

การผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici*  
TISTR 442 จากเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด  
โดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง

PROPIONIC ACID PRODUCTION FROM ACID HYDROLYSED PALM  
BUNCH FIBER USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY BY  
*Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

KMITL-2017-SC-M-020-009

การผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici*  
TISTR 442 จากเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด  
โดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง

PROPIONIC ACID PRODUCTION FROM ACID HYDROLYSED PALM  
BUNCH FIBER USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY BY  
*Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2560

KMITL-2017-SC-M-020-009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PROPIONIC ACID PRODUCTION FROM ACID HYDROLYSED PALM  
BUNCH FIBER USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY BY  
*Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442



CHUTAMAS WISEDSRI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE  
DEGREE MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
2017  
KMITL-2017-SC-M-020-009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2017

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

“การผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 จากเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง”

“PROPIONIC ACID PRODUCTION FROM ACID HYDROLYSED PALM BUNCH FIBER USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY BY *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442”

ชื่อนักศึกษา

นางสาวจุฑามาศ วิเศษศรี

รหัสประจำตัว

55651607

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.สุขใจ ชูจันทร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์บัณฑิตประจำ (ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง) ผศ.ดร.เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์ ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกสถาบันฯ รศ.สุขใจ ชูจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 30 พฤษภาคม พ.ศ. 2560 เวลา 13.00 - 16.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง 439 ตึกจุฬารณ 1

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดุขณี ธนะบริพัฒน์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....๖๐

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 จากเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด โดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง

นักศึกษา

นางสาวจุฑามาศ วิเศษศรี

รหัสประจำตัว

55651607

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา

เทคโนโลยีชีวภาพ

พ.ศ.

2560

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. สุขใจ ชูจันทร์

### บทคัดย่อ

ทะเลลายปาล์มเปล่าเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส สามารถนำมาผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สำหรับใช้ในกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ งานวิจัยนี้นำทะเลลายปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟางมาใช้ เมื่อปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในอัตราส่วน 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที พบว่าองค์ประกอบของเส้นใยทะเลลายปาล์มประกอบด้วย เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 62.81, 15.25 และ 14.23 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริกที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ใช้การออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (central composite design, CCD) และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology, RSM) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ 1.05 โดยปริมาตร อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อกรดฟอสฟอริกเท่ากับ 1:8.42 กรัมต่อมิลลิลิตร เวลา 63.16 นาที จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการทดลองเท่ากับ 16.04 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำไฮโดรไลเสทที่ได้มากำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และเปรียบเทียบกับไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ เพื่อเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส pH เท่ากับ 6.5 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่าสามารถผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงสุดเท่ากับ 7.78 และ 9.82 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ณ ชั่วโมงที่ 120 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

**คำสำคัญ:** *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442, กรดโพรพิโอนิก, กรดฟอสฟอริก, การออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (CCD), วิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อจากอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	PROPIONIC ACID PRODUCTION FROM ACID HYDROLYSED PALM BUNCH FIBER USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY BY <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442
Student	Chutamas Wisedsri
Student ID	55651607
Degree	Master of Science
Program	Biotechnology
Year	2017
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Sukjai Choojun

### ABSTRACT

Oil palm empty bunch fiber is lignocellulosic materials which applied through hydrolysis for producing reducing sugars used in fermentation by microorganisms. The aim of this study was to use oil palm empty bunch waste from mushroom cultivation for pretreatment with 3% (w/v) sodium hydroxide, solid and liquid ratio of 1:10 g/ml at 121 °C, 15 psi and 15 min. Oil palm empty bunch fiber contained 62.81% cellulose, 15.25% hemicellulose and 14.23% lignin. Subsequently, to optimize the hydrolysis conditions with phosphoric acid at 121 °C, the central composite design (CCD) and response surface methodology (RSM) were employed. The optimal conditions were performed at 1.05 % (v/v) H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 63.16 minutes and 1 g of oil palm fiber per 8.42 ml phosphoric acid ratio, which produced the highest reducing sugar concentration of 16.04 g/L. Detoxification of oil palm fiber hydrolysate was overliming method. To compare detoxified and undetoxified hydrolysate medium for propionic acid production, two media were prepared and utilized for by *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 in 5-liters bioreactor at static condition, 30 °C, pH 6.5 for 144 h. The maximum propionic acid concentrations from were 7.78 (detoxified hydrolysate medium) and 9.82 (undetoxified hydrolysate medium) g/L, respectively at 120 h, which were significantly different (p≤0.05).

**Keywords:** *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442, propionic acid, phosphoric acid, central composite design (CCD), response surface methodology (RSM)

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี ด้วยความอนุเคราะห์จาก รศ. สุขใจ ชูจันทร์ ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ จึงขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูง ที่ได้เสียสละเวลาเพื่อให้ความรู้คำแนะนำ แนวทางในการดำเนินงานค้นคว้าวิจัย รวมถึงแนวทางในการแก้ไขปัญหาระหว่างการดำเนินงาน อีกทั้งได้กรุณาตรวจทางแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์, ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล และ ผศ.ดร. เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการดำเนินงานค้นคว้าวิจัย และสละเวลาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ คุณสมจิตร์ วิเศษศรี (คุณแม่) คุณเกษร และคุณทองใบ ธรรมเจริญ เจ้าของโรงเพาะเห็ดฟาง ต.นาตาขวัญ อ.เมือง จ.ระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์ทะเลาะปาล์มเหลืองทิ้ง และจัดหาวัสดุดิบสำหรับใช้ในงานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนทั้งด้านทุนทรัพย์ เวลา และเป็นกำลังใจให้เสมอมา จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณนายกิจสิทธิ์ พรหมสุทธิ ผู้ให้คำแนะนำเรื่องการออกแบบการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลอง RSM, นางสาวอัจฉราภรณ์ จงมีสุข, นางสาวดวงกมล สิริประภาขจรกิจ และเพื่อนๆ น้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาเสมอมา

ขอขอบคุณนางสาวณิชชาภัทร ชื่นจิตร ที่คอยให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตีควิทยาศาสตร์หลังเก่า ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีสิ่งใดขาดตกบกพร่อง ผู้จัดทำขอน้อมรับไว้ทั้งหมด สำหรับคุณค่าและประโยชน์อันพึงมาจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอบอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

จุฑามาศ วิเศษศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และตัดอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ข
กิตติกรรมประกาศ .....	ค
สารบัญ .....	ง
สารบัญตาราง .....	ช
สารบัญภาพ .....	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ .....</b>	<b>1</b>
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....</b>	<b>4</b>
2.1 คุณสมบัติของกรดโพรพิโอนิก .....	4
2.2 ความสำคัญของกรดโพรพิโอนิก .....	4
2.3 กระบวนการผลิตกรดโพรพิโอนิก .....	6
2.3.1 กระบวนการผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยวิธีการสังเคราะห์ทางเคมี .....	6
2.3.2 กระบวนการผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยวิธีการทางชีวภาพ .....	7
2.4 จุลินทรีย์ผลิตกรดโพรพิโอนิก .....	12
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดโพรพิโอนิก .....	13
2.5.1 แหล่งคาร์บอน .....	13
2.5.2 แหล่งไนโตรเจน .....	14
2.5.3 โคแฟกเตอร์ .....	15
2.5.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง .....	15
2.5.5 อุณหภูมิ .....	15
2.5.6 การให้อากาศ .....	16
2.5.7 แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO <sub>3</sub> ) .....	16
2.6 ปาล์มน้ำมัน .....	20
2.6.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และองค์ประกอบทางเคมีของปาล์มน้ำมัน .....	20
2.7 การเพาะเลี้ยงเห็ดฟาง .....	22
2.8 องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส .....	24
2.8.1 เซลลูโลส .....	25
2.8.2 เฮมิเซลลูโลส .....	26
2.8.3 ลิกนิน .....	27
2.9 การปรับสภาพวัตถุดิบ .....	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9.1 การปรับสภาพทางกายภาพ .....	29
2.9.2 การปรับสภาพทางเคมี .....	30
2.9.3 การปรับสภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ .....	30
2.9.4 การปรับสภาพทางชีวภาพ .....	31
2.10 การไฮโดรไลซิส .....	33
2.11 การกำจัดสารพิษ .....	34
2.12 กระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ .....	37
2.13 การออกแบบพื้นผิวตอบสนอง .....	38
2.14 การออกวางแผนการทดลองแบบส่วนประสมกลาง .....	40
2.15 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ .....	42
2.15.1 Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy .....	42
2.15.2 High performance liquid chromatography (HPLC) .....	43
2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	44
2.16.1 การผลิตกรดโพทิโอนิก .....	44
2.16.2 การปรับสภาพและการไฮโดรไลซิส .....	45
2.16.3 การกำจัดสารพิษ .....	47
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย .....</b>	<b>48</b>
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ .....	48
3.2 เครื่องมือ .....	48
3.3 สารเคมี .....	49
3.4 วัสดุดิบ .....	50
3.5 เชื้อจุลินทรีย์และการเก็บรักษา .....	50
3.6 การศึกษากระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ .....	50
3.7 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริกเพื่อการผลิต น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง .....	51
3.8 การเตรียมน้ำตาลรีดิวซ์จากเส้นใยทะเลลายปาล์มเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน .....	54
3.9 การศึกษาการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วย วิธี overliming .....	54
3.10 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น .....	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.11 การศึกษาและเปรียบเทียบการผลิตกรดโพธิ์อินิกจากอาหารไฮโดรไลเสท ที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษในถังหมักขนาด 5 ลิตร .....	55
3.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ .....	56
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง .....</b>	<b>57</b>
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพ และหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ .....	57
4.2 ลักษณะโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยทะเลลายปาล์มภายใต้ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด .....	59
4.3 ตรวจสอบโครงสร้างสารของเส้นใยทะเลลายปาล์ม ด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ .....	60
4.4 สภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริก สำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM .....	62
4.5 การสร้างสมการถดถอยและการวิเคราะห์นัยสำคัญ ของค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย .....	64
4.6 อิทธิพลของตัวแปรอิสระต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ .....	67
4.7 การกำจัดความเป็นพิษ .....	71
4.8 การเปรียบเทียบการผลิตกรดโพธิ์อินิกจากอาหารไฮโดรไลเสท ที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร .....	72
4.8.1 การผลิตกรดโพธิ์อินิกจากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่าน การกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming ในถังหมักขนาด 5 ลิตร .....	72
4.8.2 การผลิตกรดโพธิ์อินิกจากอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่าน การกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร .....	73
4.8.3 การผลิตกรดโพธิ์อินิกจากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่าน การกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming เปรียบเทียบกับ อาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร .....	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	81
เอกสารอ้างอิง .....	83
ภาคผนวก ก .....	93
ภาคผนวก ข .....	96
ภาคผนวก ค .....	107
ภาคผนวก ง .....	112
ประวัติผู้เขียน .....	124



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกรดโพธิ์โอนิก .....	5
2.2 สายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดโพธิ์โอนิก .....	8
2.3 กระบวนการหมักเพื่อการผลิตกรดโพธิ์โอนิก .....	18
2.4 องค์ประกอบทางเคมีของทะเลลายปาล์มก่อนและหลังการเพาะเห็ดฟาง .....	23
2.5 ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส .....	25
2.6 ข้อดีและข้อด้อยของกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส .....	32
2.7 ตัวอย่างวิธีการกำจัดสารพิษในไฮโดรไลเสทลิกโนเซลลูโลส เพื่อกำจัดสารยับยั้งการเจริญในอาหารหมัก .....	36
2.8 การเก็บข้อมูลของ CCD สำหรับ 3 ตัวแปรที่ค่า $\alpha=1$ .....	41
2.9 ตัวอย่างของความยาวคลื่นที่บ่งชี้ส่วนประกอบใน วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส.....	43
3.1 ตัวแปรอิสระและระดับของตัวแปรอิสระทั้ง 5 ระดับ ตามการออกแบบการทดลองแบบ CCD .....	52
3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริก โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD .....	52
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	58
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์ม ด้วยกรดฟอสฟอริก โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD .....	63
4.3 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของแต่ละตัวแปรที่เหมาะสมต่อ การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยกระบวนการไฮโดรไลซิส .....	65
4.4 แสดงผลการวิเคราะห์การถดถอยของปัจจัยความเข้มข้น, อัตราส่วน และเวลา ความสัมพันธ์ ที่มีต่อการศึกษาสภาวะ ที่เหมาะสมในไฮโดรไลซิส (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) .....	66
4.5 ผลการวิเคราะห์สมการถดถอยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) .....	67
4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์ม ก่อนและหลังการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ .....	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.7	แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้โดยเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่กำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ..... 75
4.8	แสดงผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของการผลิตกรดโพรพิโอนิก จากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ โดย เชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 ..... 77
ข-1	การเจือจางสารละลายกลูโคสด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ..... 102
ค-1	องค์ประกอบของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ..... 108
ค-2	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) โดยการออกแบบการทดลองแบบ CCD ..... 108
ค-3	แสดงการคาดคะเนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยปัจจัยจำเพาะต่างๆ ซึ่งได้จากพื้นที่ตอบสนอง ..... 109
ค-4	แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ และปริมาณเซลล์ของเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ด้วยวิธี overliming ..... 111
ค-5	แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ และปริมาณเซลล์ของเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ..... 111
ง-1	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์ม ก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ..... 113
ง-2	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์ม ด้วยกรดฟอสฟอริก สำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM ..... 116

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่

หน้า

ง-3 ผลการศึกษาและเปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเสท ที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming เปรียบเทียบ กับอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ของเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร .....	119
---	-----



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	4
2.2	5
2.3	8
2.4	
<i>Propionibacterium acidipropionici</i>	10
2.5	11
2.6	12
2.7	13
2.8	21
2.9	22
2.10	24
2.11	25
2.12	26
2.13	27
2.14	28
2.15	29
2.16	35
2.17	39
2.18	41
2.19	42
4.1	58
4.2	60
4.3	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตัดทอนอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.4	อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก และอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มหลังปรับสภาพ ต่อสารละลายกรดฟอสฟอริกต่อปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ ..... 68
4.5	อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิสต่อปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ ..... 69
4.6	อิทธิพลของอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์ม หลังปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิสต่อปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ ..... 70
4.7	แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้และ ปริมาณเซลล์ ของเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 จากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ด้วยวิธี overliming ..... 73
4.8	แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้และปริมาณเซลล์ของเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 จากอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ..... 74
4.9	แสดงการเปรียบเทียบระหว่างปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ และปริมาณเซลล์ของเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> TISTR 442 จากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ด้วยวิธี overliming และอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่าน กระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ..... 76
ข-1	กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ..... 103
ข-2	กราฟมาตรฐานกรดโพรพิโอนิก ..... 105
ข-3	แสดงโครมาโตแกรมของกรดโพรพิโอนิก ..... 106

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) เป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง มีสูตรโมเลกุล คือ  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$  กรดโพรพิโอนิกมีการใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมอาหารและนม โดยใช้เป็นวัตถุกันเสียในธัญพืช ขนมอบและชีส อุตสาหกรรมน้ำหอม และใช้เป็นตัวกลางในการผลิตพลาสติกชีวภาพ นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชและเติมลงในอาหารสัตว์เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา เป็นต้น โดยกรดโพรพิโอนิกที่ใช้ในอุตสาหกรรมจะอยู่ในรูปของเกลือโซเดียม แคลเซียม และโพแทสเซียม (Goswami, 2000; Suwannakham, 2005; สุขใจ, 2554)

ปัจจุบันการผลิตกรดโพรพิโอนิกสามารถผลิตได้ทั้งกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ ซึ่งการผลิตกรดโพรพิโอนิกเชิงพาณิชย์ มักจะใช้วิธีการสังเคราะห์โดยใช้กระบวนการทางเคมี ทำให้สามารถผลิตกรดโพรพิโอนิกได้รวดเร็วและปริมาณมาก แต่กระบวนการผลิตทางเคมีก่อให้เกิดมลพิษและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดปัญหาแก๊สเรือนกระจกในบรรยากาศ (Boyaval และ Corre, 1995; Suwannakham, 2005; สุขใจ, 2554) ดังนั้นการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากกระบวนการทางชีวภาพจึงมีบทบาทสำคัญ การนำแหล่งคาร์บอนซึ่งมีราคาถูกมาใช้ในกระบวนการหมักนับว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความน่าสนใจ (Coral และคณะ 2008) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียในสกุล Propionibacteria มีความสามารถผลิตกรดโพรพิโอนิกจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ผลิตผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งการนำวัสดุเหลือทิ้งทางด้านเกษตรมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดโพรพิโอนิกเป็นการลดปริมาณขยะรวมถึงเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบเหลือใช้อีกด้วย

การเพาะเห็ดฟางในประเทศไทยนิยมใช้ฟางข้าว เป็นวัสดุหลักในการเพาะเห็ดฟาง แต่ปัจจุบันฟางข้าวมีราคาสูงขึ้น โดยนำมาเป็นอาหารหยาบสำหรับเลี้ยงสัตว์ ทำปุ๋ยหมักและใช้เป็นวัสดุคลุมดิน ดังนั้นจึงมีการประยุกต์ใช้วัสดุที่มีความหลากหลายมากขึ้น โดยมักจะเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น เพื่อเป็นการลดต้นทุนการเพาะเห็ดฟาง เช่น ทะลายปาล์ม ชี้เลื่อย ชี้ฝ้าย เปลือกมันสำปะหลัง ผักตบชวา เป็นต้น ซึ่งวัสดุที่กล่าวมาข้างต้นนั้น ทะลายปาล์มที่เหลือจากการเพาะเห็ดฟาง หลังจากที่ได้ผลผลิตหมดแล้ว นับว่าเป็นวัสดุที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบสำคัญที่สามารถนำมาผ่านกระบวนการปรับสภาพ (pretreatment) และไฮโดรไลซิส (hydrolysis) เพื่อให้เป็นน้ำตาลที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการหมักได้

การใช้กรดฟอสฟอริกในการไฮโดรไลซิสมีความน่าสนใจ เนื่องจากมีความรุนแรงน้อยกว่ากรดชนิดอื่นๆ ที่ทำให้เกิดสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น เฟอร์ฟิวรอล หรือแอซิดิกในปริมาณต่ำ (Hong และคณะ, 2012) นอกจากนี้ยังมีความเป็นพิษ ที่เกิดการกัดกร่อนต่ำ (Vasconcelos และคณะ, 2013) และมีฟอสฟอรัสซึ่งเป็นสารอาหารสำคัญที่ใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ มีประโยชน์ต่อกระบวนการหมักทางชีวภาพ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Avci และคณะ, 2013) โดยในการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริก ซึ่งงานวิจัยได้ใช้การออกแบบวางแผนการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (central composite design; CCD) และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology; RSM)

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการปรับสภาพจากเส้นใยทะเลลายปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟาง และเพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริก รวมทั้งเปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกในอาหารเลี้ยงเชื้อไฮโดรไลสเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 ซึ่งผลของการศึกษานี้จะเป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางชีวภาพในอนาคตต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพของเส้นใยทะเลลายปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟาง ซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร
2. ศึกษาสภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์
3. ศึกษาสภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้เส้นใยทะเลลายปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟางโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริก โดยใช้แผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology; RSM)
4. ศึกษาและเปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 จากอาหารไฮโดรไลสเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming กับอาหารไฮโดรไลสเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาปัจจัยหลักที่มีผลต่อกระบวนการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟางให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์เพื่อการหมักโดยใช้แผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology; RSM)

3. เปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 อาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

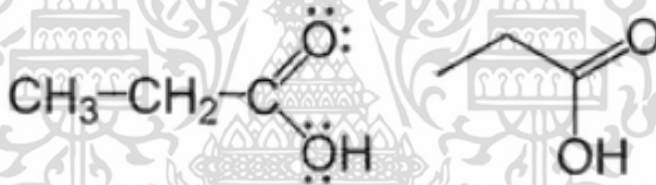
#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟาง เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและลดปัญหาขยะซึ่งเป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม
2. ใช้เป็นแนวทางในการศึกษากระบวนการปรับสภาพและกระบวนการไฮโดรไลซิสที่เหมาะสมต่อการผลิตเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด
3. ใช้เป็นแนวทางในการศึกษาและพัฒนากระบวนการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เพื่อนำไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

## บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 คุณสมบัติของกรดโพรพิโอนิก

กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) มีชื่อเคมี IUPAC คือ propanoic acid ชื่อของกรดโพรพิโอนิกมาจากภาษากรีกคำว่า protos แปลว่า first และ pion แปลว่า fat เพราะเป็นกรดที่มีขนาดเล็กที่สุดและแสดงคุณสมบัติของกรดไขมันอื่นๆ เช่น เกิดการแยกชั้นไขมันจากน้ำเมื่อเติมโพรพิโอเนตและเกลือโพแทสเซียมให้ลักษณะคล้ายสบู่ (Coral, 2008; สุขใจ, 2554) กรดโพรพิโอนิกเป็นกรดคาร์บอกซิลิกที่สำคัญที่ได้จากวิถีกรดไดคาร์บอกซิลิก (dicarboxylic acid pathway) หรือวิถีซัคซิเนต (succinate pathway) จัดเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง ได้จากการหมักสารประเภทคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรีย (พรวิสาข์, 2551) สูตรโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกรดโพรพิโอนิกแสดงดังตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของกรดโพรพิโอนิก

ที่มา : Haque และคณะ (2009)

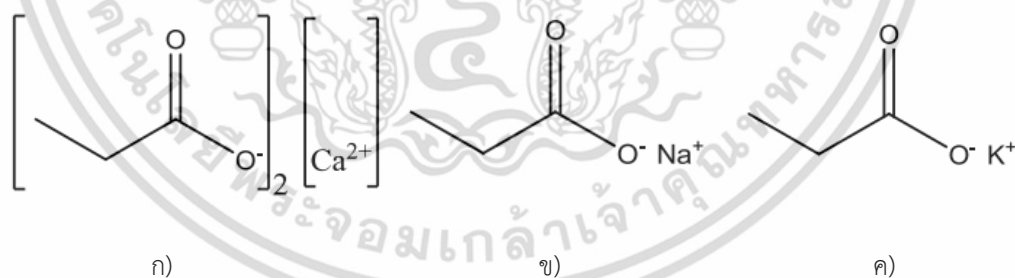
### 2.2 ความสำคัญของกรดโพรพิโอนิก

กรดโพรพิโอนิกถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างกว้างขวาง เช่น อุตสาหกรรมอาหารใช้กรดโพรพิโอนิกเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราในขนมปัง และเนยแข็ง ใช้เป็นวัตถุกันเสียสำหรับเมล็ดพืช หญาหมัก อาหารสัตว์ และยาสูบในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาและการขนส่ง ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำหอมในรูปของเอทิลโพรพิโอเนต ใช้เป็นตัวกลางในการสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสและการผลิตพลาสติกชีวภาพในอุตสาหกรรม (Goswami, 2000) กรดโพรพิโอนิกที่นิยมใช้จะอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียม ( $\text{Ca}^{++}$ ) โซเดียม ( $\text{Na}^+$ ) และโพแทสเซียม ( $\text{K}^+$ ) แสดงดังรูปที่ 2.2 และจัดทะเบียนเป็นสารกันบูด ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่ปลอดภัย GRAS เอกสารนี้ (generally recognized as safe) (Coral, 2008) เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกรดโพธิ์โอนิก

