4.3700	4.4000
24	3	9.8100	0.4051	0.2339	8.8037	10.8163	9.4100	10.2200
36	3	10.1567	0.8633	0.4984	8.0122	12.3011	9.1600	10.6700
48	3	9.9200	0.8754	0.5054	7.7454	12.0946	9.3800	10.9300
60	3	7.0733	0.7427	0.4288	5.2283	8.9184	6.6100	7.9300
Total	18	6.8944	3.8348	0.9039	4.9874	8.8014	0.0000	10.9300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.25 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยง เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.614	5	3.323	12460.283	<0.001
Within Groups	0.003	12	0.000		
Total	16.617	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan^a

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
12	3	5.4933				
24	3		5.5500			
0	3		5.5600			
36	3			6.2767		
48	3				7.5833	
60	3					7.7700
Sig.		1.000	0.468	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน		
0	3	5.5600	0.0000	0.0000	5.5600	5.5600	5.5600	5.5600
12	3	5.4933	0.0058	0.0033	5.4790	5.5077	5.4900	5.5000
24	3	5.5500	0.0100	0.0058	5.5252	5.5748	5.5400	5.5600
36	3	6.2767	0.0306	0.0176	6.2008	6.3526	6.2500	6.3100
48	3	7.5833	0.0208	0.0120	7.5316	7.6350	7.5600	7.6000
60	3	7.7700	0.0100	0.0058	7.7452	7.7948	7.7600	7.7800
Total	18	6.3722	0.9887	0.2330	5.8806	6.8639	5.4900	7.7800

4.3 ผลการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยงเปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม YPD ตารางที่ ข.26 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วยงเปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม (YPD) ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

ค่าผลได้ของมวลเซลล์ต่อสารตั้งต้น ($Y_{x/s}$)	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means			
	F	Sig.	Significance			
			t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
Equal variances assumed	2.222	0.210	20.30	4	<0.001	<0.001
Equal variances not assumed			20.30	2.20	<0.001	0.002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าผลได้ของ ผลิตภัณฑ์ต่อสาร ตั้งต้น ($Y_{p/s}$)	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means			
			Significance			
	F	Sig.	t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
Equal variances assumed	4.687	0.096	2.18	4	0.047	0.094
Equal variances not assumed			2.18	2.34	0.071	0.142

ประสิทธิภาพใน การผลิตมวลเซลล์ (Q_x)	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means			
			Significance			
	F	Sig.	t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
Equal variances assumed	0.763	0.432	59.34	4	<0.001	<0.001
Equal variances not assumed			59.34	3.18	<0.001	<0.001

ประสิทธิภาพใน การผลิตผลิตภัณฑ์ (Q_p)	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means			
			Significance			
	F	Sig.	t	Df	One-Sided p	Two-Sided p
Equal variances assumed	0.189	0.686	1.19	4	<0.001	<0.001
Equal variances not assumed			1.19	3.65	<0.001	0.001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

	ชนิดของอาหารหมัก	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อน มาตรฐาน
$Y_{x/s}$	อาหารชุดควบคุม YPD	3	0.2293	0.0135	0.0078
	ไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย	3	0.0677	0.0030	0.0018
$Y_{p/s}$	อาหารชุดควบคุม YPD	3	0.3553	0.0107	0.0062
	ไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย	3	0.3062	0.0124	0.0072
Q_x	อาหารชุดควบคุม YPD	3	0.1937	0.0032	0.0018
	ไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย	3	0.0903	0.0009	0.0005
Q_p	อาหารชุดควบคุม YPD	3	0.3007	0.0123	0.0071
	ไฮโดรไลเสทกากต้นกล้วย	3	0.4088	0.0170	0.0098

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาว ตีมากร พิมพิสัย
วัน เดือน ปีเกิด	22 มีนาคม 2541
ที่อยู่ปัจจุบัน	19 ซอยกรุงเทพกรีฑา 22 ถนนกรุงเทพกรีฑา เขตสะพานสูง แขวงทับช้าง กรุงเทพฯ 10250
ประวัติการศึกษา	2563 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 3.21 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนผู้ช่วยสอนและผู้ช่วยวิจัย (RA/TA)
ผลงานทางวิชาการ	1. Pimpisai, T. Maneerattanarungroj, C. Kingkaew, E. and Ochaikul, D. 2024. "Bioethanol production from cassava starch using co-culture of saccharolytic molds with <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088." <i>ScienceAsia</i> . 50(4): 1-8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้