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ	กรดโพธิ์โอนิก
น้ำหนักโมเลกุล	74.08 กรัมต่อโมล
ลักษณะ	ของเหลวไม่มีสี
จุดหลอมเหลว	-21 องศาเซลเซียส (252 องศาเคลวิน)
จุดเดือด	141 องศาเซลเซียส (414 องศาเคลวิน)
ความหนาแน่น	0.992-0.994
ความสามารถละลายในน้ำ	สามารถละลายผสมกับน้ำได้
ค่า pH	2.9
ความหนืด	10 มิลลิพาสกาล.วินาที
การละลายในสารละลาย	สามารถละลายได้ในเอทานอล ไดเอทิลอีเทอร์และคลอโรฟอร์ม
ความดันบรรยากาศ	2.55
อัตราการระเหย	ไม่ระเหย
ค่าความเป็นกรด (pKa)	4.88
ความดันวิกฤติ	5370 กิโลปาสกาล
ความคงตัว	มีความคงตัว

ที่มา : ดัดแปลงจาก พรวิสาข์ (2551); สุขใจ (2554)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเกลือโพธิ์โอเนต

ก) แคลเซียมโพธิ์โอเนต, ข) โซเดียมโพธิ์โอเนต, ค) โพแทสเซียมโพธิ์โอเนต

ที่มา : European Food Safety Authority (2014)

เนื่องจากกรดโพธิ์โอนิกมีความปลอดภัยในการใช้กับอาหาร จึงไม่ได้กำหนดความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ ยกเว้นในอาหารบางประเภทซึ่งกำหนดความเข้มข้นสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ดังนี้ ผลิตภัณฑ์โพธิ์โอเนตให้ใช้ได้ปริมาณสูงสุดไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัมต่อปริมาณอาหาร 1 กิโลกรัม ผลิตภัณฑ์ประเภทเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนมปังให้ใช้ได้ปริมาณสูงสุดไม่เกิน 2,000 มิลลิกรัมต่อปริมาณอาหาร 1 กิโลกรัม (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2527 ฉบับที่ 84 เรื่องวัตถุเจือปนในอาหาร)

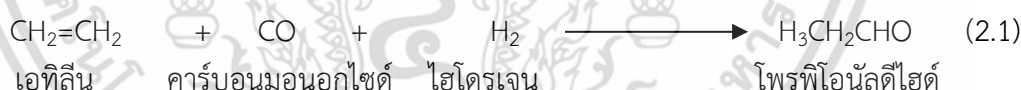
กรดโพพิโอนิกเป็นกรดอินทรีย์ที่ไม่แตกตัว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยจะไปละลายสารภายในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานว่า กรดโพพิโอนิกสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ โดยไปรบกวนการซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนภายในเซลล์ ส่งผลให้สภาพภายในเซลล์มีความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ช่วยในการยับยั้งการเจริญและทำให้จุลินทรีย์ตายได้ในที่สุด (พรวิสาข์, 2551)

## 2.3 กระบวนการผลิตกรดโพพิโอนิก

### 2.3.1 กระบวนการผลิตกรดโพพิโอนิกด้วยวิธีการสังเคราะห์ทางเคมี (สุขใจ, 2554)

ปัจจุบันการผลิตกรดโพพิโอนิกเชิงพาณิชย์นิยมใช้กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีเนื่องจากใช้เวลาในการผลิตสั้น และได้ผลผลิตตามต้องการ ซึ่งกระบวนการทางเคมีประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ

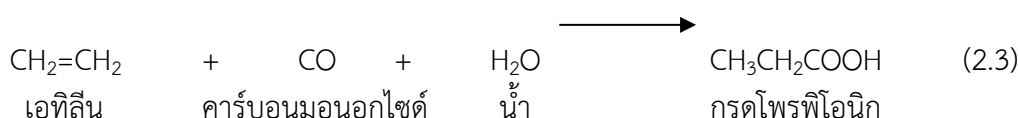
1. การเกิดปฏิกิริยาออกโซหรือไฮโดรฟอร์มมิเลชัน (oxo หรือ hydroformylation) ของเอทิลีนทำปฏิกิริยากับคาร์บอนมอนอกไซด์และไฮโดรเจน ได้ผลผลิตเป็นโพรพิโอนัลดีไฮด์ (propionaldehyde) ดังสมการที่ 2.1



2. ต่อมาเกิดปฏิกิริยา aerobic oxidation ของโพรพิโอนัลดีไฮด์ ดังสมการที่ 2.2

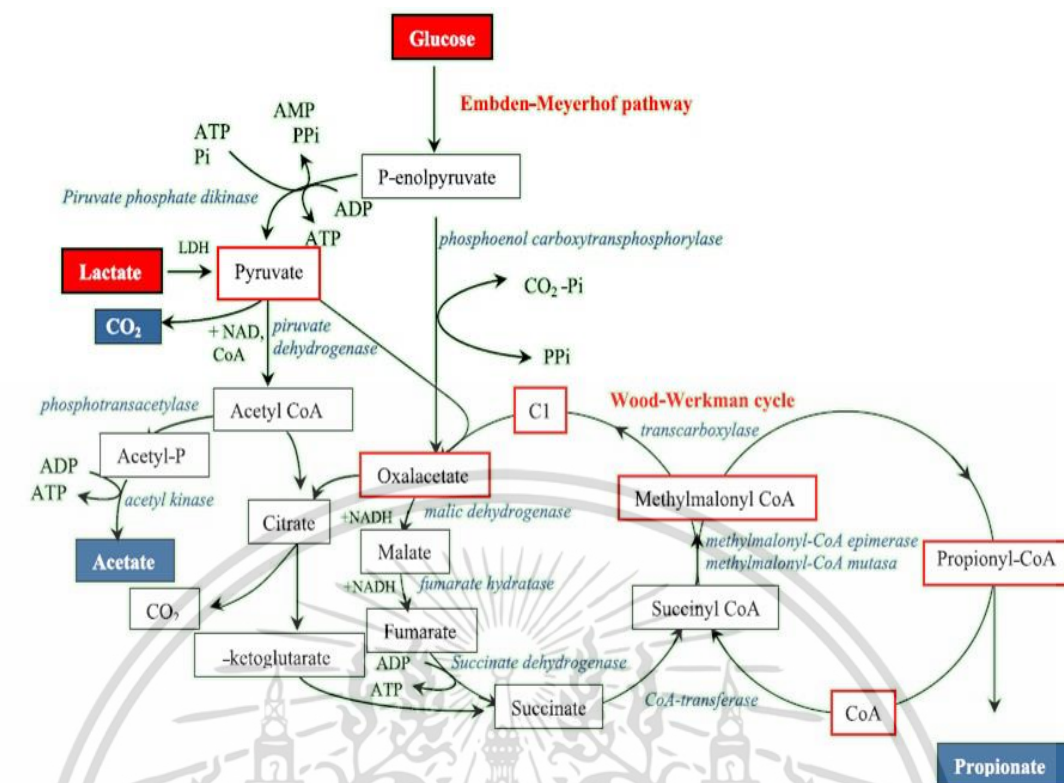


หรือการสังเคราะห์กรดโพพิโอนิกอาจเกิดจากปฏิกิริยาคาร์บอนิลเลชันของเอทิลีน โดยทำปฏิกิริยากับคาร์บอนมอนอกไซด์ และน้ำ มีนิกเกิลคาร์บอนิลเป็นสารเร่งปฏิกิริยา ดังสมการที่ 2.3



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ 2.3 กระบวนการหมักกรดไพรูวิกทางชีวภาพโดยแบคทีเรีย  
ที่มา : ดัดแปลงจาก Zárte (2012)

ตารางที่ 2.2 สายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดไพรูวิก

จุลินทรีย์	สายพันธุ์
<i>Propionibacterium</i>	ATCC 25562, ATCC4875, P9, P68, P200910
<i>P. acidipropionici</i>	
<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>Freudenreichii</i>	
<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>Shermanii</i>	
<i>P. shermanii</i>	CDB10014, IF012426, TL162, P93, ATCC 6207T
<i>P. thoenii</i>	
<i>P. jensenii</i>	P20, P38, P54
<i>P. cyclohexanicum</i>	P114, P117 TA-12T, IAM 14535T
<i>Clostridium</i>	
<i>C. propionicum</i>	ATCC 25522

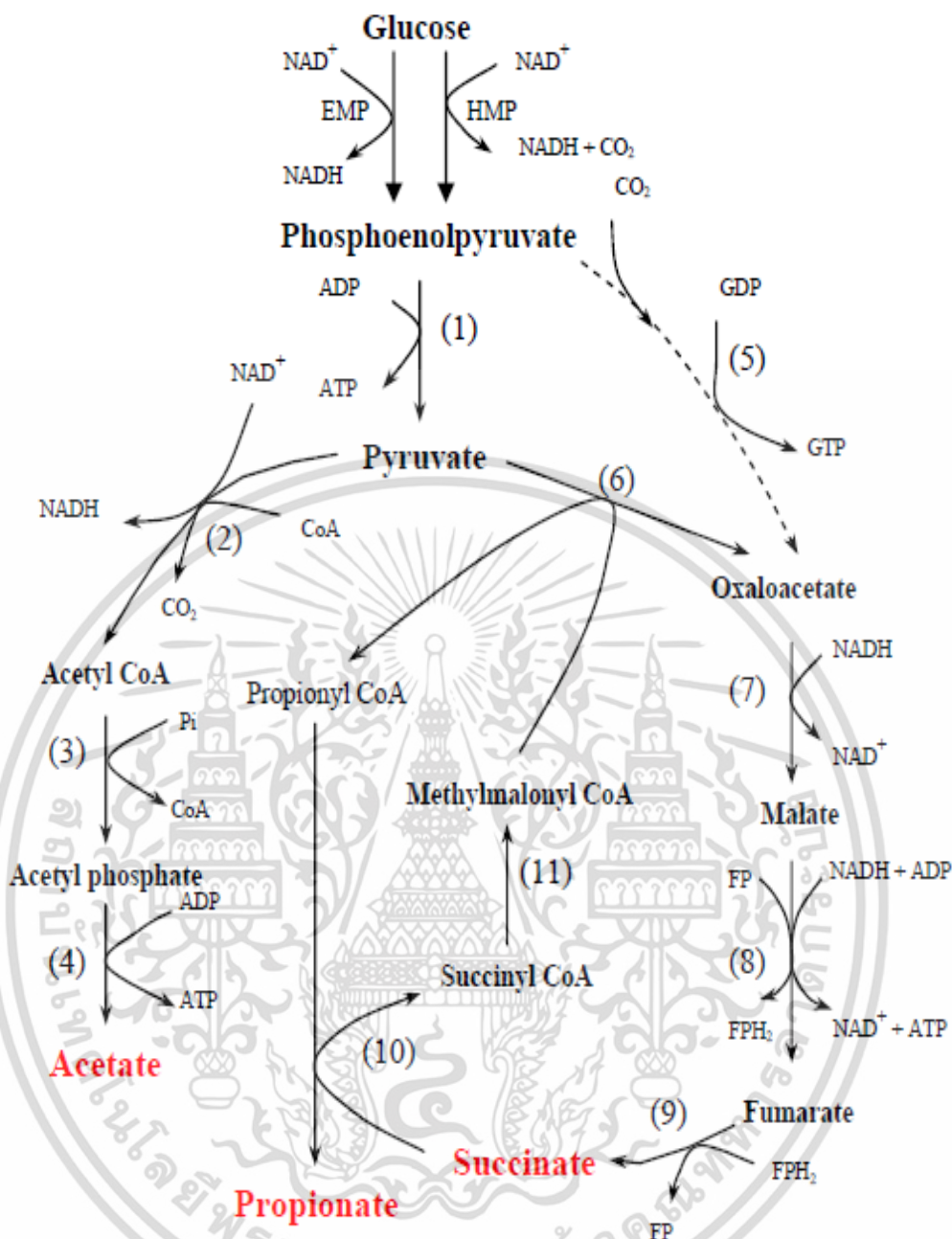
ที่มา : ดัดแปลงจาก Zidwick และคณะ (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตตามทฤษฎีจะได้กรดไพรูวิกไอนิกร้อยละ 54.8 โดยน้ำหนัก และได้ปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 77 จากปฏิกิริยาการเกิดกรดไพรูวิกไอนิกจะเกิดกรดแอสติกเป็นผลพลอยได้เพื่อรักษาไฮโดรเจนและสมดุลรีดอกซ์ วิธีหลักที่จุลินทรีย์ส่วนมากใช้ในการเปลี่ยนแปลงเพื่อผลิตกรดไพรูวิกไอนิก คือ วิถีกรดไดคาร์บอกซิลิก (dicarboxylic acid pathway) หรือวิถีซัคซิเนต (succinate pathway) แสดงดังรูปที่ 2.3 และ 2.4 ส่วนวิถีอะคริลิก (acrylic pathway) ที่มีความจำเพาะแบบที่เรีย 2-3 ชนิดเท่านั้น คือ *Clostridium propionicum*, *Megasphaera elsdenii* และ *Bacteroides ruminicola* (สุขใจ, 2554) แสดงดังรูปที่ 2.5 แบคทีเรียผลิตกรดไพรูวิกไอนิก เช่น *Propionibacterium acidipropionici* และ *Propionibacterium freudenreichii* จะผลิตกรดไพรูวิกไอนิกในวิถีกรดไดคาร์บอกซิลิก โดยมีกรดซัคซิเนตและกรดแอสติกเป็นผลพลอยได้ที่เกิดขึ้น (Wang และคณะ, 2015)

วิถีการสร้างไพรูวิกไอนेट หลังจากทีไพรูเวท (pyruvate) เข้าสู่ Wood-Werkman cycle แล้ว ออกซาโลแอสเตต ทรานคาร์บอกซิเลส (oxaloacetate transcarboxylase) เร่งปฏิกิริยาให้เกิดคู่ โดยเปลี่ยนไพรูเวทไปเป็นออกซาโลแอสเตต (oxaloacetate) และเมทิลมาโลนิล โคเอ (methylmalonyl CoA) ไปเป็น ไพรูวิกไอนิล โคเอ (propionyl CoA) ในระหว่างที่เกิดปฏิกิริยานี้หมู่คาร์บอกซิลถ่ายโอนจาก เมทิลมาโลนิล โคเอ ไปสู่ ไพรูเวท ในรูปแบบของ ไพรูวิกไอนิล โคเอ ต่อมาออกซาโลแอสเตตถูกแปลงเป็น มาเลต (malate) โดยเอนไซม์มาลิก ดีไฮโดรจีเนส (malic dehydrogenase) และจากนั้นมาเลตเปลี่ยนเป็น ฟูมาเรต (fumarate) โดยเอนไซม์ฟูมาเรส (fumarase) ถัดมาเกิดปฏิกิริยาของ ฟูมาเรต เปลี่ยนเป็น ซัคซิเนต ถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ซัคซิเนต ดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase) หลังจากนั้น ซัคซิเนต ถูกแปลงเป็น ซัคซินิล-โคเอ (succinyl CoA) ซึ่งแปลงเป็น เมทิลมาโลนิล โคเอ โดยเมทิลมาโลนิล โคเอ ถูกแปลงเป็น ไพรูวิกไอนิล โคเอ โดย ออกซาโลแอสเตต ทรานคาร์บอกซิเลส ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ในขั้นสุดท้าย ไพรูวิกไอนิล โคเอ เปลี่ยนเป็น ไพรูวิกไอนेट พร้อมกับปฏิกิริยาของซัคซิเนต เป็น ซัคซินิล โคเอ ปฏิกิริยาควบคู่นี้เร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ไพรูวิกไอนิล โคเอ: ซัคซินิล โคเอ ทรานสเฟอเรส (propionyl CoA: succinyl CoA transferase) หลังจาก ไพรูเวท 1 โมล เข้าสู่ Wood-Werkman cycle แล้วจะมีการสร้างไพรูวิกไอนेट 1 โมล,  $\text{NAD}^+$  2 โมล และ ATP 1 โมล (Suwannakham, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

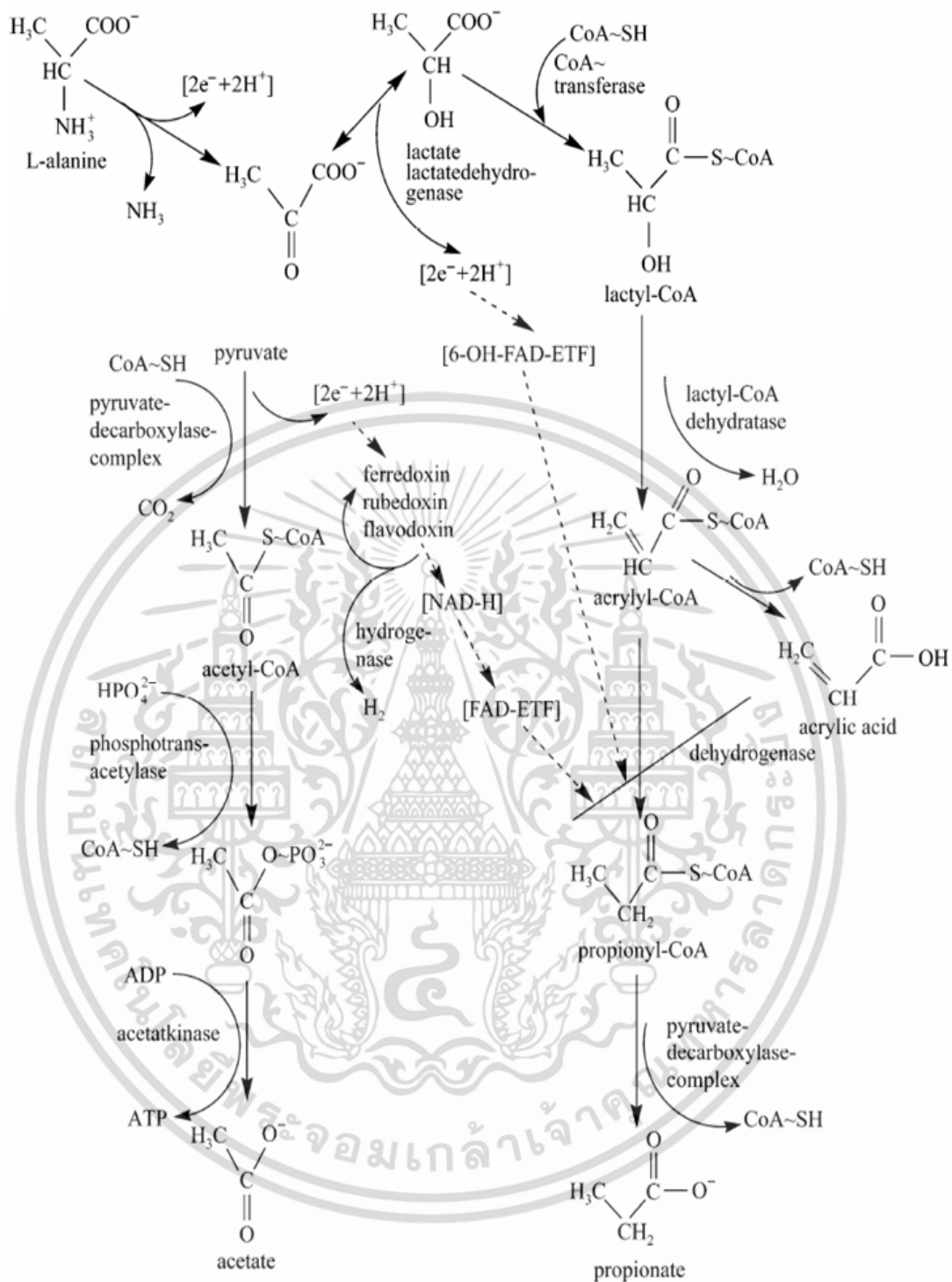


รูปที่ 2.4 วิธีการดัดคาร์บอกซิลิก หรือวิถีซัคซิเนต ของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici*

ตัวเลขแสดงเอนไซม์ดังนี้ (1) Pyruvate kinase; (2) Pyruvate dehydrogenase complex; (3) Phosphotransacetylase; (4) Acetate kinase; (5) PEP carboxylase; (6) Oxaloacetate transcarboxylase; (7) Malic dehydrogenase; (8) Fumarase; (9) Succinate dehydrogenase; (10) Propionyl CoA: succinyl CoA transferase; (11) Methylmalonyl isomerase.

ที่มา : Suwannakham (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 วิถีอะคริลิก (acrylic pathway) ใน *Clostridium propionicum*

ที่มา : Xu และคณะ (2006)

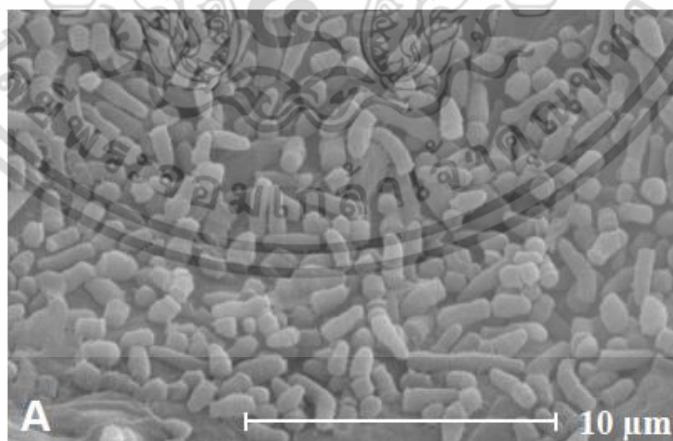
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 จุลินทรีย์ผลิตกรดโพรพิโอนิก

จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดโพรพิโอนิก คือ แบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Propionibacterium* เรียกว่า แบคทีเรียกรดโพรพิโอนิก (propionic acid bacteria) พบครั้งแรกในเนยสวิส (swiss cheese) ผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการหมักจะได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะทำให้เกิดลักษณะรูพรุนในเนยแข็ง (Coral, 2008)

ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียกรดโพรพิโอนิก คือ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างแฟลกเจลลา มีรูปร่างเป็นท่อน การเรียงตัวของเซลล์อาจอยู่เป็นเซลล์คู่หรือเดี่ยว ลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยา (morphology) และขนาดจะแตกต่างกันอย่างชัดเจน ขึ้นอยู่กับระยะของการเจริญเติบโตและสภาพแวดล้อม มีการเจริญแบบแฟกคัลเททีฟ แอนแอโรบ (facultative anaerobe) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส pH 6-7 สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันได้หลายชนิด และสามารถผลิตกรดโพรพิโอนิก กรดแอซิติค กรดซักซินิก และคาร์บอนไดออกไซด์ (Coral และคณะ, 2008)

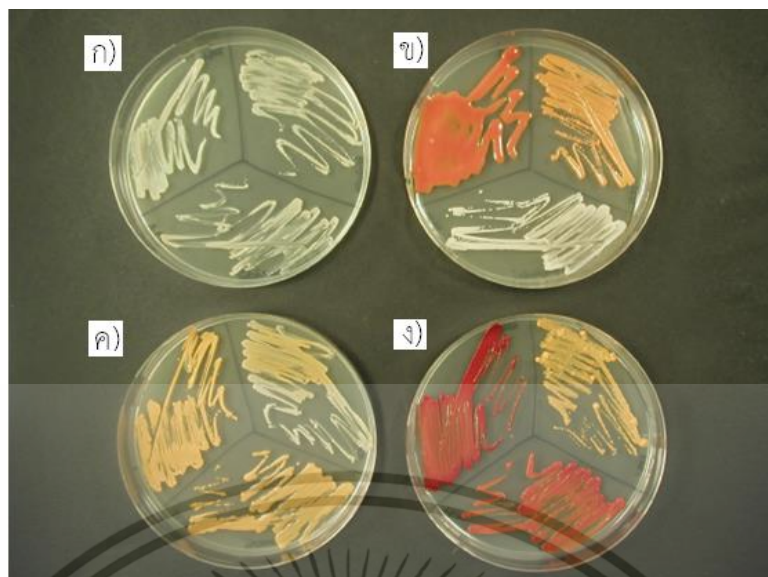
*Propionibacterium acidipropionici* และ *Propionibacterium freudenreichii* เป็นแบคทีเรียสกุล *Propionibacterium* ถูกนำมาใช้ในการผลิตกรดโพรพิโอนิกมากที่สุดในอุตสาหกรรม และ GRAS ได้ให้การยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียที่มีความปลอดภัย (Wallenius และคณะ, 2015) ลักษณะของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ซึ่งเป็นหนึ่งในสายพันธุ์ที่นำมาใช้ผลิตกรดโพรพิโอนิก แสดงดังรูปที่ 2.6 และ 2.7



รูปที่ 2.6 เชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acidipropionici*

ที่มา : Suwannakham (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 แบคทีเรียผลิตกรดไพรูวิกสายพันธุ์ต่างๆ

ก) *Propionibacterium freudenreichii*, ข) *Propionibacterium acidipropionici*,  
 ค) *Propionibacterium jensenii*, ง) *Propionibacterium thoenii*

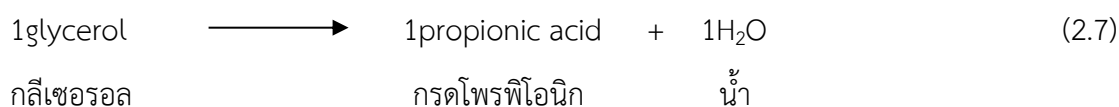
ที่มา : Lind (2010)

## 2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดไพรูวิก

### 2.5.1 แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างกรดอินทรีย์ของแบคทีเรีย โดยแหล่งคาร์บอนจะส่งผลต่อการเมแทบอลิซึมของเซลล์ การผลิตและผลได้ (yield) ของกรดไพรูวิก โดยแบคทีเรียผลิตกรดไพรูวิกสามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด เช่น กลูโคส แล็กโทส ไซโลส ซูโครส กลีเซอรอล หางนม และคาร์โบไฮเดรต (Coral, 2008)

การใช้แหล่งคาร์บอนของแบคทีเรีย *Propionibacterium acidipropionici* เช่น กลูโคสไปเป็นกรดไพรูวิก และกรดแอสติก ดังแสดงในสมการ 2.6 นอกจากนี้เชื้อ *P. acidipropionici* ยังสามารถนำกรดแลกติกและกลีเซอรอล มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อผลิตกรดไพรูวิกและกรดแอสติกได้ ดังสมการที่ 2.5 และ 2.7 ตามลำดับ (Zidwick และคณะ, 2013)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Goswami และ Srivastava (2000) ศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* สายพันธุ์ ATCC 4875 ใช้แล็กโทสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีปริมาณเริ่มต้น 47.7 กรัมต่อลิตร pH 6.5 และควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบสภาพการหมักแบบกะ และกึ่งกะ พบว่าเชื้อ *P. acidipropionici* ในสภาพการหมักแบบกึ่งกะสามารถให้อัตราการผลิต (productivity) ของกรดโพรพิโอนิกเพิ่มขึ้นเป็น 0.4 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Liu และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิก จากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ กลีเซอรอล กลูโคส และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกลีเซอรอลและกลูโคส อัตราส่วน 4:1 โมลต่อโมล โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* สายพันธุ์ ATCC 4965 ใน glass bioreactor วิธีการหมักแบบกึ่งกะ ที่อุณหภูมิการหมัก 30 องศาเซลเซียส pH 6.5 อัตราการกวน 150 รอบต่อนาที พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคส สามารถให้ผลผลิตของกรดโพรพิโอนิกดีกว่า การใช้แหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว โดยให้ผลได้ของกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ 0.572 กรัมต่อกรัม และผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงสุดที่ 21.9 กรัมต่อลิตร

Kośmider และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ โดยนำกลีเซอรอลบริสุทธิ์ กลีเซอรอลดิบ (crude glycerol) และหางนม มาใช้สำหรับกระบวนการหมักจากเชื้อ *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* นั้น แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการนำของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม เช่น กลีเซอรอล และ แล็กโทสจากหางนม มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับผลิตกรดโพรพิโอนิก

## 2.5.2 แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นปัจจัยที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการผลิตกรดโพรพิโอนิก เนื่องจากไนโตรเจนถูกใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต และสารชนิดอื่นๆ แหล่งไนโตรเจนสำหรับกระบวนการหมัก ได้แก่ เกลืออนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมไนเตรต และสารประกอบอินทรีย์ เช่น ซอยเพปโตน, สารสกัดยีสต์ เป็นต้น

Kagliwal และคณะ (2013) ศึกษากระบวนการหมักกรดโพรพิโอนิกจากแป้งข้าวสาลี และแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ ยีสต์สกัด ซอยเพปโตน และแอมโมเนียมซัลเฟต โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* NRRL B 3569 ใช้เอนไซม์อะไมเลสในการไฮโดรไลซิสแป้งข้าวสาลี พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 90 กรัมต่อลิตร และเมื่อเสริมด้วยยีสต์สกัด 15 กรัมต่อลิตร จะสามารถผลิตกรดโพรพิโอนิกได้ปริมาณสูงสุดที่ 48.61 กรัม, กรดแอสติค 9.40 กรัม และกรดซัคซินิก 11.06 กรัม

Dishisha และคณะ (2013) ศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิก โดยใช้กลีเซอรอลซึ่งได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอน และน้ำมันฝรั่ง (potato juice) ซึ่งเป็นผลพลอยได้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกระบวนการผลิตแป้งในอุตสาหกรรมเป็นแหล่งไนโตรเจนและวิตามิน โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* DSM 4900 ใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องและเพาะเลี้ยงแบบหมุนเวียนเซลล์ (cell recycle) เพื่อให้ได้ความหนาแน่นของเซลล์สูง จากการศึกษาพบว่าการใช้กลีเซอรอลร่วมกับน้ำมันฝรั่ง สามารถใช้เป็นทางเลือกสำหรับนำมาเป็นแหล่งวิตามิน ไนโตรเจน และช่วยลดค่าใช้จ่าย เนื่องจากน้ำมันฝรั่งมีราคาถูก

### 2.5.3 โคแฟกเตอร์

โดยทั่วไปการทำงานของเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิตจำเป็นต้องอาศัยโคแฟกเตอร์เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาการสร้างกรดไพรูวิก โคแฟกเตอร์ที่ใช้ในการผลิตกรดไพรูวิกในอาหารส่วนใหญ่คือ แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4$ ) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ ) ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) โคบอลต์คลอไรด์ ( $CO_2Cl_2$ ) แมงกานีสซัลเฟต ( $MnSO_4$ ) แคลเซียมคลอไรด์ ( $CaCl_2$ )

Quesada-Chanto และคณะ (1994) ศึกษาการผลิตกรดไพรูวิกและวิตามินบี 12 โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* พบว่าอาหารที่ใช้หมักมีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อ โดยเติม เฟอร์รัสซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต 1.5 มิลลิกรัม, โคบอลต์ไอออน 0.75 มิลลิกรัม, 5,6-ไดเมทิลเบนซิมิดาโซล 0.3 มิลลิกรัม และยีสต์สกัด 12 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารหมักซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

### 2.5.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียผลิตกรดไพรูวิก ขึ้นอยู่กับค่า pH ที่เหมาะสมเช่นเดียวกับแบคทีเรียผลิตกรดชนิดอื่นๆ ช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตกรดไพรูวิกของ *Propionibacterium* อยู่ระหว่าง 6.0-7.0 (Quesada-Chanto และคณะ, 1997)

### 2.5.5 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกหนึ่งปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และกระบวนการผลิตกรดไพรูวิก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน (Quesada-Chanto และคณะ, 1997) โดยทั่วไปแบคทีเรียในสกุล *Propionibacteria* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตประมาณ 30 องศาเซลเซียส

Coral และคณะ (2008) ศึกษาการผลิตกรดไพรูวิก จากอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมแหล่งคาร์บอนราคาถูก แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ แลคเตท (lactate) กลีเซอรอล และกากน้ำตาล โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* สายพันธุ์ ATCC 4965 ในสภาวะการหมักแบบกะ pH เริ่มต้น 6.8 แต่ในการหมักไม่มีการควบคุม pH ที่อุณหภูมิการหมัก 30 และ 36 องศาเซลเซียส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาหมัก 144 ชั่วโมง ผลของการศึกษาพบว่า *P. acidipropionici* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถผลิตกรดโพรพิโอนิก ได้สูงสุดที่ 7.55 กรัมต่อลิตร

แบคทีเรียผลิตกรดโพรพิโอนิกมีความอ่อนไหวต่อ pH ในการทดลองจึงจำเป็นต้องควบคุม pH เนื่องจากที่ pH ต่ำกว่า 5.0 จะทำให้แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย ดังนั้นทั้งอุณหภูมิ และ pH จึงเป็นปัจจัยที่กำหนดผลได้ของกรด

### 2.5.6 การให้อากาศ

การผลิตกรดโพรพิโอนิกจะมีประสิทธิภาพมากที่สุดในสภาวะไม่มีอากาศ องค์ประกอบของการให้อากาศมีผลต่อการสังเคราะห์สารเมแทบอไลต์

Quesada-Chanto และคณะ (1994) ศึกษาการให้อากาศในการผลิตกรดโพรพิโอนิกและวิตามินบี 12 โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Propionibacterium acidipropionici* NRRL B3569 จากชูโครส พบว่ากระบวนการหมักต้องการสภาวะที่แตกต่างกัน ประสิทธิภาพในการผลิตกรดโพรพิโอนิกดีที่สุดในสภาวะ ไม่มีอากาศ (anaerobic) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในขณะที่เพิ่มอัตราการให้อากาศ (aerobic) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิตวิตามินบี 12 และกรดแอสติกเพิ่มมากขึ้น

### 2.5.7 แคลเซียมคาร์บอเนต ( $\text{CaCO}_3$ )

การเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงในอาหารที่ใช้หมักเพื่อควบคุมค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ให้ลดต่ำลงมาก เพื่อทำให้การผลิตกรดโพรพิโอนิกผลิตได้สมบูรณ์มากขึ้น

สุรนารถ (2550) ศึกษาผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตที่เหมาะสมในการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากหางนม ในการหมักแบบกะ โดยใช้เชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนต ให้ผลผลิตกรดโพรพิโอนิก 20.66 กรัมต่อลิตร สูงกว่าอาหารที่ไม่เติมแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งให้ผลผลิต 11.30 กรัมต่อลิตร และปริมาณกรดโพรพิโอนิกจากอาหารที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1, 1.5, 2 และ 2.5 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

พรวิสาข์ (2551) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยการตรึงเซลล์เชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 ด้วยแคลเซียมอัลจินต ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้หางนมเป็นแหล่งคาร์บอนและเติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 ลงในอาหารที่ใช้หมัก พบว่าที่ระยะเวลาการหมัก 216 ชั่วโมงให้ปริมาณกรดโพรพิโอนิกสูงสุดรวม 24.05 กรัมต่อลิตร

Liu และคณะ (2012) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากไฮโดรไลเสท (hydrolysates) ของเอมิเซลลูโลสเพื่อผลิตกรดโพรพิโอนิก โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 ใช้วิธีการหมักแบบกะ ไม่มีการกวน ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส และเติมแคลเซียมคาร์บอเนต 1 กรัม ลงในอาหารหมักเพื่อควบคุม pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักกรดโพรพิโอนิกทางชีวภาพ มีดังนี้

Barbirato และคณะ (1997) ศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเชื้อจุลินทรีย์สามสายพันธุ์คือ *Propionibacterium acidipropionici*, *P. acnes* และ *Clostridium propionicum* มีปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อใช้ *P. acidipropionici* ได้กรดโพรพิโอนิก 0.844 โมลต่อโมล และผลพลอยได้คือ กรดซัคซินิก 0.055 โมลต่อโมล, กรดแอสติก 0.023 โมลต่อโมล, กรดฟอร์มิก 0.020 โมลต่อโมล และ *n*-โพรพานอล 0.036 โมลต่อโมล อัตราการผลิต 0.18 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Chen และคณะ (2012) ศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยถังหมักแบบ plant fibrous-bed (PFB) ในสภาวะการหมักแบบกะ แบบกึ่งกะ เซลล์อิสระและเซลล์ตรึง โดยเชื้อ *Propionibacterium freudenreichii* สายพันธุ์ CCTCC M207015 โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยสภาวะการหมักแบบกะมีปริมาณกลูโคสเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร และแบบกึ่งกะมีปริมาณกลูโคสเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร ควบคุม pH ที่ 6.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สภาวะไร้อากาศ พบว่าเมื่อใช้สภาวะการหมักแบบกึ่งกะ เซลล์ตรึง สามารถลดการเกิดผลพลอยได้ และให้ความเข้มข้นกรดโพรพิโอนิกสูงสุดที่  $136.23 \pm 6.7$  กรัมต่อลิตร ภายหลังการหมักเป็นเวลา  $240 \pm 11$  ชั่วโมง

กระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดโพรพิโอนิก แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิต แสดงดังตารางที่ 2.3

**ตารางที่ 2.3** กระบวนการหมักเพื่อการผลิตกรดไพรูวิก

สายพันธุ์	กระบวนการผลิต	แหล่งคาร์บอน	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกรดไพรูวิก (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิต (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	ผลได้ของผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อกรัม)	เอกสารอ้างอิง
<i>P. acidipropionici</i> ATCC 25562	Batch	กลูโคส	60-80	11.9	0.17	0.59	Barbato และคณะ (1997)
		กลีเซอรอล	60-80	13.6	0.18	0.68	
		กรดแลกติก	60-80	12.3	0.17	0.61	
<i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965	CSTR	หางนม (แล็กโทส)	950	35	0.65	0.54-0.62	Colomban และคณะ (1993)
<i>P. acidipropionici</i> DSM 8250	CSTR	ซูโครส	>336	3.0-16.2	3.0-8.0	0.4	Quesada-Chanto และคณะ (1994)
		กากน้ำตาล	>336	17.7	4.4	0.5	
<i>P. thoenii</i> NCDO1082	CSTR	กลีเซอรอล	300	10	1.0	>0.5	Boyaval และคณะ (1994)
<i>P. acidipropionici</i> P200910	เซลล์ตรึง : แคลเซียมอัลจิเนต (fed batch)	กลูโคส	250	57	0.23	0.57	Paik และ Glatz (1994)
		น้ำเข้าไพอต	250	45.6	0.18		

(CSTR : continuously stirred tank reactor, perm : Permeate)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Zidwick และคณะ (2013)

**ตารางที่ 2.3** กระบวนการหมักเพื่อการผลิตกรดไพรูวิก (ต่อ)

สายพันธุ์	กระบวนการผลิต	แหล่งคาร์บอน	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกรดไพรูวิก (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิต (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	ผลได้ของผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อกรัม)	เอกสารอ้างอิง
<i>P. acidipropionici</i> ATCC4875	เซลล์ตรึง: fibrous bed bioreactor (continuous)	แล็กโทส (42 กรัมต่อลิตร) (in whey perm.)	4 เดือน	20	0.38	0.48	Yang และคณะ (1994)
<i>P. acidipropionici</i> and <i>S. lactis</i> OSU 588	เซลล์ตรึง: fibrous bed bioreactor (continuous)	แล็กโทส (45 กรัมต่อลิตร) (in whey perm.)	4 เดือน	22	0.32	0.49	Yang และคณะ (1994)
<i>P. thoenii</i> P20	Hollow fiber membrane	กลูโคส (75 กรัมต่อลิตร)	200	71	0.4-0.6	0.5-0.6	Gu และคณะ (1999)

(CSTR : continuously stirred tank reactor, perm : Permeate)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Zidwick และคณะ (2013)

## 2.6 ปาล์มน้ำมัน

Common name : ปาล์มน้ำมัน (oil palm)

Scientific name : *Elaeis guineensis* Jacq.

Family : Palmae หรือ Recaceae

Genus : *Elaeis*

Species : *guineensis*

### 2.6.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และองค์ประกอบทางเคมีของปาล์มน้ำมัน

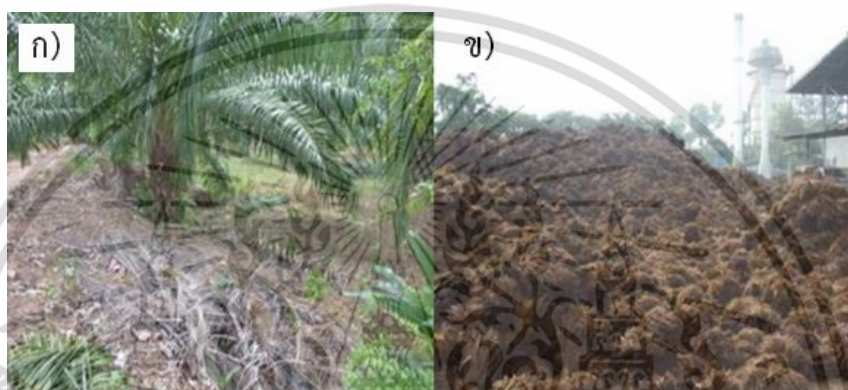
ปาล์มน้ำมัน จัดอยู่ในพืชในตระกูลปาล์มเช่นเดียวกับ มะพร้าว หมาก ตาล ปาล์มน้ำมัน เป็นพืชยืนต้นใบเลี้ยงเดี่ยว ลำต้นของปาล์ม มีลักษณะ ตั้งตรง ไม่มีกิ่งแขนง ขนาดลำต้นประมาณ 12 -20 นิ้ว ลำต้นจะถูกหุ้มด้วยโคนกาบใบ ลักษณะใบเป็น รูปก้างปลา โคนกาบใบจะมีลักษณะเป็นซี่ ปาล์มน้ำมันเป็นพืชสมบูรณเพศ โดยมีดอกตัวเมียและดอกตัวผู้แยกช่อดอก อยู่ในต้นเดียวกัน (ธีระพงษ์, 2555) ปาล์มน้ำมันมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา มีการนำเข้ามาปลูกในประเทศไทยมานานกว่า 60 ปี เพื่อส่งเสริมการปลูกพืชชนิดอื่น เพื่อเป็นทางเลือกหรือทดแทนการปลูกยางพารา จนปัจจุบันปาล์มน้ำมันกลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง

ปาล์มน้ำมันให้ผลผลิตเป็นทะลายปาล์ม โดยสามารถให้ผลผลิตทะลายสดได้ตลอดทั้งปี การเก็บเกี่ยวจะเริ่มจากปาล์มมีอายุ 30 เดือน หลังจากปลูกและสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้นานกว่า 20 ปี ทะลายปาล์มน้ำมัน ประกอบด้วย ก้านทะลาย ช่อทะลายย่อย และผล ในแต่ละทะลายมีน้ำหนักผลประมาณร้อยละ 45-80 โดยส่วนใหญ่ผลและเมล็ดของปาล์มน้ำมันนำมาสกัดน้ำมันที่ใช้ประกอบอาหาร เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่อเนื่องต่างๆ รวมถึงใช้เป็นส่วนผสมเพื่อผลิตพลังงานทดแทน เช่น ไบโอดีเซล

ในโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มก่อให้เกิดวัสดุเศษเหลือในรูปแบบของแข็งจำนวนมาก ได้แก่ ทะลายปาล์มเปล่า (oil palm empty fruit bunches), เส้นใยปาล์ม (palm pericarp fiber), กะลาปาล์ม (palm shell), กากเนื้อผลปาล์ม (palm kernel cake), กากตะกอนสลัดจ์ (sludge) และของเหลวส่วนน้ำทิ้ง (palm oil mill effluent, POME) ซึ่งความแตกต่างของเศษเหลือจะขึ้นอยู่กับคุณภาพของวัตถุดิบ (ปิยะนุช, 2557)

ทะลายปาล์มเปล่า เป็นส่วนของทะลายหลังจากการสลัดผลปาล์มออกหมดแล้ว โดยเป็นวัสดุเหลือใช้จากกระบวนการผลิตในโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม แสดงดังรูปที่ 2.8 ในอดีตทะลายปาล์มเปล่า ก่อให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นที่วางไข่ของด้วงแรด และการเผาทะลายปาล์มทำให้อากาศเป็นพิษและเป็นอันตรายต่อสุขภาพของประชาชน การนำทะลายปาล์มเปล่าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่คุ้มค่าใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาก เนื่องจากมีความชื้นสูง ปัจจุบันนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตก๊าซชีวภาพ ส่วนกากแห้งจะนำไปเป็นเชื้อเพลิงสำหรับหม้อไอน้ำในโรงงาน ใช้เป็นวัสดุคลุมดินในสวนปาล์มเพื่อช่วยเพิ่มอินทรีย์วัตถุให้แก่ดิน หรือนำไปใช้เป็นวัสดุในการเพาะเห็ดฟาง เนื่องจากทะลายปาล์มมีเส้นใยที่เหนียวและมีปริมาณธาตุอาหารสูง โดยทะลายปาล์มสด มีความชื้นประมาณร้อยละ 58.60 (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2553) ทะลายปาล์มเปล่า ประกอบด้วยสารประเภทลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เซลลูโลสร้อยละ 30-40 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-30 และลิกนินร้อยละ 20-30 (Tan และคณะ, 2013)



รูปที่ 2.8 ก) ต้นปาล์ม, ข) ทะลายปาล์มเปล่า  
ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2553)

ปิยะนุช (2557) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพทะลายปาล์ม โดยใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดซัลฟิวริก และน้ำ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้ได้น้ำตาลไซโลส พบว่าทะลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 10 โดยปริมาตร ให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที ได้น้ำตาลไซโลสปริมาณสูงสุดคือ 40.08 กรัมต่อลิตร และสำหรับสภาวะที่ให้น้ำตาลกลูโคสสูงสุดคือทะลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 6 โดยปริมาตร ให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที ได้น้ำตาลกลูโคสปริมาณสูงสุดคือ 16.25 กรัมต่อลิตร

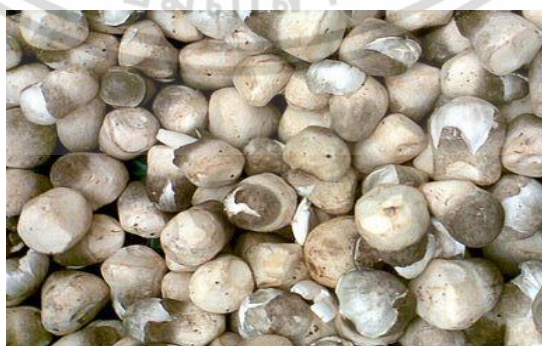
Duangwang และ Sangwichien (2015) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากทะลายปาล์มเปล่าซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากสวนปาล์มน้ำมัน โดยการปรับสภาพทะลายปาล์มเปล่าด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อการผลิตเอทานอลจากยีสต์ (baker's yeast) และลูกแป้ง พบว่าทะลายปาล์มขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร เมื่อใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อัตราส่วน 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เวลา 40 นาที เป็นเวลาที่ดีที่สุดในการปรับสภาพ ทำเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ได้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดที่ร้อยละ 61.94 โดยน้ำหนักแห้ง และไฮโดรไลซิสต่อด้วยกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 7 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 119 องศาเซลเซียส เวลา 110 นาที จะได้ปริมาณ น้ำตาลกลูโคสสำหรับการหมักเอทานอลเท่ากับ 33.45 กรัมต่อลิตร

Kim และ Kim (2013) รายงานการผลิตเอทานอลจากทะเลสาบปลาแปล่า ว่าทะเลสาบปลาแปล่ามี ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินสูง จึงใช้กรดซัลฟิวริกเพื่อกำจัดเฮมิเซลลูโลส และโซเดียมไฮ-ดรอกไซด์ในการกำจัดลิกนิน (delignification) ในการปรับสภาพ ก่อนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ เซลลูเลส กระบวนการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* W303-1A สามารถผลิตเอทานอลได้ 37.8 กรัมต่อลิตร

## 2.7 การเพาะเลี้ยงเห็ดฟาง

เห็ดฟาง (paddy straw mushroom หรือ straw mushroom) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Volvariella volvaceae* จัดว่าเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่คนไทยรู้จักและคุ้นเคยมานาน ได้รับความนิยม และมีการบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย ใช้เวลาในการเพาะเพียง 7-10 วัน ทำได้ตลอดทั้งปี ไม่มีการใช้สารฆ่าแมลง ให้ผลผลิตเร็วและสามารถใช้วัสดุเพาะทดแทนได้ หลายชนิด เห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีน แกลีอแร่ วิตามิน และมีไขมันต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับพืชผักชนิดต่างๆ จึงเหมาะกับผู้ที่ต้องการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ แทนเนื้อสัตว์ เพื่อป้องกันไขมัน อุดตันในเส้นเลือด นอกจากนี้พบว่าเห็ดฟางยังมีสรรพคุณทางยา มี สารจำพวก Cardiotoxic protein ที่เรียกว่า Volvatoxins ซึ่งมีคุณสมบัติ ในการป้องกันการ เจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งต่อต้านเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดไข้หวัดใหญ่ ลดไขมันในเส้นเลือด บำรุงกำลัง แก้ไข้ใน บำรุงตับ อีกทั้งยังลดการติดเชื้อ สมานแผล รักษาโรคกลากปิดลักเปิดและโรคเหียงอกได้ (สุทธิชัย, 2555) แสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 เห็ดฟาง

ที่มา : <https://sportahealth.com> (สืบค้นข้อมูลวันที่ 28 มีนาคม 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็ดฟางสามารถเจริญในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีเซลลูโลสปริมาณมาก (Onuoha และคณะ, 2009) เห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีอัตราการเจริญเติบโตและใช้พลังงานในการดำรงชีพสูงกว่าเห็ดชนิดอื่น แต่เห็ดฟางมีความสามารถในการย่อยเซลลูโลสและลิกนินได้น้อย (กองบรรณาธิการเฉพาะกิจสำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม, 2541)

เห็ดฟางสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่สำคัญๆ ได้แก่ endoglucanases, cellobiohydrolases,  $\beta$ -glucosidases เป็นต้น แต่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ย่อยลิกนิน (ligninolytic enzyme) ได้เพียงแคเอนไซม์ laccases เท่านั้น ดังนั้นเห็ดฟางจึงเจริญได้ดีในวัสดุเพาะที่มีเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ เช่น เศษฝ้าย และฟางข้าว แต่การเจริญเติบโตของเห็ดฟางในวัสดุเพาะที่เป็นเนื้อไม้ เช่น ขี้เลื่อย จะแตกต่างจากเห็ดในกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์ลิกนิโนไลติก เพอร์ออกซิเดส (ligninolytic peroxidases) ซึ่งได้แก่ เห็ดหอม และเห็ดในสกุลนางรม เป็นต้น (Buswell, 2014) และเมื่อนำองค์ประกอบทางเคมีของทะเลลายปาล์มก่อนและหลังการเพาะเห็ดฟางมาเปรียบเทียบกัน จะเห็นได้ว่าทะเลลายปาล์ม หลังจากการเพาะเห็ดฟางมีปริมาณเซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส และลิกนินแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังแสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของทะเลลายปาล์มก่อนและหลังการเพาะเห็ดฟาง

(ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)			
	ทะเลลายปาล์มก่อนการเพาะเห็ดฟาง		ทะเลลายปาล์มก่อนการเพาะเห็ดฟาง
เซลลูโลส	30-40	39.8	39.99
เฮมิเซลลูโลส	20-30	17.3	17.24
ลิกนิน	20-30	28.8	19.48
ที่มา	Tan และคณะ (2013)	Kim และคณะ (2013)	ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์

ลักษณะของการเพาะเห็ดฟางมีอยู่หลายรูปแบบ เช่น การเพาะเห็ดฟางแบบกองสูง แบบกองเตี้ย แบบโรงเรือนหรืออุตสาหกรรม การเพาะเห็ดฟางในตะกร้า เป็นต้น ปัจจุบันการเพาะเห็ดฟางนิยมใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่สามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่น เช่น ฟางข้าว เปลือกถั่ว เปลือกมันสำปะหลัง ต้นกล้วย ทะลายปาล์มเปล่า ผักตบชวา ขี้เลื่อย ขี้ฝ้าย ใสนุ่น เป็นต้น มาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิต และหลังจากที่เห็ดฟางให้ผลผลิตจนหมดแล้ว ยังสามารถนำวัสดุเพาะเลี้ยงไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ต่อไปได้

การเพาะเห็ดฟางจากทะเลลายปาล์ม โดยนำทะเลลายปาล์มมาหมักน้ำเปล่าในบ่อซีเมนต์ 3-4 วัน เพื่อลดกรดไขมันและสารเคมีที่อาจระคายเคือง ทะลายปาล์มที่หมักมากองและรดน้ำเพื่อล้างอีกครั้ง จากนั้นนำไปเรียงบนชั้นวางในโรงเพาะเห็ดฟาง อบไอน้ำเข้าในโรงเรือนประมาณ 4 ชั่วโมง เพื่อกำจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราต่างๆ จากนั้นปล่อยให้ทิ้งไว้ 1 วันเพื่อให้อุณหภูมิปกติแล้วจึงใส่เชื้อเห็ดฟางทิ้งไว้ประมาณ 10-12 วัน จึงสามารถเก็บผลผลิตเห็ดรุ่นแรกได้ การใช้ประโยชน์จากทะเลลายปาล์มเปล่าที่เหลือทิ้งหลังจากการหีบน้ำมันเป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเห็ดฟางแสดงดังรูปที่ 2.10

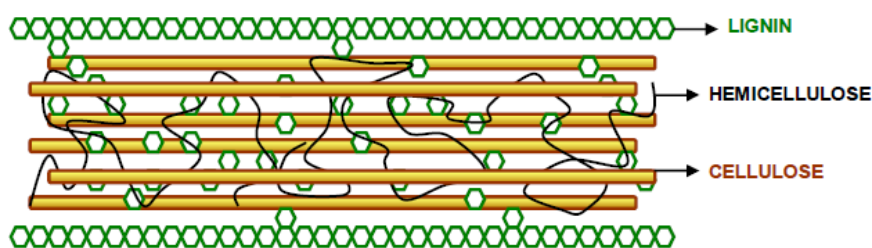


รูปที่ 2.10 ก) การเพาะเลี้ยงเห็ดฟางจากทะเลลายปาล์มเปล่า  
ข) ทะเลลายปาล์มเปล่าที่เหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดฟาง

## 2.8 องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส

ชีวมวล (biomass) ส่วนใหญ่เป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบหลัก แสดงดังรูปที่ 2.11 พอลิเมอร์ทั้ง 3 ชนิดประกอบและยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและแรงแวนเดอวาล์ (van der waals) ทำให้มีความแข็งแรง ซึ่งมีมากกว่าร้อยละ 90 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์พืช ซึ่งปริมาณของพอลิเมอร์แต่ละชนิดจะเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับชนิดของพืช อายุ และส่วนต่างๆ ของพืช โดยทั่วไปในพืชประเภทไม้เนื้ออ่อนจะมีปริมาณลิกนินมากกว่าไม้เนื้อแข็ง (สุขใจ, 2554) นอกจากนี้วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสยังประกอบด้วยสารอื่นๆ เช่น เพคติน โปรตีน และอื่นๆ อีกเล็กน้อย ตัวอย่างของวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ชี้อ้อย จากอุตสาหกรรมป่าไม้ ของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตกระดาษ ของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร หญ้า ฟางข้าว ชานอ้อย แกลบ ชังข้าวโพด เป็นต้น ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส แสดงดังตารางที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 โครงสร้างและส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลส  
ที่มา : Mussatto และ Teixeira (2010)

ตารางที่ 2.5 ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส

วัสดุลิกโนเซลลูโลส	เซลลูโลส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ลิกนิน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ฟางข้าวบาร์เลย์	33.8	21.9	13.8
ซังข้าวโพด	33.7	31.9	6.1
ต้นข้าวโพด	35.0	16.8	7.0
ก้านฝ้าย	58.5	14.4	21.5
ฟางข้าวโอ๊ต	39.4	27.1	17.5
ฟางข้าว	36.2	19.0	9.9
ชานอ้อย	40.0	27.0	10.0
ต้นทานตะวัน	42.1	29.7	13.4
ฟางข้าวสาลี	32.9	24.0	8.9
กระดาษหนังสือพิมพ์	40-55	25-40	18-30
ลำต้นไม้เนื้อแข็ง	40-55	24-40	18-25
ลำต้นไม้เนื้ออ่อน	45-50	25-35	25-35
หญ้า	25-40	35-50	10-30
ใบไม้	15-20	80-85	0
กระดาษ	85-99	0	0-15

ที่มา : ดัดแปลงจาก Mussatto และ Teixeira (2010); Verardi และคณะ (2012); สุขใจ (2554)

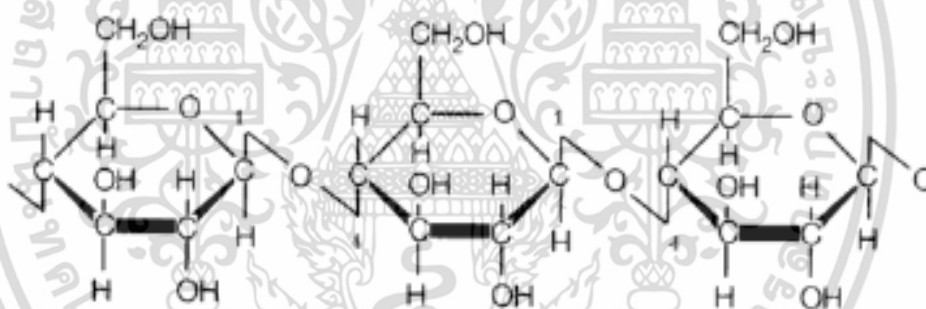
### 2.8.1 เซลลูโลส

เซลลูโลส (cellulose)  $[C_6(H_2O)_5]_n$  องค์ประกอบที่พบมากในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส เป็นคาร์โบไฮเดรต ประเภทโมโนพอลิแซ็กคาไรด์ (monopolysaccharide) พอลิเมอร์เซลลูโลสคือ สายของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -(1,4) glycosidic หรือ  $\beta$ -(1,4) glucopyranosyl พอลิเมอร์ของกลูโคสต่อกันเป็นเส้นสายยาวไม่มีกิ่งก้าน แสดงดังรูปที่ 2.12 โดยมีหน่วยซ้ำๆ เรียกว่า เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น เมื่อผู้ถ่ายทอดเนื้อหาไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลโลไบโอส (cellobiose) ซึ่งทำหน้าที่เป็นหน่วยโครงสร้างของสายพอลิเมอร์เซลลูโลสมีลักษณะราบ ไม่มีกิ่งก้าน รูปร่างคล้ายริบบิ้น (สุขใจ, 2554) ในไมโครไฟบริล (microfibrils) มีความแข็งแรงเกิดจากพันธะไฮโดรเจนและแวนเดอร์วาลส์ ภายในและระหว่างโมเลกุล (Verardi และคณะ, 2012)

โดยทั่วไปในธรรมชาติเส้นสายของเซลลูโลส (cellulose fibrils) พบได้ 2 แบบ คือ ส่วน crystalline เป็นบริเวณโครงสร้างที่เป็นระเบียบและส่วน amorphous เป็นบริเวณที่โครงสร้างไม่เป็นระเบียบ ซึ่งเซลลูโลสที่ได้จากธรรมชาติจะมีปริมาณ amorphous แตกต่างกันไป โครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกจะเป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำและทนต่อการย่อยสลาย แต่ส่วนที่เป็น amorphous มีความไวต่อสารเคมีและเอนไซม์มากกว่าจึงเป็นส่วนที่ถูกย่อยได้ง่าย (สุขใจ, 2554)

เซลลูโลสไม่ละลายน้ำและร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ แต่กระเพาะของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น วัว ควาย สัตว์มีกีบเท้า และแบคทีเรียบางชนิด ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสเป็นกลูโคสได้ โดยเซลลูโลสจะสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ และสามารถแตกตัวออกเป็นหน่วยของกลูโคสได้ โดยการเตรียมทางเคมีใช้กรดเข้มข้นและอุณหภูมิสูง (ปิยะนุช, 2557)



รูปที่ 2.12 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสที่ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วย  $\beta$ -(1,4) glycosidic  
ที่มา : รัชพล (2558)

### 2.8.2 เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose)  $[C_5(H_2O)_4]_n$  หรือ  $[C_6(H_2O)_5]_n$  เป็นองค์ประกอบชนิดหนึ่งที่พบในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) จัดเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) ประกอบด้วยพอลิเมอร์ชนิดต่างๆที่มีความซับซ้อน เป็นโครงสร้างสายโซ่หลักที่เหมือนกับเซลลูโลสแต่มีโครงสร้างที่เป็นสายกิ่งมาก ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดได้แก่ เพนโทสและเฮกโซสชนิดต่างๆ หลายชนิดผสมกัน เช่น กลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซโลส แมนโนส อะราบิโนส กาแล็กโทส เป็นต้น เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ โครงสร้างอย่างง่ายของเฮมิเซลลูโลส 3 ชนิด แสดงดังรูปที่ 2.13

เฮมิเซลลูโลสจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ พบมากในเปลือกไม้เนื้อแข็ง พืชตระกูลหญ้า ไม่ละลายน้ำ ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว เนื่องจากไม่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยเฮมิเซลลูโลสได้ สมบัติทางกายภาพที่สำคัญคือเฮมิเซลลูโลสมีความสามารถในการอุ้มน้ำและการแลกเปลี่ยนไอออนประจุบวกเมื่ออยู่ในลำไส้ของมนุษย์ เฮมิเซลลูโลสสามารถละลายได้ในสารละลายต่างเจือจาง (ปิยะนุช, 2557)



รูปที่ 2.13 โครงสร้างอย่างง่ายของเฮมิเซลลูโลส

- ก) โครงสร้างของกาแล็กโทกลูโคแมนแนนในไม้เนื้ออ่อน,  
 ข) โครงสร้างของอะรานิโนกลูคูโรโนไซแลนในไม้เนื้ออ่อน,  
 ค) โครงสร้างของกลูคูโรไซแลนในไม้เนื้อแข็ง

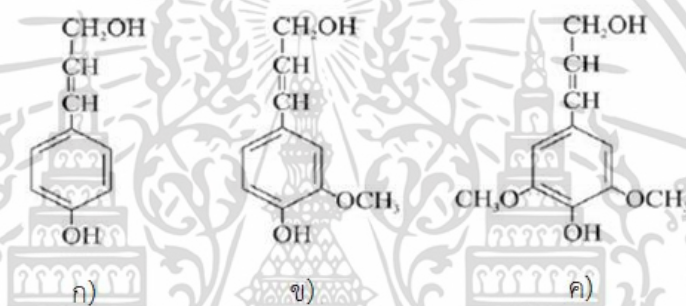
ที่มา : ดัดแปลงจาก สุขใจ (2554)

### 2.8.3 ลิกนิน

ลิกนิน (lignin)  $(C_{10}H_{12}O_4)_n$  เป็นพอลิเมอร์ตามธรรมชาติที่มีโครงสร้างซับซ้อนมากพบในผนังเซลล์ของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ พบในปริมาณที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ทำให้นเนื้อเยื่อไม้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น โดยกระบวนการ lignification ซึ่งเป็นกระบวนการเพิ่มจำนวนลิกนิน เพื่อเติมเต็มช่องว่างระหว่างเส้นใยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสของผนังเซลล์พืช ลิกนินเป็นเอกสารนี้อะโรมาติกพอลิเมอร์ (aromatic polymer) ที่มีโมเลกุลที่ซับซ้อนมาก (สุขใจ, 2554) ประกอบด้วยไม่ว่ากรณิใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน่วยโครงสร้าง phenylpropane units โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบอะโรมาติก 3 ชนิด *p*-coumaryl alcohol, conifetyl alcohol, sinapyl alcohol ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่พบได้มากที่สุด (Verardi และคณะ, 2012) แสดงดังรูปที่ 2.14 ลิกนินทำหน้าที่เชื่อมเพื่อยึดให้เส้นใยเซลลูโลสมารวมกันเป็นส่วนที่ทำให้เซลล์แข็งแรงทำหน้าที่ป้องกันจากการทำลายของเอนไซม์และจุลินทรีย์ จึงทำให้แยกลิกนินออกได้ยากมาก

ลิกนินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อพืช โดยพบในส่วนของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์พืชแข็งแรง ลิกนินอยู่ร่วมกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบของเปลือก ซัง ส่วนที่เป็นเยื่อใยของราก และลำต้น ลิกนินจะถูกสร้างจากส่วนโคนต้นไปสู่อยอด เมื่อพืชมีอายุมากขึ้นปริมาณลิกนินจะเพิ่มมากขึ้นด้วย ทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ไม่สามารถย่อยสลายลิกนินได้ (ปิยะนุช, 2557)



รูปที่ 2.14 สูตรโครงสร้างสารตั้งต้นการสังเคราะห์ลิกนิน

ก) *p*-coumaryl alcohol, ข) conifetyl alcohol, ค) sinapyl alcohol

ที่มา : ดัดแปลงจาก สุขใจ (2554)

การนำลิกโนเซลลูโลสมาผลิตเป็นพลังงาน เป็นการช่วยรักษาสิ่งแวดล้อมเนื่องจากพลังงานจากชีวมวลมีการปลดปล่อยมลพิษและสารพิษต่างๆ ออกมาน้อยกว่าพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล อีกทั้งยังเป็นการช่วยลดปริมาณขยะ วัสดุคอกที่มีปริมาณลิกโนเซลลูโลสสูง ได้แก่ เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ชังข้าวโพด เส้นใยข้าวโพด ชานอ้อย วัสดุเหลือทิ้งจากไม้ เช่น ขี้เลื่อย จากไม้เนื้ออ่อน และไม้เนื้อแข็ง ขยะจากกระบวนการแปรรูปอาหาร และเศษกระดาษ เป็นต้น ซึ่งวัสดุคอกประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกที่น่าสนใจ

ตัวอย่างการนำชีวมวลมาใช้ประโยชน์ เช่น การผลิตไบโอเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลส โดยจะมีกระบวนการย่อย 2 วิธีคือ การย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ หรือวิธีการย่อยสลายควบคู่กับการหมัก (simultaneous saccharification and fermentation, SSF) การใช้เอนไซม์นั้น มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และให้ผลผลิตสูงกว่าการใช้กรด แต่ในอุตสาหกรรมนิยมใช้การย่อยด้วยกรดมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากการใช้เอนไซม์นั้นเสียค่าใช้จ่ายสูง โดยหลังจากผ่านการย่อยแล้วจะถูกนำไปหมักต่อด้วยจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ จุลินทรีย์เหล่านี้จะทำหน้าที่เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตให้เป็นเอทานอล ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เอทานอลสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงได้โดยตรงหรือนำไปใช้ร่วมกับน้ำมันเบนซินได้ (อรุณี, 2555)

## 2.9 การปรับสภาพวัตถุดิบ

กระบวนการปรับสภาพหมายถึงการเปลี่ยนโครงสร้างของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส โดยการละลายและแยกส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลส เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และสารอื่นๆ ซึ่งกระบวนการปรับสภาพเป็นขั้นตอนที่สำคัญสำหรับการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เพื่อให้ส่วนที่เหลื่อมต่อการไฮโดรไลซิส โดยจะทำลายพันธะไฮโดรเจนในเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสที่มีน้ำตาลเพนโทส และเฮกโซสเป็นองค์ประกอบ หลังจากวัตถุดิบผ่านกระบวนการปรับสภาพแล้วจะได้น้ำตาลเพื่อนำเข้าสู่กระบวนการหมักต่อไป แสดงดังรูปที่ 2.15 ในปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนาการเปลี่ยนแปลง ลิกโนเซลลูโลสเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ในเชิงพาณิชย์เพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 2.15 โครงสร้างและองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งประเภทลิกโนเซลลูโลส  
ที่มา : รัชพล (2558)

การปรับสภาพสามารถแบ่งได้เป็น 4 วิธีหลักๆ ได้แก่ การปรับสภาพทางกายภาพ การปรับสภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ การปรับสภาพทางเคมีและการปรับสภาพทางชีวภาพ

### 2.9.1 การปรับสภาพทางกายภาพ (physical pretreatment)

การลดขนาดของวัตถุดิบทางกล วัตถุดิบจะถูกลดขนาดลงให้เป็นผง เพื่อลดขนาดของผลึกเซลลูโลสโดยวิธีทางกล เช่น การป่น การทุบ การม่ การบด เป็นต้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกสลายด้วยความร้อน (pyrolysis) เมื่อวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 300 องศาเซลเซียส เซลลูโลสจะถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วทำให้กลายเป็นแก๊สและของแข็ง เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 300 องศาเซลเซียส การสลายตัวจะเกิดช้าลงและผลิตภัณฑ์มีการระเหยเล็กน้อย

### 2.9.2 การปรับสภาพทางเคมี (chemical pretreatment)

การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (alkaline pretreatment) การปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยด่าง มีผลต่อปริมาณของลิกนินในวัตถุดิบทำให้เกิดปฏิกิริยา saponification ทำให้ช่องว่างและรูพรุนของลิกโนเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ลดโครงสร้างความเป็นผลึกของเซลลูโลสสามารถแยกสายโครงสร้างระหว่างลิกนินและคาร์โบไฮเดรต (รัชพล, 2558) ต่างที่นิยมนำมาใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบ ตัวอย่างเช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (acid pretreatment) การปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยกรดนั้นมีประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลจากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้ ความเข้มข้นของกรดที่นำมาใช้ในกระบวนการปรับสภาพ สามารถใช้ได้ทั้งกรดเข้มข้นและกรดเจือจางเพื่อเพิ่มการทำงานของกระบวนการไฮโดรไลซิส ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน กรดที่นำมาใช้ในการปรับสภาพ เช่น กรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริก ฟอสฟอริก เป็นต้น การใช้กรดเข้มข้นมีข้อดีคือใช้อุณหภูมิและความดันต่ำ สามารถผลิตน้ำตาลได้ปริมาณมากและสามารถนำกรดกลับมาใช้ใหม่ได้โดยการระเหยซ้ำ แต่การใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูง จะมีความเป็นพิษ อันตราย และเกิดการกัดกร่อนภาชนะ ดังนั้นการใช้กรดเจือจางแทนการใช้กรดเข้มข้นจึงได้รับความสนใจและมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ซึ่งการใช้กรดเจือจางที่อุณหภูมิสูงจะมีผลต่อการเพิ่มการย่อยเซลลูโลส

การทำปฏิกิริยากับโอโซน (ozonolysis) การปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยโอโซน โอโซนเป็นตัวแอนติออกซิแดนท์ที่มีประสิทธิภาพ สามารถลดปริมาณลิกนินในวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส และลดปริมาณเฮมิเซลลูโลสในวัตถุดิบประเภทฟางข้าวได้ดี วิธีนี้ไม่มีสารพิษตกค้างที่จะยับยั้งปฏิกิริยาในส่วนต่างๆ และการเกิดปฏิกิริยาเกิดที่อุณหภูมิและความดันห้อง แต่การนำโอโซนมาใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบนั้นเป็นกระบวนการที่มีค่าใช้จ่ายสูงมาก

### 2.9.3 การปรับสภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ (physico-chemical pretreatment)

การระเบิดด้วยไอน้ำ (steam explosion) การปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสโดยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ เป็นวิธีที่ได้รับความนิยม อุณหภูมิที่ใช้จะอยู่ในช่วง 160-260 องศาเซลเซียส ความดัน 0.69-4.82 เมกะปาสคาล (รัชพล, 2558) ชิวมวลที่ใช้วิธีนี้ต้องผ่านการลดขนาดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ข้อดีของวิธีนี้คือ มีการสูญเสียพลังงานน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้วิธีทางกล

การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (ammonia fiber explosion) เป็นการปรับสภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ ที่นำมาใช้กับวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส โดยวิธีการนี้จะใช้แอมโมเนียเหลวที่อุณหภูมิและความดันสูง ระยะเวลาหนึ่ง แล้วทำการลดความดันลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งมีผลต่อวัตถุดิบโดยวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการนี้จะมีอัตราการเป็นน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อปริมาณของเฮมิเซลลูโลส ไม่เหมาะสมกับพืชที่มีลิกนินอยู่มาก ข้อดีของการปรับสภาพการระเบิดด้วยแอมโมเนีย คือสามารถนำแอมโมเนียกลับมาใช้ได้ใหม่ได้ ไม่ผลิตสารยับยั้ง และการปรับสภาพอาจไม่ต้องล้างน้ำและไม่ต้องทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็ก

ความร้อนขึ้น (liquid hot water) วิธีการนี้เป็นอีกกระบวนการที่มีการใช้ความร้อนขึ้น ซึ่งจะดำเนินการอย่างช้าๆ และไม่ต้องการสารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่ต้องอาศัยความดันเพื่อควบคุมสถานะของน้ำในสภาวะของเหลวอุณหภูมิที่ใช้จะอยู่ระหว่าง 200-230 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที โดยจะทำให้เกิดการไฮโดรไลซ์เฮมิเซลลูโลส แต่จะได้ลิกนินปริมาณสูง (สุขใจ, 2554) ตัวอย่างหลังจากการปรับสภาพจะอยู่ในรูปแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลว (slurry) โดยส่วนที่เป็นของแข็งส่วนใหญ่จะเป็นเซลลูโลส ส่วนของเหลวส่วนใหญ่เป็นเฮมิเซลลูโลส และเกิดน้ำตาลบางส่วน (รัชพล, 2558)

การระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub> explosion) วิธีการนี้ใช้คาร์บอนไดออกไซด์จากกรดคาร์บอนิกในการเพิ่มปฏิกิริยาย่อยสลาย มักนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ร่วมด้วย เช่น เอทานอล ซึ่งช่วยในการกำจัดสารประเภทลิกนิน แต่วิธีการระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ จะได้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้ไอน้ำหรือแอมโมเนีย แต่ไม่เกิดตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนไฮโดรไลซิสเหมือนวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ

#### 2.9.4 การปรับสภาพทางชีวภาพ (biological pretreatment)

การปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสทางชีวภาพ มีการใช้จุลินทรีย์มาใช้เพื่อย่อยสลายลิกนินและเฮมิเซลลูโลส จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบ ได้แก่ brown-rot, white-rot และ soft-rot fungi ตัวอย่างเช่น *Phanerochaete chrysosporium* เป็น white-rot fungi ที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน ข้อดีของการปรับสภาพทางชีวภาพคือ ใช้พลังงานต่ำและสภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบไม่รุนแรง แต่การปรับสภาพทางชีวภาพมักใช้เวลานาน

ตัวอย่างของเอนไซม์ที่ใช้อย่อยลิกโนเซลลูโลส ตัวอย่างเช่น cellulases, glucuronidase, acetylsterase, feruloylsterase, xylanase,  $\beta$ -xylosidase, lignin peroxidase, manganese peroxidase และ laccase เป็นต้น (อรุณี, 2555) ข้อดีและข้อด้อยของกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส แสดงดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ข้อดีและข้อด้อยของกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส

กระบวนการปรับสภาพ	ข้อดี	ข้อด้อย
ลดขนาดทางกล	ลดขนาดเซลลูโลสและลดความสามารถของการเกิดผลึกเซลลูโลส	ใช้พลังงานสูงกว่าพลังงานของมวลชีวภาพ
ทำปฏิกิริยาด้วยต่าง	ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสและสลายโครงสร้างระหว่างลิกนินและคาร์โบไฮเดรต	ไม่มีผลต่อไม้เนื้ออ่อนเท่าไม้เนื้อแข็ง
ทำปฏิกิริยาด้วยกรด	ไฮโดรไลซ์เฮมิเซลลูโลสได้ไซโลสและน้ำตาลชนิดอื่นๆ เปลี่ยนแปลงโครงสร้างลิกนิน	เครื่องมือถูกกัดกร่อนและสร้างสารพิษ
ทำปฏิกิริยากับโอโซน	ลดปริมาณลิกนิน ไม่สร้างสารพิษ	มีค่าใช้จ่ายสูง
การระเบิดด้วยแอมโมเนีย	เพิ่มการตอบสนองต่อพื้นผิวเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย ไม่ผลิตสารยับยั้งสำหรับกระบวนการเก็บเกี่ยว	ไม่เหมาะกับวัตถุดิบที่มีลิกนินสูง การลงทุนสูง
ทางชีวภาพ	สลายลิกนินและเฮมิเซลลูโลส, มีความต้องการพลังงานต่ำ	อัตราการย่อยสลายช้า

ที่มา : ดัดแปลงจาก สุขใจ (2554); รัชพล (2558)

รายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

นันทิกา และคณะ (2554) ศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากขางข้าวฟ่างหวาน โดยการปรับสภาพขางข้าวฟ่างหวานด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก เพื่อกำจัดลิกนินและหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และทำการออกแบบการทดลองด้วยวิธี Box-Behnken พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ คือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 21.44 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส 72.34 นาที และสัดส่วนของขางข้าวฟ่างหวานต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเท่ากับ 1:19.3 กรัมต่อมิลลิลิตร จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับร้อยละ 34.97 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

Kim และคณะ (2012) ศึกษาการปรับสภาพทะลายปาล์มเปล่าด้วยกรดอ่อนและต่าง โดยใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 0.1-8.0 โดยปริมาตร เพื่อกำจัดเฮมิเซลลูโลส และใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 นอร์มอล เพื่อกำจัดลิกนินในทะลายปาล์ม หลังจากนั้นจึงใช้เอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลสเพื่อย่อยสลายเซลลูโลส การผลิตไบโอเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสนั้น ต้องการขั้นตอนการปรับสภาพทางฟิสิกส์และเคมี การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เพื่อให้ได้น้ำตาลสำหรับการหมักเอทานอล

Iberahim และคณะ (2013) ศึกษาการปรับสภาพเส้นใยจากลูกปาล์ม ขนาดเฉลี่ย 2 มิลลิเมตร โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2-10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อัตราส่วน 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการปรับสภาพเส้นใยจากลูกปาล์มคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นร้อยละ 90 ซึ่งการปรับสภาพทางเคมีด้วยต่างนั้น เป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยลดปริมาณลิกนินในวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส

## 2.10 การไฮโดรไลซิส

การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) เป็นการย่อยสลายพอลิเมอร์ของน้ำตาลให้สั้นลง สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การไฮโดรไลซิสด้วยสารเคมีโดยใช้กรดหรือด่าง การไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์ งานวิจัยโดยส่วนใหญ่นิยมใช้กรดการไฮโดรไลซิส เนื่องจากทำได้ง่าย ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาสั้นและให้ผลผลิตน้ำตาลสูง ส่วนการใช้ด่างในการไฮโดรไลซิสมักใช้เพื่อกำจัดลิกนินออก

การไฮโดรไลซิสด้วยกรดสามารถแบ่งได้เป็น การไฮโดรไลซิสด้วยความเข้มข้นของกรดสูงที่อุณหภูมิต่ำ และการไฮโดรไลซิสด้วยความเข้มข้นของกรดต่ำที่อุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามกรดที่มีความเข้มข้นสูงนั้นมีราคาแพง การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยกรดความเข้มข้นสูงจึงไม่นิยมใช้ในเชิงพาณิชย์ ทางเลือกในการใช้กรดทั้งสองแบบจึงพิจารณาจากอัตราการย่อยสลาย การเกิดผลิตภัณฑ์ และต้นทุนโดยรวมของกระบวนการผลิต (Kasim และ Kasim, 2013)

การไฮโดรไลซิสชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสโดยใช้กรดเจือจาง (dilute acid) เช่น กรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริก ฟอสฟอริก ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1-10 และใช้อุณหภูมิระหว่าง 100-180 องศาเซลเซียส กรดเจือจางจะช่วยทำลายโครงสร้างของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ที่เป็นองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monomeric sugar) การใช้กรดในการไฮโดรไลซิสเร็วกว่าการใช้เอนไซม์ และเซลลูโลสจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด (Lenihan และคณะ, 2011)

การไฮโดรไลซิสโดยทั่วไปมักจะใช้กรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริก ในการกำจัดส่วนที่เหลือของลิกโนเซลลูโลส แต่การใช้กรดฟอสฟอริกในการไฮโดรไลซิสมิมีความน่าสนใจ เนื่องจากมีความรุนแรงน้อยกว่ากรดชนิดอื่นๆ และทำให้เกิดสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์น้อย เช่น เฟอร์ฟิวรอล หรือแอสติก (Hong และคณะ, 2012) นอกจากนี้ยังมีความเป็นพิษ เกิดการกัดกร่อนต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Vasconcelos และคณะ, 2013) อีกทั้งมีฟอสฟอรัสซึ่งเป็นสารอาหารสำคัญที่ใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งมีประโยชน์ต่อกระบวนการหมักทางชีวภาพ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Avci และคณะ, 2013)

กรดฟอสฟอริกเป็นกรดอ่อนที่สามารถแตกตัวได้สามครั้ง (triprotic acid) ไม่เป็นพิษ มีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับกรดชนิดอื่นๆ ละลายเซลลูโลสได้ง่ายและรวดเร็ว ไอออนของไฮโดรเจนจากกรดฟอสฟอริกสามารถแพร่เข้าสู่เซลลูโลสได้ง่ายซึ่งมี 2 ขั้นตอนที่เกิดขึ้นภายหลังการสลายตัวคือ ขั้นที่หนึ่งเกิดปฏิกิริยา เอสเทอร์ฟิเคชัน (esterification reaction) ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของเซลลูโลสกับกรดฟอสฟอริกไปเป็นเซลลูโลสฟอสเฟต และสองเกิดการเปลี่ยนแปลงส่วนของชั้น amorphous ในเซลลูโลส (Qin และคณะ, 2014) หลังจากผ่านไฮโดรไลซิสแล้วทำให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เกิดอยู่ในรูปของโซเดียมฟอสเฟตที่เกิดขึ้น จุลินทรีย์ใช้เป็นอาหารสำหรับการเจริญเติบโต (Nantapipat และคณะ, 2013)

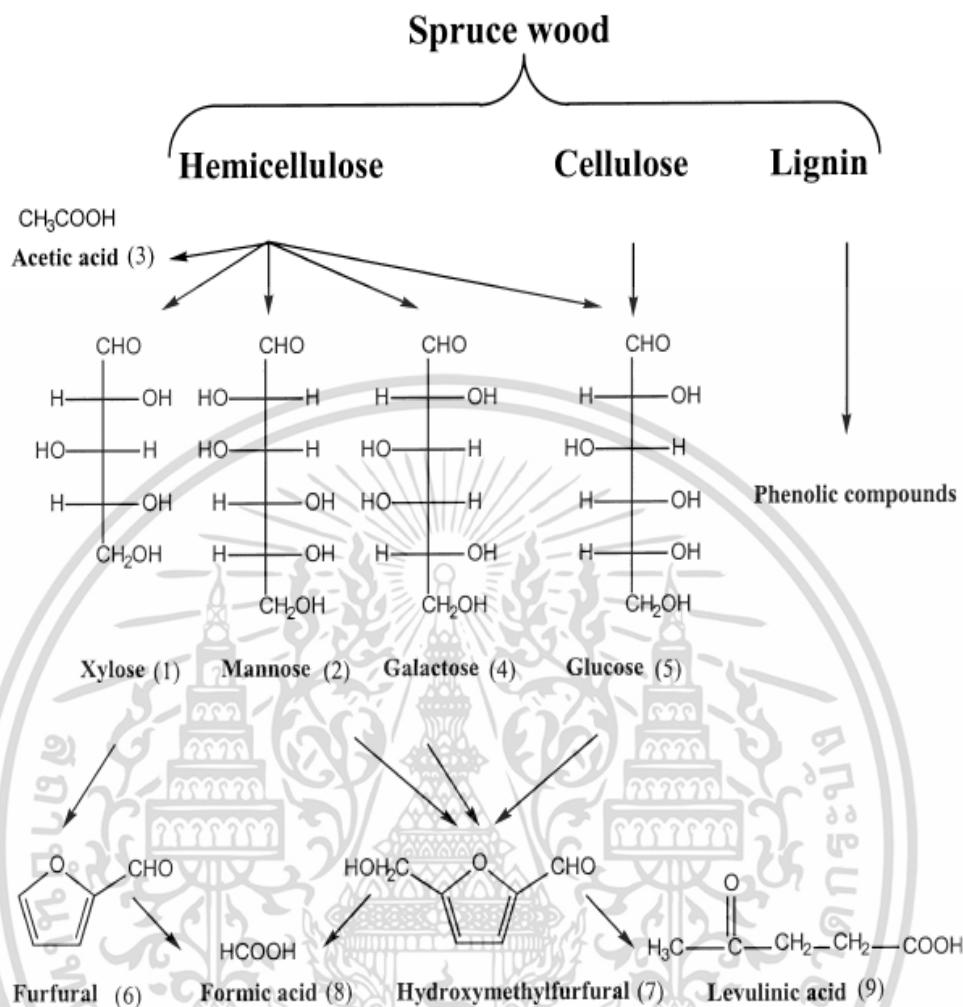
Vázquez และคณะ (2006) ศึกษาการเกิดเพอร์ฟิวรอลจากฟางของข้าวฟ่าง โดยใช้กรดฟอสฟอริกในการไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 134 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นร้อยละ 2-6 เวลาระหว่าง 0-300 นาที พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกร้อยละ 6 ที่อุณหภูมิ 134 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 300 นาที จะทำให้เกิดเพอร์ฟิวรอล 13.7 กรัมต่อลิตร, โซลอส 4 กรัมต่อลิตร, กลูโคส 2.9 กรัมต่อลิตร, อะราบินอส 1.1 กรัมต่อลิตร และกรดแอสติค 1.2 กรัมต่อลิตร

Hong และคณะ (2012) ได้รายงานการศึกษาของ Gámez และคณะ (2004) เมื่อใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 6 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 300 นาที ในการไฮโดรไลซิสขานอ้อย แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการผลิตน้ำตาล (fermentable sugars) สูงและเกิดสารยับยั้งต่ำ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Romero และคณะ (2007) โดยไฮโดรไลซิสกิ่งของต้นมะกอกด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 8 นอร์มอล ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 240 นาที พบว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของเอมิเซลลูโลสร้อยละ 77 จากวัตถุดิบได้กลูโคสและน้ำตาลรีดิฟิวรอลร้อยละ 89

## 2.11 การกำจัดสารพิษ (detoxification)

การไฮโดรไลซิสลิกโนเซลลูโลสด้วยสภาวะรุนแรง เช่น อุณหภูมิสูง ความเข้มข้นของกรดสูง ความดันสูง จะทำให้เกิดการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากการสลายตัวของน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น เพอร์ฟิวรอล (furfural) เกิดจากการสลายตัวของโซลอส, 5-ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรอล (5-hydroxymethyl furfural (HMF)) เกิดจากการสลายตัวของเฮกโซส (hexose), กรดฟอรัมิคถูกสร้างเมื่อเพอร์ฟิวรอลและ HMF เสียสภาพ, กรดเลวูลินิก (Levulinic acid) สร้างจากการสลายของ HMF เป็นต้น (Palmqvist และ Hahn-Hagerdal, 2000b) แสดงดังรูปที่ 2.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.16 โครงสร้างสารย่อยจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่ถูกสร้างขึ้นจากการย่อยวัตถุดิบประเภท ลิกโนเซลลูโลส

ที่มา : Palmqvist และ Hahn-Hagerdal (2000b)

การกำจัดสารพิษประกอบด้วยวิธีการต่างๆ เช่น วิธีทางฟิสิกส์ ได้แก่ การระเหย (evaporation) และการแยกโดยใช้เยื่อกรอง (membrane separations), วิธีทางเคมี ได้แก่ ปฏิกิริยาสะเทิน (neutralization), แคลเซียมไฮดรอกไซด์ overliming, ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal), เรซินแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange resins) และการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท, การขจัดสารพิษทางชีวภาพ การใช้เอนไซม์แลคเคส (enzymatic mediated using laccase) และ เอนไซม์ลิกนิน เพอร์ออกซิเดส เป็นต้น (Chandel และคณะ, 2011) วิธีกำจัดสารพิษแสดงดังตารางที่ 2.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างวิธีการกำจัดสารพิษในไฮโดรไลสเซลลูโลสเพื่อกำจัดสารยับยั้งการเจริญในอาหารหมัก

ไฮโดรไลสเซลลูโลส	วิธีการกำจัดสารพิษ	การเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบ	เอกสารอ้างอิง
ไม้ไผ่	ถ่านกัมมันต์	ขจัดฟีนอลิก (95.40%)	Converti และคณะ (1999)
ฟางข้าวสาลี	เอทิลอะซิเตท + overliming	ขจัดเฟอร์ฟิวรอล (59.76%), ฟีนอลิก (48.23%) และ กรดแอสซิติค (92.19%)	Zhuang และคณะ (2009)
ไม้สน	ไดไรโอไนท์ (dithionite) และ ซัลไฟต์ (sulfite)	ไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ	Alriksson และคณะ (2010)
ไม้แอสแปน (aspen)	การกลั่นระเหยสาร (roto-evaporation)	ขจัดกรดแอสซิติค (54%), เฟอร์ฟิวรอล (100%) และ วานิลลิน (vanillin) (29%)	Wilson และคณะ (1989)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Chandel และคณะ (2011)

Converti และคณะ (2000) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของลิกโนเซลลูโลสเพื่อการผลิตไซลิทอล รายงานว่าการกำจัดสารพิษโดยวิธี overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) และซัลไฟต์ กระบวนการหมักจากไฮโดรไลสเซลลูโลส ได้ปริมาณไซโลสเท่ากับ 89.0 กรัมต่อลิตร และหลังจากการหมัก 96 ชั่วโมง จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของไซลิทอลเท่ากับ 39.5 กรัมต่อลิตร

Chandel และคณะ (2007) ศึกษาการกำจัดสารพิษในไฮโดรไลสเซลลูโลสขานอ้อย เพื่อการผลิตเอทานอล โดยเชื้อ *Candida shehatae* NCIM 3501 เมื่อไฮโดรไลสเซลลูโลสขานอ้อยด้วยไฮโดรคลอริก ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยปริมาตร จะได้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 30.29 กรัมต่อลิตร และเกิดสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น เฟอร์ฟิวรอล ฟีนอลิก และแอสซิติค ในงานวิจัยจึงใช้การกำจัดสารพิษด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ ปฏิกิริยาสะเทิน, overliming, แลคเคส, ถ่านกัมมันต์ และ ion exchange พบว่าเมื่อใช้วิธี ion exchange ในการกำจัดสารพิษจะให้ผลได้ของเอทานอลสูงสุดที่ 0.48 กรัมต่อกรัม

Telli-Okur และ Eken-Saracoglu (2008) ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยเชื้อจุลินทรีย์ *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 จากไฮโดรไลสเซลลูโลสเปลือกเมล็ดทานตะวัน เตรียมไฮโดรไลสเซลลูโลสด้วยกรดซัลฟิวริก เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ไปยังเว็บไซต์อื่นใดโดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมายทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 0.7 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และใช้กระบวนการกำจัดสารพิษในไฮโดรไลสเสทโดยวิธีต่างๆ ได้แก่ ปฏิกริยาสะเทิน, overliming, overliming ร่วมกับการใช้ถ่านกัมมันต์ และ overliming ร่วมกับการใช้สารในกลุ่มซัลไฟด์ พบว่าการกำจัดสารพิษโดยวิธี overliming ร่วมกับการใช้โซเดียมซัลไฟด์เป็นวิธีที่ดีที่สุดในการกำจัดสารพิษ และทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ 11 กรัมต่อลิตร

Camesasca และคณะ (2015) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากหญ้าเนเปียร์ โดยใช้กรดซัลฟิวริกในการปรับสภาพวัตถุดิบ และกำจัดสารพิษในไฮโดรไลสเสทเฮมิเซลลูโลส โดยวิธี overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ปรับ pH เป็น 10 เก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที และปรับ pH เท่ากับ 6 ด้วยกรดซัลฟิวริกอีกครั้ง เพื่อกำจัดสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในไฮโดรไลสเสท โดยวิธีการตกตะกอนสารประกอบที่เป็นพิษ

## 2.12 กระบวนการแยกกรดโพธิโอฟิกและทำให้บริสุทธิ์ (สุขใจ, 2554)

ในการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ รวมถึงการผลิตกรดโพธิโอฟิก ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ กระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์เป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการ เพื่อแยกกรดที่ผลิตได้ออกจากอาหารที่ใช้หมักคิดเป็นราคาต้นทุนร้อยละ 50-60 ซึ่งกรดโพธิโอฟิกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำสูง (highly hydrophilic) และความแตกต่างของการระเหยระหว่าง น้ำกับกรดโพธิโอฟิกน้อยมาก ดังนั้นกรดเมื่ออยู่ในสถานะแตกตัวจะไม่ระเหย โดยกรดโพธิโอฟิกมีค่า pKa เท่ากับ 4.88 และค่า pH ที่เหมาะสมระหว่างการหมักเท่ากับ 6.0-7.0 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะปนเปื้อนอยู่กับสารชนิดอื่นในอาหารที่ใช้หมัก จึงลำบากต่อกระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์

ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ กระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น ion-exchange resin, liquid extraction, reactive extraction, distillation, reverse osmosis, electrodialysis, liquid surfactant membrane extraction หรือ precipitation และ adsorption เป็นต้น

adsorption fermentation process กระบวนการหมักและการดูดซับ โดยควบคุมค่า pH จากการดูดซับกรดอินทรีย์ ขณะเดียวกันใช้ ion-exchange resin อย่างแพร่หลายในกระบวนการแยกทางชีวภาพ

membrane separation การใช้เมมเบรนร่วมกับกระบวนการหมัก ทำให้เกิดการแยกผลิตภัณฑ์ไปด้วย กรดจะถูกแยกอย่างต่อเนื่อง พร้อมกับความหนาแน่นของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ปริมาณมาก ตัวอย่างของเมมเบรนชนิดต่างๆ เช่น electrodialysis ultrafiltration membrane, reverse osmosis membrane เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

electro-electrodialysis (EED) และการแพร่ในสนามไฟฟ้าด้วยเมมเบรน 2 ชั้น (bipolar membrane) สามารถสกัดไอออนทั้งอนินทรีย์และอินทรีย์ ร่วมกับโปรตรอนเพื่อผลิตกรดอินทรีย์ให้บริสุทธิ์

การรักษาภาวะความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการหมักเพื่อเพิ่มอัตราการผลิตมีความสำคัญ ซึ่งผลผลิตของกรดโพทิโอนิกผลผลิตที่ได้จะอยู่ในรูปของเกลือ เช่น โซเดียมโพทิโอเนต แคลเซียมโพทิโอเนต เป็นต้น แต่การใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่มักใช้ในรูปของกรดโพทิโอนิก ดังนั้นกระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ต้นทุนต่ำจึงมีความน่าสนใจ

รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแยกและทำกรดอินทรีย์ให้บริสุทธิ์ ดังนี้

Min และคณะ (2011) ศึกษาวิธีแยกและการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ (recovering) กรดแลกติกจากแคลเซียมแลกเตทในน้ำหมัก ด้วยกรดซัลฟิวริก อัตราส่วน 1:1 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร ค่า pH สูงกว่าค่า pKa (3.86) ผสมตัวอย่างที่ 220 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และใช้ถ่านกัมมันต์ในการกำจัดสีออกจากกรดแลกติก ตามสภาวะดังกล่าวพบว่าผลได้ของกรดแลกติกจากน้ำหมักทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 92

Shetty (2015) ศึกษาการผลิตกรดซิตริกจากกากน้ำตาล (molasses) และซังข้าวโพด (corn cob) โดยใช้เชื้อ *Aspergillus Niger* ใช้การเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ของกรดซิตริก โดยวิธีการกรองแยกน้ำหมักออกจากเชื้อรา เติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพื่อตกตะกอนในรูปแคลเซียมซิเตรท และใช้กรดซัลฟิวริกเพื่อตกตะกอนแคลเซียมซัลเฟตที่ไม่ละลายน้ำ กรองและทำให้กรดซิตริกบริสุทธิ์ด้วยการกรองผ่านคอลัมน์ถ่านกัมมันต์ แทนการระเหยเพื่อลดการสูญเสียกรดซิตริก

## 2.13 การออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology; RSM)

เป็นวิธีการและการออกแบบการทดลองโดยการรวบรวมวิธีทางคณิตศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการหาระดับของปัจจัยที่เหมาะสมเพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และทำการวิเคราะห์ปัญหา โดยผลตอบสนองจากผลของตัวแปร อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรกับค่าการตอบสนองและสามารถแสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเมื่อระดับปัจจัยเชิงปริมาณเปลี่ยนแปลง โดยที่ผลตอบสนองนั้นจะขึ้นอยู่กับหลายตัวแปรที่ทำการศึกษา และมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาหาค่าที่ดีที่สุด (maximum) หรือการตอบสนองต่ำสุด (minimum) ของผลตอบสนอง (response) ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของการทดลอง (ไพโรจน์, 2544)

วิธีการออกแบบการทดลองโดยใช้พื้นที่การตอบสนองนี้คิดค้นโดย Box ในปี ค.ศ. 1948 โดยอาศัยการออกแบบการทดลองด้วยวิธี full factorial ที่อาศัยค่ากลางของข้อมูลจากระดับปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าตอบสนองสูงสุด โดยวิธีการออกแบบการทดลองที่นิยมสร้างพื้นผิวตอบสนองคือ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

central composite design, CCD และ Box-Behnken design, BBD ซึ่งเป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร 2 ประเภทคือ ตัวแปรตาม (dependent variable) และตัวแปรอิสระ (independent variable) ซึ่งเรียกว่า ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficient) สามารถสร้างสมการของความสัมพันธ์ดังสมการที่ 2.8

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n) + \varepsilon \quad (2.8)$$

โดยกำหนดให้  $Y$  = ค่าตอบสนองที่สังเกตได้ (dependent variable)

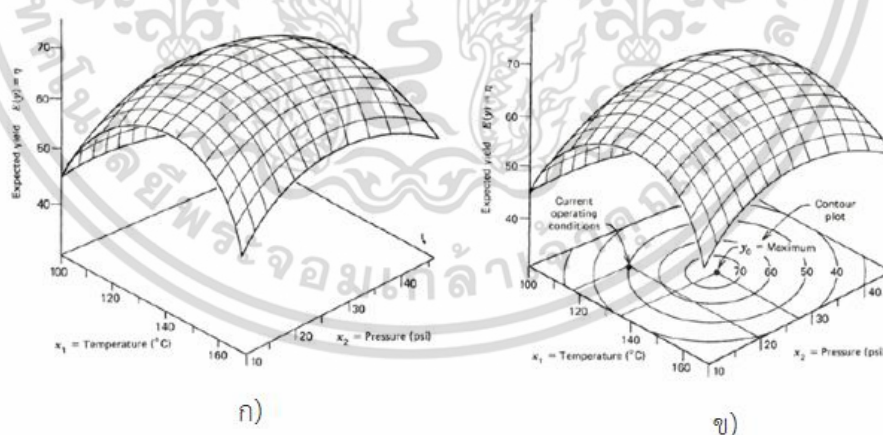
$f$  = ฟังก์ชันของการตอบสนองของ  $X_1, X_2, \dots, X_n$  ซึ่งเป็นตัวแปรเชิงปริมาณ (independent variable)

$\varepsilon$  = เทอมของความคลาดเคลื่อน

ถ้ากำหนดว่า  $E(Y) = f(X_1, X_2) = \eta$  ดังนั้น สามารถเขียนสมการของพื้นที่ผิวการตอบสนองได้ตามสมการที่ 2.9 คือ

$$\eta = f(X_1, X_2) \quad (2.9)$$

ซึ่งจะเรียกว่าพื้นที่ผิวการตอบสนอง (response surface) โดยส่วนใหญ่จะแสดงผลการตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิวในรูปของกราฟฟิก โดยการนำค่า  $\eta$  มาพล็อตกับระดับของ  $X_1$  และ  $X_2$  เพื่อที่จะช่วยให้แสดงรูปร่างของพื้นที่ผิวการตอบสนองได้ดียิ่งขึ้น แสดงดังรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.17 กราฟสามมิติของพื้นผิวตอบสนองแบบ ก) surface plot, ข) contour plot

ที่มา : อิศรพงษ์ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามในการศึกษาโดยใช้วิธีการแสดงผลพื้นผิวตอบสนองนั้น จำเป็นต้องค้นหาฟังก์ชันที่แท้จริงระหว่างตัวแปรตามค่าตอบสนองต่อตัวแปรอิสระต่างๆ เป็นลำดับแรก การค้นหาฟังก์ชันต่างๆ เหล่านี้มักใช้ความสัมพันธ์แบบโพลีโนเมียล (polynomial) ลำดับต้นๆ เช่น กำลังหนึ่ง (first order) หรือกำลังสอง (second order) เป็นต้น โดยทั่วไปฟังก์ชันที่ใช้ในการประมาณความสัมพันธ์แบบกำลังหนึ่ง ดังสมการที่ 2.10

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + \varepsilon \quad (2.10)$$

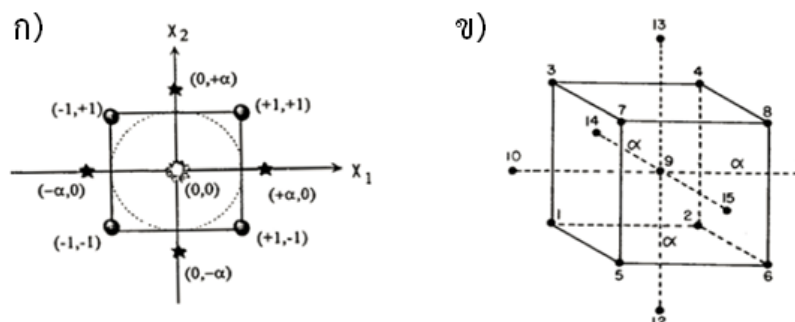
สำหรับระบบมีลักษณะความสัมพันธ์แบบเส้นโค้ง ต้องใช้โพลีโนเมียลที่มีลำดับสูงขึ้น เช่น ลำดับสองหรือกำลังสอง ดังสมการที่ 2.11 (อิศรพงษ์, 2550)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_i \sum_{j < i}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (2.11)$$

## 2.14 การออกแบบวางแผนการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (central composite design; CCD)

การออกแบบการทดลองด้วยวิธี full fractional factorial เป็นหนึ่งในวิธีการหาพื้นผิวตอบสนองที่นิยมใช้เพื่อหากระบวนการที่เหมาะสม โดยอาศัยค่ากลางของข้อมูลจากระดับปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าตอบสนองสูงสุดที่ได้รับความนิยม ใช้การกระจายระดับของข้อมูลออกสู่ศูนย์กลางเพื่อศึกษาระดับของปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าตอบสนองสูงสุด ซึ่งมีการลักษณะการวางตำแหน่งการกระจายของปัจจัยแสดงดังรูปที่ 2.18 และมีตัวอย่างของ CCD สำหรับการศึกษิตัวแปร 3 ตัว แสดงดังตารางที่ 2.8

การกำหนดค่ารหัส (code value) ของรหัสปัจจัยให้ 0 แทนค่ากลาง (center point) ซึ่งในการทดลองทั่วไปนิยมทำค่ากลางไว้หลายจุดเพื่อทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของผลการทดลองในการประมวลผลทางสถิติน้อยที่สุด ถ้าการทดลองที่ 2 ปัจจัยจะมีการมีการทดลองเป็น  $2^k$  คือ 4 ในแต่ละชนิดของปัจจัยมุม (factorial points) จะมีอยู่ 4 จุดให้ค่าเป็น +1 สำหรับค่าสูงและ -1 สำหรับค่าต่ำ และแกน (axial point) จะมีอยู่ 4 จุดให้ค่าเป็น  $+\alpha$  สำหรับค่าสูงและ  $-\alpha$  สำหรับค่าต่ำ โดยค่า  $\alpha$  สามารถหาได้จากรากที่ 4 ของ  $2^k$  เมื่อ  $k$  คือจำนวนของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง โดยค่า  $\alpha$  ที่ได้จะต้อง นำไปคูณกับค่าคงที่ของความกว้างช่วงการแปรของระดับปัจจัย ดังนั้นการออกแบบการทดลองแบบ CCD จึงมี 5 ระดับคือ  $+\alpha, +1, 0, -1, -\alpha$  ตามลำดับ (อรทัย, 2553)



รูปที่ 2.18 การกระจายของปัจจัยในการออกแบบการทดลอง CCD

ก) แบบ 2 ตัวแปร, ข) แบบ 3 ตัวแปร

ที่มา : อิศรพงษ์ (2550)

ตารางที่ 2.8 การเก็บข้อมูลของ CCD สำหรับ 3 ตัวแปรที่ค่า  $\alpha=1$

A	B	C	Point type
-1	-1	-1	Factorial point
1	-1	-1	Factorial point
-1	1	-1	Factorial point
1	1	-1	Factorial point
-1	-1	1	Factorial point
1	-1	1	Factorial point
-1	1	1	Factorial point
1	1	1	Factorial point
-1	0	0	Axial point
1	0	0	Axial point
0	-1	0	Axial point
0	1	0	Axial point
0	0	-1	Axial point
0	0	1	Axial point
0	0	0	Center point
0	0	0	Center point

ที่มา : จรัส (2552)

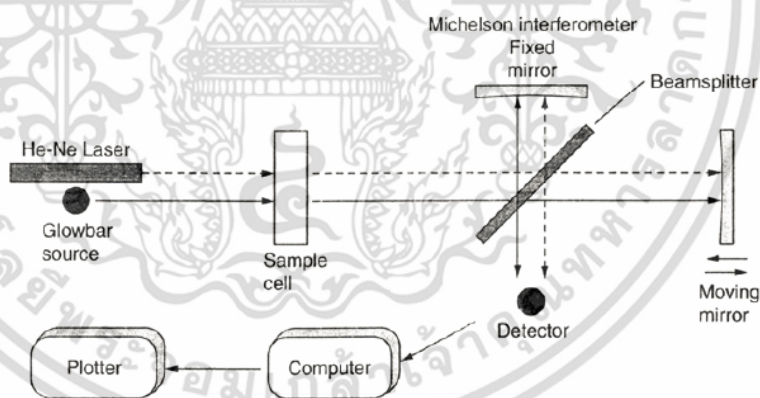
การวางแผนการทดลองแบบ CCD มีข้อดีคือ ช่วยลดทรัพยากรในการทดลองให้น้อยลงอย่างมาก เช่น เวลาและต้นทุน เนื่องจากใช้จำนวนครั้งการทดลองไม่มาก และสามารถให้ข้อมูลของการทดลองไม่ต่างจากการทดลองแบบ Full Factorial มากนัก (จรัส, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.15 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

### 2.15.1 Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy

ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี เป็นหนึ่งในเทคนิคทางด้าน infrared spectroscopy นิยมใช้ในการวิเคราะห์และตรวจสอบเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร มีประสิทธิภาพในการจำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพันธะเคมีในโมเลกุล รวมถึงสามารถบอกถึงปริมาณองค์ประกอบที่มีอยู่ในโมเลกุลของสารผสมตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด เทคนิค FTIR นี้มีความไวใช้ระยะเวลาในการตรวจสอบน้อยกว่าเทคนิคอื่นๆ การทำงานโดยทั่วไปรังสีจากแหล่งกำเนิดจะผ่านตัวอย่างและถูกกระจายออกในช่วงความถี่ต่างๆ ด้วยโมโนโครเมเตอร์ หลังจากนั้นลำรังสีจะตกลงบนเครื่องตรวจวัดซึ่งจะทำให้เกิดเป็นสัญญาณไฟฟ้าแล้วทำการบันทึกผลสัญญาณนั้น (รัชนี, 2557) FTIR สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ย่านอินฟราเรดในสเปกตรัมของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ให้ประโยชน์มากที่สุดต่อนักเคมีอินทรีย์คือ ย่านความถี่ระหว่าง  $4,000-650 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{cm}^{-1}$  เป็นหน่วยของจำนวนคลื่นต่อวินาทีหรือเรียกว่า เลขคลื่น) และความยาวคลื่นระหว่าง  $2.5-15$  ไมโครเมตร ( $1 \text{ ไมโครเมตร } (\mu\text{m}) = 10^{-6} \text{ เมตร}$ ) (รัชนี, 2550) แสดงดังรูปที่ 2.19 และตัวอย่างของความยาวคลื่นที่ขั้วส่วนประกอบในวัสดุประเภทพอลิโนเซลลูโลสแสดงดังตารางที่ 2.9



รูปที่ 2.19 Michelson interferometer ใน FTIR สเปกโตรมิเตอร์

ที่มา : รัชนี (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.9 ตัวอย่างของความยาวคลื่นที่บ่งชี้ส่วนประกอบในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส

ความยาวคลื่น ( $\text{cm}^{-1}$ )	vibration	หมู่ฟังก์ชัน	ส่วนประกอบ	เอกสารอ้างอิง
1730	C=O	แอลดีไฮด์, คีโตน, กรดคาร์บอกซิลิก	เฮมิเซลลูโลส	Kristensen และคณะ (2008) Tandy และคณะ (2010)
1648	O-H	น้ำแอสพอพิที่ เกี่ยวข้อง กับเส้นใยเซลลูโลส		Xiao และคณะ (2011); Himmelsbach และ คณะ (2002)
1590-1600	C=C	โครงสร้างอะโรมาติก	ลิกนิน, เซลลูโลส	Pandey (1999); Zhao และคณะ (2010)
1526		โครงสร้างอะโรมาติก		Bahrin และคณะ (2012); Wang และคณะ (2009)
1505		วงแหวนอะโรมาติก	ลิกนิน	Xiao และคณะ (2011)
1430			เซลลูโลส	Bahrin และคณะ (2012)
1246	C-O-C, C-O	โพลีแซ็กคาไรด์	เซลลูโลส	Wetzel และคณะ (2001)
1235	COOH	หมู่คาร์บอกซิล, กรดแอซิดิก เอสเทอร์	เฮมิเซลลูโลส	Smidt และคณะ (2005)
1000-1200	C-O-C, C-O, C-OH	โพลีแซ็กคาไรด์	เซลลูโลส, ลิกนิน	Yang และคณะ (2007)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Yunos และคณะ (2012)

### 2.15.2 High performance liquid chromatography (HPLC)

หลักการการทำงานของ high performance liquid chromatography หรือโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงแยกสารเคมีด้วยความดันของเหลว เป็นเทคนิควิเคราะห์สารเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยสามารถใช้วิเคราะห์สารได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ สารประกอบที่เสถียรได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก เป็นต้น สามารถวิเคราะห์สารปริมาณต่ำได้ในระดับไมโครกรัม จนถึงพิโคกรัม HPLC ตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่

(mobile phase) พาสารตัวอย่างผ่านอนุภาคที่เป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ที่บรรจุอยู่ใน  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอลัมน์ (column) สารผสมตัวอย่างจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์และถูกแยกออกมาผ่านสู่เครื่องตรวจวัด (detector) ในเวลาที่แตกต่างกัน สัญญาณที่วัดได้จะอยู่ในรูปสัญญาณไฟฟ้าตามเวลาและปริมาณของสารแต่ละตัวที่ตรวจวัดได้จากนั้นสัญญาณจะถูกส่งไปยังเครื่องบันทึกสัญญาณเพื่อแสดงผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม (chromatogram) (ปิยะนุช, 2557)

## 2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.16.1 การผลิตกรดโพรพิโอนิก

พรวิสาข์ (2551) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยการตรึงเซลล์เชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 ด้วยแคลเซียมอัลจิเนต ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ใช้หางนมเป็นแหล่งคาร์บอน เต็มหัวเชื้อเริ่มต้นปริมาตร ร้อยละ 5 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยควบคุมสภาวะที่ใช้เพาะเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส และควบคุม pH ที่ 6.5 พบว่าเซลล์ตรึงซึ่งมีศักยภาพความคงตัวโดยสามารถหมักกรดโพรพิโอนิกได้ 2 รอบการหมัก ให้ปริมาณกรดโพรพิโอนิกสูงสุดรวม 24.05 กรัมต่อลิตร มากกว่าเซลล์อิสระที่ให้ผลผลิต 12.25 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการหมัก 216 ชั่วโมงเท่ากัน กรดโพรพิโอนิกที่ได้จากการหมักมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราและเชื้อยีสต์เช่นเดียวกับกรดโพรพิโอนิกที่ขายในทางการค้าซึ่งผลิตด้วยกระบวนการทางเคมี

Ramsay และคณะ (1998) ศึกษาการใช้ไฮโดรไลสจากเฮมิเซลลูโลส โดยใช้เอนไซม์ไซลาเนสในการไฮโดรไลซิส พบว่าได้ปริมาณไซโลส 29.6 กรัมต่อลิตร และนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้มาหมักกรดโพรพิโอนิก โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ในถังหมักขนาด 2 ลิตร จะให้กรดโพรพิโอนิก 18 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ ในการนำไฮโดรไลสจากเฮมิเซลลูโลสจากไม้ มาผ่านการไฮโดรไลซิสเพื่อ ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ *P. acidipropionici*

Liu และคณะ (2012) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากไฮโดรไลสจากเฮมิเซลลูโลสเพื่อผลิตกรดโพรพิโอนิก โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส และ pH เริ่มต้น 6.0 ใช้ไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน กระบวนการหมักแบบกะ ได้ความเข้มข้นกรดโพรพิโอนิกสุดท้าย 53.2 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับ corn cob molasses ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตไซลิทอลเป็นตัวแทนของไฮโดรไลสจากเฮมิเซลลูโลส โดยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ ได้ความเข้มข้นกรดโพรพิโอนิกสุดท้าย 71.8 กรัมต่อลิตร และอัตราการผลิต 0.28 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าไฮโดรไลสของเฮมิเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *P. acidipropionici*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Liang และคณะ (2012) ศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากไฮโดรไลสเสทแก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) ด้วยเซลล์ตรึงและเซลล์อิสระของเชื้อจุลินทรีย์ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 เตรียมไฮโดรไลสเสทแก่นตะวัน โดยไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ อัตราส่วนของตัวอย่างต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเท่ากับ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 40 นาที และปรับ pH 6.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 โมลาร์ จะได้ไฮโดรไลสเสทแก่นตะวันที่มีปริมาณฟรุกโตส (fructose) 40 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำมาผลิตกรดโพรพิโอนิก จากเชื้อ *P. acidipropionici* ATCC 4875 เซลล์อิสระ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมสภาวะของการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที และควบคุม pH ของการหมักที่ 6.5 ด้วยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 โมลาร์ พบว่า เซลล์อิสระให้ผลผลิตของกรดโพรพิโอนิกสูงสุดที่ 40.6 กรัมต่อลิตร ให้ผลได้ของกรดโพรพิโอนิกที่ 0.379 กรัมต่อกรัม และอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิกที่ 0.190 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

### 2.16.2 การปรับสภาพและการไฮโดรไลซิส

Rahman และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซโลสจากทะเลลายปาล์มเปล่า โดยใช้กรดซัลฟิวริกในการไฮโดรไลซิสและควบคุมอุณหภูมิที่ 120 องศาเซลเซียส หาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ ร้อยละ 2-6 โดยปริมาตร และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสที่ 0-90 นาที และใช้การวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM พบว่าเมื่อไฮโดรไลซิสทะเลลายปาล์มเปล่า ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 6 โดยปริมาตร และเวลาที่ใช้เท่ากับ 15 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 29.4 กรัมต่อลิตร, กลูโคส 2.34 กรัมต่อลิตร, เพอร์ฟิวรอล 0.87 กรัมต่อลิตร และกรดแอสติก 1.25 กรัมต่อลิตร

Piarpuzá n และคณะ (2011) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากทะเลลายปาล์มเปล่า โดยเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพวัตถุดิบ ก่อนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส คือปรับสภาพทะเลลายปาล์มเปล่าด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 1:10 อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 6 นาที มีน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นร้อยละ 63.5

Zhang และคณะ (2012) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของการไฮโดรไลซิสเพื่อผลิตน้ำตาลไซโลสจากทะเลลายปาล์มเปล่า โดยใช้กรดซัลฟิวริกพร้อมกับกรดฟอสฟอริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ <1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร การทำนายจะได้ผลได้ของน้ำตาลไซโลสร้อยละ 80-90 เมื่อไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 10-20 มิลลิลิตรต่อกรัมตัวอย่าง ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.25-0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้ร้อยละ 0.1-0.2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผลที่ได้จากการทดลองได้ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสที่ร้อยละ 91.3 เมื่อไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที อัตราส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของแข็งต่อของเหลว เท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อกรัมตัวอย่าง ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

Avci และคณะ (2013) ศึกษาการผลิตเอทานอลด้วยต้นข้าวโพด ใช้กระบวนการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก วางแผนการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM โดยใช้อัตราส่วนของตัวอย่างต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก เท่ากับ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร หาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพ ได้แก่ อุณหภูมิในการปรับสภาพ 120-190 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกร้อยละ 0.0-2.0 โดยปริมาตร และเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ 1-20 นาที พบว่าเมื่อใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ในการปรับสภาพจะให้ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสสูงสุดที่ 85 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที จะให้ผลได้ของน้ำตาลไซโลสสูงสุดที่ 91.4 เปอร์เซ็นต์

Duangwang และ Sangwichien (2013) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากทะเลลายปาล์มเปล่า เพื่อการผลิตน้ำตาลไซโลส เมื่อใช้ทะเลลายปาล์มขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร นำมาปรับสภาพทะเลลายปาล์มเปล่าด้วยไฮโดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อัตราส่วน 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เวลา 40 นาที และใช้การวางแผนการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 2-6 โดยปริมาตร อุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 100-130 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส 30-90 นาที พบว่าเมื่อใช้สภาวะของการไฮโดรไลซิสด้วยซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 7 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่สภาวะดังกล่าวสูงสุดเท่ากับ 56.39 กรัมต่อลิตร

Tan และคณะ (2013) ศึกษาการไฮโดรไลซิสทะเลลายปาล์มเปล่าด้วยกรดซัลฟิวริก เปรียบเทียบกับกรดฟอสฟอริก พบว่า เมื่อใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 2.4 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลได้น้ำตาลไซโลสร้อยละ 24 ซึ่งน้อยกว่าการใช้กรดซัลฟิวริก แต่การใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นสูงทำให้เกิดผลพลอยได้ เช่น อนุพันธ์ของฟูแรน, เฟอร์ฟิวรอล, 5-ไฮดรอกซี-เมทิลเฟอร์ฟิวรอล และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้กระบวนการหมัก เมื่อใช้กรดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5-1.0 โดยปริมาตร ในการไฮโดรไลซิส กระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์จะให้ผลดีที่สุด (Duangwang และ Sangwichien, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.16.3 การกำจัดสารพิษ

Kumar และคณะ (2009a) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวา โดยเชื้อ *Pichia stipitis* NCIM-3497 ไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสจากผักตบชวากับกรดซัลฟิวริก ทำการกำจัดสารพิษในไฮโดรไลเสทก่อนกระบวนการหมักโดยวิธี boiling เพื่อกำจัดสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น เฟอร์ฟิวรอล, ฟีนอล และ overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อลดความเข้มข้นของกรดชนิดต่างๆ เช่น กรดแอสติก กรดแทนนิก การเพิ่ม pH ให้สูงถึง 10 ในขั้นตอนของ overliming เพื่อตกตะกอนของโลหะหนัก จากการศึกษาพบว่าได้ปริมาณไซโลสร้อยละ 72.83 ให้ผลได้ของเอทานอล 0.425 กรัมต่อกรัม และอัตราการผลิต 0.176 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)

กระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman เบอร์ 1 (Whatman, England)

กระบอกตวง

ขวดแก้วใส่อาหาร (duran) (Duran Group GmbH, Germany)

ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) (Pyrex, Germany)

ขวดลดความดัน (suction flask)

คอลัมน์ชนิด Shim-pack Inertsil C8-3 (4.6x250 mm., 5  $\mu$ m) สำหรับ HPLC (SHIMADZU, Japan)

คิวเวตแก้ว (Starna, Australia)

จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish) (Pyrex, Germany)

จุกสำลี

ซ็อนตักสาร

ตะแกรงร่อน (Test Sieve) ขนาด 850 ไมโครเมตร

ที่วางหลอดทดลอง (rack)

ปิเกตอร์ (Pyrex, Germany)

ปิเปตแก้ว (Pyrex, Germany)

ฟลาสก์ (erlenmeyer flask) (Pyrex, Germany)

ไมโครปิเปต (micropipette) (B&M Scientific CC, South America)

หลอดทดลอง (test tube) (Pyrex, Germany)

อลูมิเนียมฟอยล์

#### 3.2 เครื่องมือ

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) (EVO@MA10; Carl zeiss, Germany)

เครื่องกลั่นแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) รุ่น Hei-VAP Advantage (Heidolph, Germany)

เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (hot plate stirrer) รุ่น UC152 (Stuart, England)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography; HPLC) รุ่น LC solution (SHIMADZU, Japan)

เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง LIBROR EB-40000 H (SHIMADZU, Japan)

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง Adventurer (OHAUS, USA)

เครื่องบดละเอียด รุ่น SK100 (Retsch, US)

เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) Falcon 6/300

เครื่องฟลูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปคโตรมิเตอร์ (fourier transform infrared spectroscopy; FTIR) (Nicolet 6700; Thermo scientific, Germany)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น UV-2800A (Unico, USA)

เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น Model 215 (Denver instrument)

ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ตู้ปลอดเชื้อ (microflow advanced bio safety carbinet) รุ่น ABS1200 (science tech, England)

ตู้เย็น รุ่น SR-595 (Sanyo, Japan)

ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส รุ่น Design series oven (Contherm Scientifica, New Zealand)

ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส รุ่น Design series oven (Contherm Scientifica, New Zealand)

ถังหมักขนาด 5 ลิตร (fermenter) (BIOSTAT® B Single, Germany)

โถดูดความชื้น (desiccator)

หม้อนึ่งความดันไอสําหรับฆ่าเชื้อ (autoclave) รุ่น ES-315 (TOMY)

### 3.3 สารเคมี

กรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ )

กรดโพรพิโอนิก (propionic acid;  $C_3H_6O_2$ ) (Sigma-Aldrich, USA)

กรดฟอสฟอริก ( $H_3SO_4$ )

แคลเซียมคลอไรด์ (NaCl) (Ajax, Australia)

แคลเซียมคาร์บอเนต ( $CaCO_3$ )

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (Ajax, Australia)

ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) (Ajax, Australia)

ไดแอมโมเนียมซัลเฟต ( $(NH_4)_2SO_4$ ) (Merck, Germany)

เปปโตน (peptone) (Himedia, India)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Merck, German)

โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) (Ajax, Australia)

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (Ajax, Australia)

แมงกานีสซัลเฟต ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Ajax, Australia)

สารสกัดยีสต์ (yeast extract) (Himedia, India)

เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต, Thailand)

### 3.4 วัตถุดิบ

ทะลายปาล์มเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดฟางได้รับความอนุเคราะห์จากโรงเพาะเห็ด อ.เมือง จ.ระยอง นำทะลายปาล์มมาตากแดดให้แห้งแล้วบดด้วยเครื่องบดอาหารสัตว์ หลังจากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ นำตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งมาบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงให้ได้ขนาดประมาณ 850 ไมโครเมตร (ดัดแปลงจาก ธีธวัชรินทร์ และคณะ, 2556) แล้วเก็บในภาชนะที่แห้งและปิดสนิทเพื่อป้องกันความชื้นก่อนการนำไปใช้

### 3.5 เชื้อจุลินทรีย์และการเก็บรักษา

เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดโพรพิโอนิกสายพันธุ์ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

นำเชื้อ *P. acidipropionici* TISTR 442 มาซิดลากลงบนอาหารแข็งสูตร de Man Rogosa Sharpe (MRS, ภาคผนวก ก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้พาราฟิล์มพันปิดปากหลอดทดลอง เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการถ่ายเชื้อ (sub culture) ทุกๆ 2 สัปดาห์ (พรวิสาข์, 2551)

### 3.6 การศึกษากระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ดัดแปลงจาก Piarpuzá n และคณะ, 2011; Kim และ Kim, 2013)

นำเส้นใยทะลายปาล์มที่ผ่านการลดขนาดมาปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1-3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อัตราส่วนของเส้นใยทะลายปาล์มต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยแช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นแยกส่วนที่เป็นของเหลวออก ให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ล้างเส้นใยทะลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำประปาจนได้ค่า pH เท่ากับ 7 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในตู้อบลมร้อนจนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำเส้นใยทะลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพมาวิเคราะห์ผลการทดลองดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.1 วิเคราะห์และเปรียบเทียบองค์ประกอบของเส้นใยละลายปาล์มก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วยวิธี Forage fiber analysis ของ Goering และ Van Soest (1970) (ภาคผนวก ข) ตรวจวิเคราะห์โดยฝ่ายปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.6.2 ศึกษาโครงสร้างของเส้นใยละลายปาล์มก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) (EVO@MA10; Carl zeiss, Germany) ตรวจวิเคราะห์โดยวิทยาลัยนวัตกรรมการจัดการข้อมูล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.6.3 ศึกษาหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของเส้นใยละลายปาล์มก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)) (Nicolet 6700; Thermo scientific, Germany) ตรวจวิเคราะห์โดยศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.6.4 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยละลายปาล์มก่อนปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17

### 3.7 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยละลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริกเพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง

การไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริกเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ ใช้การออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (central composite design; CCD) และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology; RSM) โดยมีค่าตอบสนองคือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปัจจัยที่ทำการศึกษา มีจำนวน 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยละลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส โดยระดับของตัวแปรในแต่ละปัจจัยแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับสูงสุด ( $+\alpha$ ), ระดับสูง (+1), ระดับกลาง (0), ระดับต่ำ (-1) และระดับต่ำสุด ( $-\alpha$ ) ได้ทั้งหมด 20 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และการออกแบบการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.2

การออกแบบการทดลองแบบ CCD สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของตัวแปรอิสระที่ศึกษา (independent variable) คือ ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสและอัตราส่วนของเส้นใยละลายปาล์ม ที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (อรทัย, 2553) ดังสมการที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (3.1)$$

โดยที่  $Y$  = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

$X_1$  = ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

$X_2$  = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

$X_3$  = เวลาในการไฮโดรไลซิส (นาที)

$\beta$  = ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficients)

**ตารางที่ 3.1** ตัวแปรอิสระและระดับของตัวแปรอิสระทั้ง 5 ระดับ ตามการออกแบบการทดลองแบบ CCD

ตัวแปรอิสระ	สัญลักษณ์	รหัส (Code factor)				
		-1.682	-1	0	1	1.682
ความเข้มข้น (ร้อยละโดยปริมาตร)	$X_1$	0.159	0.5	1.0	1.5	1.841
อัตราส่วน (กรัมต่อมิลลิลิตร)	$X_2$	1:1.59	1:5	1:10	1:15	1:18.41
เวลา (นาที)	$X_3$	9.54	30	60	90	110.46

**ตารางที่ 3.2** การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริก โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD

การทดลองที่	รหัสของปัจจัย			ระดับของปัจจัย		
	ความเข้มข้น* ( $X_1$ )	อัตราส่วน** ( $X_2$ )	เวลา *** ( $X_3$ )	ความเข้มข้น* ( $X_1$ )	อัตราส่วน** ( $X_2$ )	เวลา *** ( $X_3$ )
1	-1	-1	-1	0.5	1:5	30
2	-1	-1	1	0.5	1:5	90
3	-1	1	-1	0.5	1:15	30
4	-1	1	1	0.5	1:15	90
5	1	-1	-1	1.5	1:5	30

หมายเหตุ \* ความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

\*\* อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

\*\*\* เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส (นาที)

การทดลองที่ 13 ใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสจริงเท่ากับ 10 นาที

การทดลองที่ 14 ใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสจริงเท่ากับ 110 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริก โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD (ต่อ)

การทดลองที่	รหัสของปัจจัย			ระดับของปัจจัย		
	ความเข้มข้น* (X <sub>1</sub> )	อัตราส่วน** (X <sub>2</sub> )	เวลา *** (X <sub>3</sub> )	ความเข้มข้น* (X <sub>1</sub> )	อัตราส่วน** (X <sub>2</sub> )	เวลา *** (X <sub>3</sub> )
6	1	-1	1	1.5	1:5	90
7	1	1	-1	1.5	1:15	30
8	1	1	1	1.5	1:15	90
9	-1.682	0	0	0.159	1:10	60
10	1.682	0	0	1.841	1:10	60
11	0	-1.682	0	1.0	1:1.59	60
12	0	1.682	0	1.0	1:18.41	60
13	0	0	-1.682	1.0	1:10	9.54
14	0	0	1.682	1.0	1:10	110.46
15	0	0	0	1.0	1:10	60
16	0	0	0	1.0	1:10	60
17	0	0	0	1.0	1:10	60
18	0	0	0	1.0	1:10	60
19	0	0	0	1.0	1:10	60
20	0	0	0	1.0	1:10	60

หมายเหตุ \* ความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

\*\* อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

\*\*\* เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส (นาที)

การทดลองที่ 13 ใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสจริงเท่ากับ 10 นาที

การทดลองที่ 14 ใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสจริงเท่ากับ 110 นาที

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสตามการออกแบบการทดลองแบบ CCD แล้วจึงทำการไฮโดรไลซิส โดยนำเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพมาเติมสารละลายกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 0.159-1.841 โดยปริมาตร (ดัดแปลงจาก Avci และคณะ, 2013) และเพิ่มเวลาไฮโดรไลซิสเป็น 10-110 นาที อัตราส่วนเท่ากับ 1:1.59-1:18:41 กรัมต่อมิลลิลิตร (ดัดแปลงจาก Tan และคณะ, 2013) แต่เนื่องจากข้อจำกัดของเครื่องมือที่ใช้จึงไม่สามารถเพิ่มอุณหภูมิในการไฮโดรไลซิสได้ งานวิจัยนี้จึงควบคุมอุณหภูมิในการไฮโดรไลซิสด้วยหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จากนั้นแยกส่วนของเหลวด้วยกระดาษกรอง ยี่ห้อ whatman เบอร์ 1 ปรับค่า pH เท่ากับ 7 และนำไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มมาวิเคราะห์ผลการทดลองดังนี้

3.7.1 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส (3,5-dinitrosalicylic acid method; DNS) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข)

3.7.2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการทดลองด้วยวิธี RSM โดยสร้างกราฟสามมิติของพื้นที่ผิวตอบสนอง (surface plot) และกราฟเส้นโครงร่าง (contour plot) ด้วยโปรแกรม STATISTICA 7

3.7.3 วิเคราะห์สมการถดถอยเพื่อทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากการไฮโดรไลซิส ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17 และเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากสมการทางคณิตศาสตร์กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการทดลอง

### 3.8 การเตรียมน้ำตาลรีดิวซ์จากเส้นใยทะเลลายปาล์มเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน

เมื่อได้ค่าความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มแล้วจึงเตรียมไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับกระบวนการหมักกรดโพรพิโอนิก โดยนำเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริกมาให้ความร้อนโดยใช้หม้อนิ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 63 นาที มากรองเก็บส่วนเหลวใสด้วยผ้าขาวบางก่อน แล้วจึงกรองด้วยกระดาษกรองยี่ห้อ whatman เบอร์ 1 ปรับค่า pH ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์มอล จนค่า pH เท่ากับ 7 หลังจากนั้นทำการกรองอีกครั้งเพื่อแยกตะกอนออก แล้วจึงเก็บไฮโดรไลเสทที่ได้ในตู้เย็นจนถึงการทดลองขั้นต่อไป

### 3.9 การศึกษาการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยวิธี overliming (ดัดแปลงจากวิธีของ Kumar และคณะ, 2009a)

ศึกษาการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยวิธี overliming โดยนำส่วนไฮโดรไลเสทปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มาให้ความร้อนและควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อลดความเข้มข้นของสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น เฟอร์ฟิวรอล, ฟีนอล จากนั้นเติมน้ำกลั่นร้อนเพื่อปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร ดั้งเดิม เติมโซเดียมซัลไฟต์ ปริมาณ 0.1% (1 กรัม) พร้อมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ คนสารละลายให้เข้ากันจนกระทั่งค่า pH เท่ากับ 10 กรองสารละลายเพื่อแยกตะกอนออกโดยใช้กระดาษกรอง ยี่ห้อ whatman เบอร์ 1 นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปปรับค่า pH ให้เท่ากับ 6 โดยใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล เพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเซสก่อนการเตรียมอาหารสำหรับหมักและวิเคราะห์ผลการทดลองดังนี้

3.9.1 วิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนและหลังการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming โดยวิธีดีเอ็นเอส (3,5-dinitrosalicylic acid method; DNS) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข)

### 3.10 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (ดัดแปลงจากวิธีของ พรวิสาข์, 2551)

การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับการหมักกรดโพรพิโอนิก *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 อายุ 48 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีอาหารเหลวสูตร MRS ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บน้ำหมักไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ปรับความขุ่นของน้ำหมักให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 ด้วยอาหารเหลวชนิดเดิมจะได้หัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในงานวิจัย

### 3.11 การศึกษาและเปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเซสที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศึกษาและเปรียบเทียบระหว่างการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเซสที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming ในข้อที่ 3.8 และไฮโดรไลเซสที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ จากเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยนำไฮโดรไลเซสทั้ง 2 ชนิด มาเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบตามสูตรอาหารดัดแปลง (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 3,000 มิลลิลิตร ปรับ pH เท่ากับ 6.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 40 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อเริ่มต้นปริมาตรร้อยละ 5 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการหมักโดยควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส (พรวิสาข์, 2551) ควบคุมค่า pH ให้เท่ากับ 6.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 โมลาร์ (Liu และคณะ, 2010) อัตราการกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที และหมักแบบสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic conditions) โดยใช้ไนโตรเจนรักษาสภาวะ (Dishisha และคณะ, 2013) เก็บตัวอย่างน้ำหมักที่เวลา 0 และทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 144 ชั่วโมง โดยนำหมักที่ได้นำไปวิเคราะห์ดังนี้

3.11.1 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส (3,5-dinitrosalicylic acid method; DNS) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข)

3.11.2 ตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total plate count (ภาคผนวก ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.11.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดโพธิ์ฟีนิกที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack Inertsil C8-3 (4.6x250 mm., 5  $\mu$ m, SHIMADZU, Japan) โดยมีสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ (Coral และคณะ, 2008) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วย UV-Detector ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ตามวิธีการวิเคราะห์ (ภาคผนวก ข) เปรียบเทียบผลการผลิตกรดโพธิ์ฟีนิกจากอาหารไฮโดรไลสเสททั้งสองชนิด โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17

3.11.4 คำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์ของกรดโพธิ์ฟีนิก (ภาคผนวก ข) ได้แก่ ผลได้ของผลิตภัณฑ์ และอัตราการเกิดของผลิตภัณฑ์

3.11.5 เปรียบเทียบผลการผลิตกรดโพธิ์ฟีนิกจากอาหารไฮโดรไลสเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming ในข้อที่ 3.8 และไฮโดรไลสเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17

### 3.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษาในหัวข้อ 3.6 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ใช้การวางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized desing) นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17

การศึกษาในหัวข้อ 3.7 วางแผนการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM, วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17 และหาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างตัวแปรที่ศึกษาโดนสร้างสมการถดถอย และสร้างกราฟสามมิติ โดยใช้โปรแกรม STATISTICA 7 เพื่อทำนายสภาวะที่เหมาะสมต่อการทดลอง

การศึกษาในหัวข้อ 3.11 ใช้การวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี T-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแปรปรวนของข้อมูลด้วย F-test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

การศึกษาและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์ม ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภท ลิกโนเซลลูโลส นั้น พบว่าเส้นใยทะเลลายปาล์มเปล่ามีส่วนประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และอื่นๆ ที่สามารถนำมาผ่านกระบวนการปรับสภาพและไฮโดรไลซิสเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สำหรับ กระบวนการหมักทางชีวภาพได้

จากการทดลองนำทะเลลายปาล์มเปล่าที่เหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดฟางที่ผ่านการลดขนาดด้วยการ บดด้วยเครื่องบดอาหารสัตว์ อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ และร่อนผ่านตะแกรง ให้ได้ขนาดประมาณ 850 ไมโครเมตร จากนั้นนำมาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1:10 กรัมต่อมิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

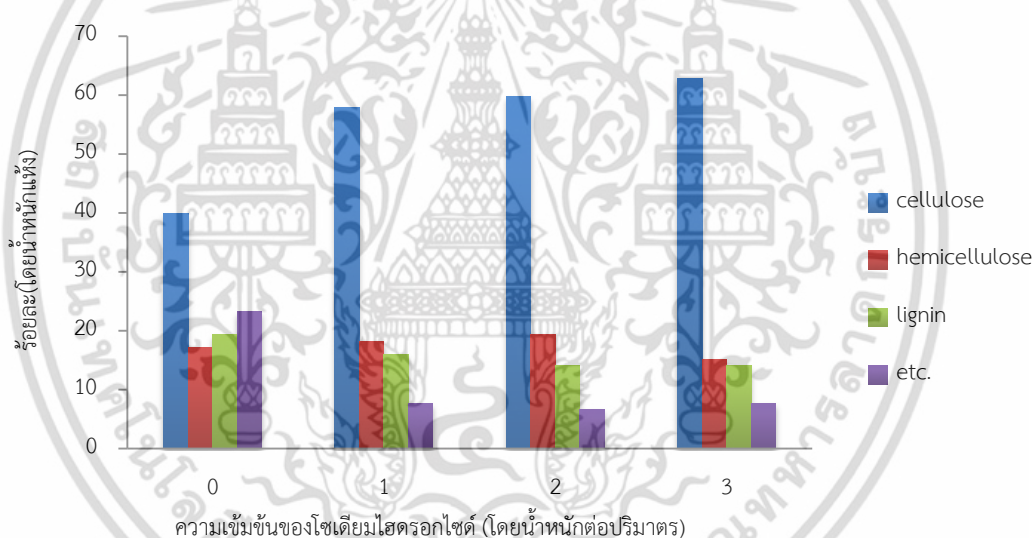
เส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ มีองค์ประกอบทางเคมี ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ  $39.99 \pm 0.09$ , เฮมิเซลลูโลสร้อยละ  $17.24 \pm 0.86$ , ลิกนินร้อยละ  $19.48 \pm 0.03$  และอื่นๆ ร้อยละ  $23.29 \pm 0.90$  โดยน้ำหนักแห้ง และเมื่อเปรียบเทียบผลการปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์จะทำให้เซลลูโลสเพิ่มขึ้น ขณะที่เฮมิเซลลูโลสและลิกนินมีปริมาณลดลง ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงดัง รูปที่ 4.1

เมื่อใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในการปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์ม ทำให้มีให้ปริมาณของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ  $62.81 \pm 0.30$  และมีปริมาณลิกนินลดลงเหลือร้อยละ  $14.23 \pm 0.19$  โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ดังนั้นงานวิจัยจึงเลือกใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มาใช้ในการปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนกระบวนการไฮโดรไลซิสต่อไป

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

องค์ประกอบ (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	ก่อนการปรับสภาพ	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)		
		1	2	3
เซลลูโลส	39.99±0.09 <sup>d</sup>	57.92±0.25 <sup>c</sup>	59.79±0.09 <sup>b</sup>	62.81±0.30 <sup>a</sup>
เฮมิเซลลูโลส	17.24±0.86 <sup>c</sup>	18.27±0.24 <sup>b</sup>	19.40±0.11 <sup>a</sup>	15.25±0.27 <sup>d</sup>
ลิกนิน	19.48±0.03 <sup>a</sup>	16.03±0.16 <sup>b</sup>	14.08±0.08 <sup>c</sup>	14.23±0.19 <sup>c</sup>
อื่นๆ	23.29±0.90 <sup>a</sup>	7.78±0.45 <sup>b</sup>	6.73±0.17 <sup>c</sup>	7.71±0.27 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษ ในแถวเดียวกันตามแนวนอนมีความแตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

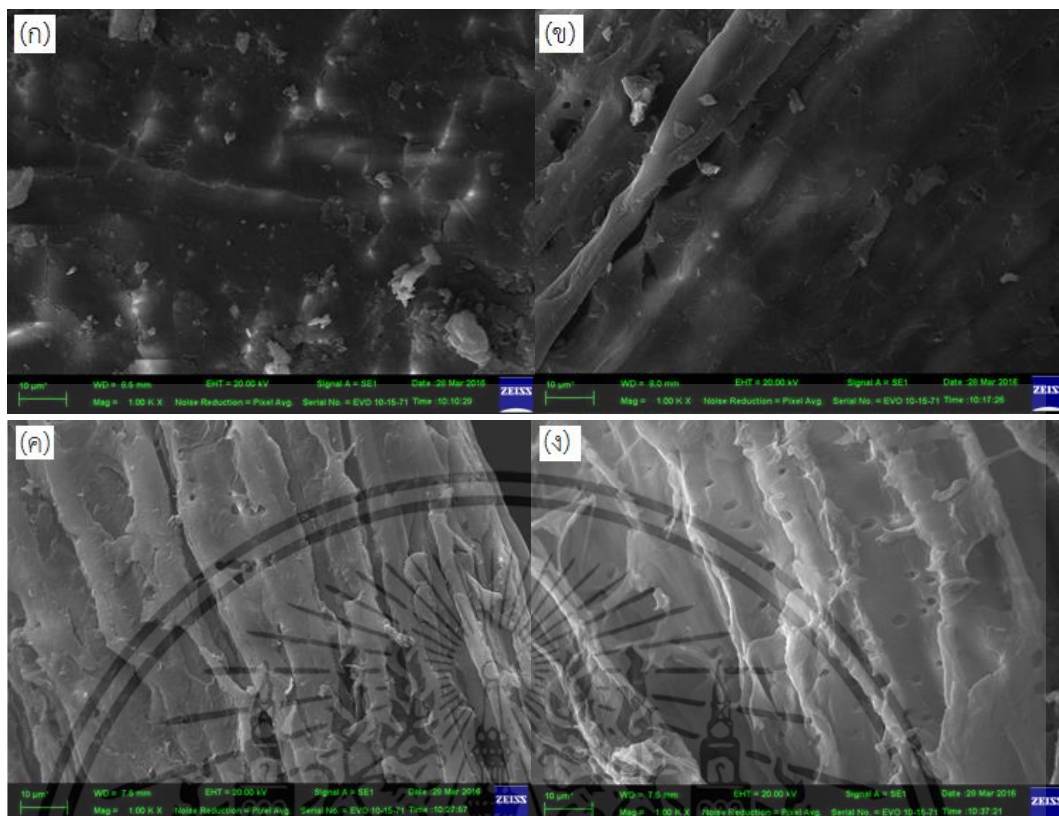
ในการปรับสภาพวัตถุดิบ มีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดลิกนินและปรับโครงสร้างของเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิส โดยจะลดโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นผลึกของเซลลูโลส ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการเข้าทำปฏิกิริยา (นันทิกา และคณะ, 2554) ปัจจัยที่สำคัญสำหรับการปรับสภาพด้วยด่าง ได้แก่ อุณหภูมิ เวลา และความเข้มข้นของด่าง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการไฮโดรไลซิส (Iberahim และคณะ, 2013) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Piarpuzá n และคณะ (2011) ใช้วิธีการปรับสภาพทะเลลายปาล์มเปล่าด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 อัตราส่วนของเส้นใยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทะเลสาบปาล์มต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยแช่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ก่อนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำมาปรับสภาพต่อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 6 นาที พบว่าลิกนินใกล้เคียงกับครึ่งหนึ่งของเซลลูโลส เมื่อผ่านการปรับสภาพ ลิกนินลดลงจากร้อยละ 7.79 เหลือร้อยละ 1.59 โดยน้ำหนัก ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า โซเดียมไฮดรอกไซด์มีความเหมาะสมต่อการปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส และงานวิจัยของ Iberahim และคณะ (2013) ศึกษาการปรับสภาพเส้นใยจากลูกปาล์มที่มีขนาดเฉลี่ย 2 มิลลิเมตร โดยใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2-10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการปรับสภาพคือที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทำให้น้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นร้อยละ 90 แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพทางเคมีด้วยด่างนั้นเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดปริมาณลิกนินในวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส

#### 4.2 ลักษณะโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยทะเลสาบปาล์มภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM)

เมื่อศึกษาโครงสร้างและพื้นผิวทางกายภาพของเส้นใยทะเลสาบปาล์ม ก่อนการปรับสภาพและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธีทางกายภาพร่วมกับวิธีทางเคมีด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) ตรวจสอบวิเคราะห์โดยวิทยาลัยนวัตกรรมการจัดการข้อมูล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง แสดงดังรูปที่ 4.2 พบว่า (ก) คือลักษณะพื้นผิวภายในเส้นใยทะเลสาบปาล์มก่อนการปรับสภาพจะมีลักษณะพื้นผิวที่เรียบ โครงสร้างมีความหนาแน่น ซึ่งแตกต่างจาก (ข) (ค) และ (ง) ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ พบว่ามีลักษณะของโครงสร้างเส้นใยชัดเจนไม่เป็นระเบียบ และมีความพรุนมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เนื่องจากโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้าไปลดระดับการเกิดพอลิเมอร์และผลึกของลิกนิน ทำให้เกิดช่องว่างของลิกโนเซลลูโลสเพิ่มขึ้น

งานวิจัยของ Ariffin และคณะ (2008) ศึกษาผลของตัวแปรต่างๆ ต่อการปรับสภาพทะเลสาบปาล์มเปล่าด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเมื่อผ่านการปรับสภาพทำให้โครงสร้างคลายตัวมากขึ้นเนื่องจากเกิดปฏิกิริยา delignification ทำให้พันธะระหว่างเซลลูโลสคลายออก นอกจากนี้เมื่อเอมิเซลลูโลสถูกกำจัดจะทำให้เห็นลักษณะเป็นรูที่พื้นผิวอย่างชัดเจน และเมื่อใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จะมีผลกระทบต่อโครงสร้างมากที่สุด



รูปที่ 4.2 แสดงโครงสร้างและพื้นผิวของเส้นใยทะเลลายปาล์มเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (ก) เส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพ (ข) เส้นใยทะเลลายปาล์มหลังปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ค) เส้นใยทะเลลายปาล์มหลังปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ง) เส้นใยทะเลลายปาล์มหลังปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

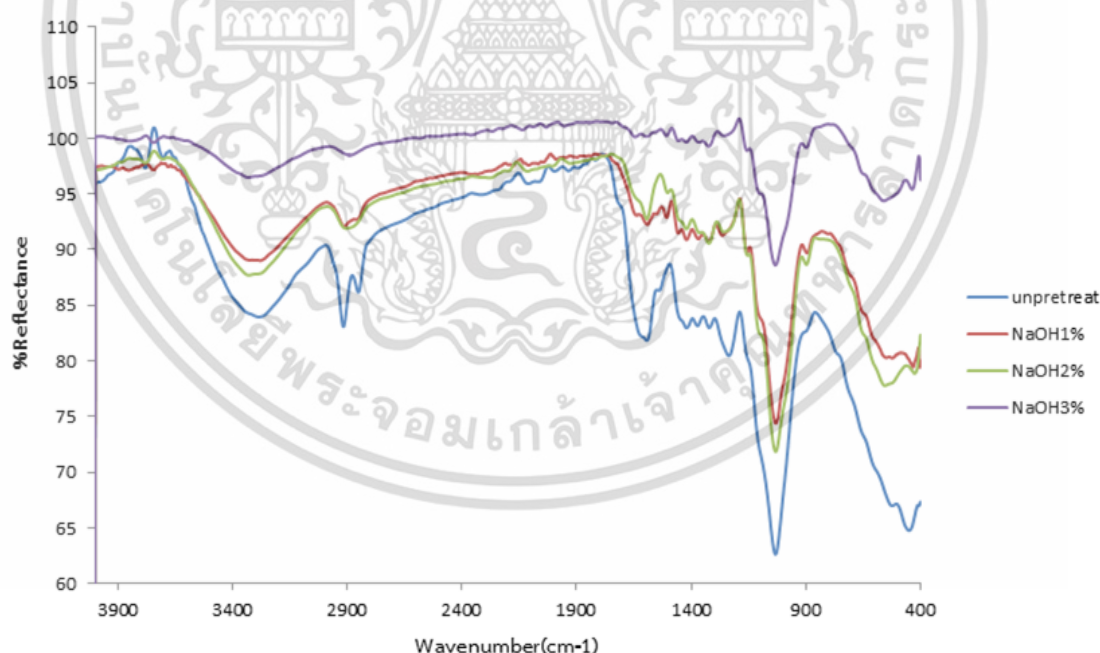
#### 4.3 ตรวจสอบโครงสร้างสารของเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (fourier transform infrared spectroscopy; FTIR)

จากการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพ และหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1-3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ด้วยเครื่อง FTIR ตรวจวิเคราะห์โดยศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในช่วง wave number 4,000-400 ต่อเซนติเมตร ( $\text{cm}^{-1}$ )

พบว่าเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรากฏค่าการดูดกลืนแสงบริเวณ  $1590-1600 \text{ cm}^{-1}$  เป็นช่วงคลื่นที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน C=C ซึ่งเป็นโครงสร้างของอะโรมาติก เช่น ลิกนิน, บริเวณ  $1235 \text{ cm}^{-1}$  เป็นช่วงคลื่นที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน  $\text{COOH}^-$  ซึ่งเป็นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส และคลื่นที่บริเวณ  $1000-1200\text{ cm}^{-1}$  เป็นช่วงคลื่นที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของ C-O, C-O-C, C-OH ซึ่งเป็นโครงสร้างของเซลลูโลสและลิกนิน (Yunos และคณะ, 2012) แต่เมื่อปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงตามตำแหน่งที่กล่าวมาข้างต้นนั้นลดลง แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์นั้นมีผลต่อการลดลงของปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลส และเมื่อใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำให้มีปริมาณของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสลดลงมากที่สุด แสดงดังรูปที่ 4.3

ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ ธวัชณ์ (2557) ได้ศึกษาเกี่ยวกับหมู่ฟังก์ชันเคมีของเส้นใยกัญชงที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และสารคู่ควบโซเลน พบว่าเส้นใยกัญชงที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ แสดงค่าการดูดกลืนแสงบริเวณ  $2916\text{ cm}^{-1}$  เป็นหมู่ C-H และ  $1650-1700\text{ cm}^{-1}$  เป็นหมู่ C=O ของหมู่เฮมิเซลลูโลส และจากการปรับสภาพของเส้นใยกัญชงด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ปรากฏว่าพีคบริเวณ  $2916\text{ cm}^{-1}$  และ  $1650-1700\text{ cm}^{-1}$  ของหมู่เฮมิเซลลูโลสได้หายไป แสดงว่าการปรับสภาพเส้นใยส่งผลให้สารเฮมิเซลลูโลสซึ่งเคลือบเส้นใยอยู่ได้ถูกกำจัดออกไป



รูปที่ 4.3 FTIR spectra ของเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองเมื่อทำการปรับสภาพเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับวิธีทางเคมี พบว่าโครงสร้างของเส้นใยมีลักษณะเปลี่ยนแปลงจากเดิมเมื่อเทียบกับโครงสร้างที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพทางเคมี ร่วมกับการใช้ความร้อนขึ้นเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการกำจัดลิกนิน และทำให้ปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเพิ่มขึ้น การปรับสภาพโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นสูงและเวลานาน จะทำให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ทำปฏิกิริยากับโครงสร้างที่อยู่ถัดไป ซึ่งส่งผลให้ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสลดลง เมื่อใช้เวลานานเกินไป (ปิยะนุช, 2557)

#### 4.4 สภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริก สำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริก สำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้กระบวนการทางสถิติ สร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการออกแบบการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส ในการศึกษาี้เลือกใช้การวางแผนการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (central composite design; CCD) และหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีการออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนอง (response surface methodology; RSM) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซิสคือ ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกร้อยละ 0.159-1.841 โดยปริมาตร เวลาไฮโดรไลซิสเป็น 10-110 นาที และอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริกเท่ากับ 1:1.59-1:18.41 กรัมต่อมิลลิลิตร การไฮโดรไลซิสควบคุมอุณหภูมิโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริก โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD

การทดลองที่	รหัสของปัจจัย			ระดับของปัจจัย			น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	
1	-1	-1	-1	0.5	1:5	30	5.55±0.29
2	-1	-1	1	0.5	1:5	90	8.91±0.32
3	-1	1	-1	0.5	1:15	30	4.15±0.07
4	-1	1	1	0.5	1:15	90	7.02±0.30
5	1	-1	-1	1.5	1:5	30	8.37±0.74
6	1	-1	1	1.5	1:5	90	11.89±0.20
7	1	1	-1	1.5	1:15	30	5.51±0.14
8	1	1	1	1.5	1:15	90	7.98±0.19
9	-1.68	0	0	0.159	1:10	60	3.29±0.07
10	1.68	0	0	1.841	1:10	60	8.11±0.45
11	0	-1.68	0	1.0	1:1.59	60	9.84±0.16
12	0	1.68	0	1.0	1:18.41	60	5.81±0.09
13	0	0	-1.68	1.0	1:10	9.54	4.72±0.08
14	0	0	1.68	1.0	1:10	110.46	6.08±0.05
15	0	0	0	1.0	1:10	60	15.96±0.62
16	0	0	0	1.0	1:10	60	16.06±0.26
17	0	0	0	1.0	1:10	60	15.96±0.25
18	0	0	0	1.0	1:10	60	16.08±0.16
19	0	0	0	1.0	1:10	60	15.91±0.10
20	0	0	0	1.0	1:10	60	16.05±0.22

หมายเหตุ C = ความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

R = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

T = เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส (นาที)

การทดลองที่ 13 ใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสจริงเท่ากับ 10 นาที

การทดลองที่ 14 ใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสจริงเท่ากับ 110 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 การสร้างสมการถดถอยและการวิเคราะห์นัยสำคัญของค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย

การสร้างสมการถดถอยเพื่ออธิบายความสัมพันธ์เชิงเส้นของปัจจัย สามารถทำได้โดยนำค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของแต่ละตัวแปร ( $\beta_i$ ) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS ไปแทนค่าในสมการที่ 4.1

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (4.1)$$

โดยที่  $Y$  = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

$X_1$  = ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

$X_2$  = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิเมตร)

$X_3$  = เวลาในการไฮโดรไลซิส (นาที)

$\beta$  = ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficients)

จากนั้นพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยและค่าความน่าจะเป็น (P value) ของแต่ละตัวแปร เพื่อหาปัจจัยที่มีอิทธิพลหรือความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษา (ความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิส) กับค่าตอบสนอง (ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์) และตัดปัจจัยหรือตัวแปรที่ไม่มีความสัมพันธ์ ซึ่งไม่มีค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย แสดงดังตารางที่ 4.3

พิจารณาในส่วนของ Linear terms พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ผลเชิงเส้นตรงของความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิส เท่ากับ 0.762, -1.233 และ 1.488 ตามลำดับ และมีค่าความน่าจะเป็นเท่ากับ 0.000, 0.000 และ 0.000 ตามลำดับ ซึ่งมีค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) สามารถนำไปใช้ทำนายในสมการถดถอยได้

พิจารณาในส่วนของ Interaction terms พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ผลเชิงปฏิริยาสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดฟอสฟอริกกับอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นกรดฟอสฟอริกกับเวลาในการไฮโดรไลซิส และอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริกกับเวลาในการไฮโดรไลซิส เท่ากับ -0.435, -0.030 และ -0.193 ตามลำดับ และมีค่าความน่าจะเป็นเท่ากับ 0.014, 0.862 และ 0.266 ตามลำดับ ซึ่ง 0.014 มีค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) สามารถนำไปใช้ทำนายในสมการถดถอยได้

แต่ 0.862 และ 0.266 ไม่มีค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) จึงไม่สามารถนำไปใช้ทำนายในสมการถดถอยได้

พิจารณาในส่วนของ Square terms พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ผลเชิงเส้นโค้งของความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิส เท่ากับ -3.389, -2.532 และ -3.284 ตามลำดับ และมีค่าความน่าจะเป็นเท่ากับ 0.000, 0.000 และ 0.000 ตามลำดับ ซึ่งมีค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p\leq 0.05$ ) สามารถนำไปใช้ทำนายในสมการถดถอยได้ (อรทัย, 2553)

**ตารางที่ 4.3** แสดงค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของแต่ละตัวแปรที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยกระบวนการไฮโดรไลซิส

Factors	Code	Coefficients	Unstandardized coefficients		T value	P value
			$\beta$	Standard error		
Constant	Constant	$\beta_0$	15.949	0.198	80.720	0.000*
Concentration	$X_1$	$\beta_1$	0.762	0.131	5.817	0.000*
Ratio (S:L)	$X_2$	$\beta_2$	-1.233	0.131	-9.406	0.000*
Time	$X_3$	$\beta_3$	1.488	0.131	11.350	0.000*
Concentration*Ratio	$X_1X_2$	$\beta_{12}$	-0.435	0.171	-2.540	0.014*
Concentration*Time	$X_1X_3$	$\beta_{13}$	-0.030	0.171	-0.175	0.862
Ratio*time	$X_2X_3$	$\beta_{23}$	-0.193	0.171	-1.124	0.266
Concentration <sup>2</sup>	$X_1^2$	$\beta_{11}$	-3.389	0.128	-26.559	0.000*
Ratio <sup>2</sup>	$X_2^2$	$\beta_{22}$	-2.532	0.128	-19.845	0.000*
Time <sup>2</sup>	$X_3^2$	$\beta_{33}$	-3.284	0.128	-25.737	0.000*

หมายเหตุ \* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p\leq 0.05$ )

เมื่อพิจารณาทุกส่วนแล้วสามารถสร้างแบบจำลองสมการถดถอยได้จากสมการที่ 4.1 และตารางค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของแต่ละตัวแปร ซึ่งเป็นสมการที่ใช้สำหรับทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ตั้งสมการที่ 4.2 (ที่ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$Y = 15.949 + 0.762X_1 - 1.233X_2 + 1.488X_3 - 0.435X_1X_2 - 3.389X_1^2 - 2.532X_2^2 - 3.284X_3^2 \quad (4.2)$$

โดยที่  $Y$  = ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)

$X_1$  = ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

$X_2$  = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

$X_3$  = เวลาในการไฮโดรไลซิส (นาท)

$\beta$  = ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficients)

#### 4.5.1 การวิเคราะห์การถดถอยของปัจจัยต่างๆ และการวิเคราะห์นัยสำคัญของแบบจำลอง

พิจารณาผลการวิเคราะห์การถดถอยของปัจจัยความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิส ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวิซ์ ที่ค่าความน่าจะเป็นที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงผลดังตารางที่ 4.4

**ตารางที่ 4.4** แสดงผลการวิเคราะห์การถดถอยของปัจจัยความเข้มข้น อัตราส่วน และเวลา ความสัมพันธ์ ที่มีต่อการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในไฮโดรไลซิส (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95)

Source	Sum of Squares	Degree of freedom	Mean square	F value	P value
Model	1253.508 <sup>๕</sup>	13	96.424	1190.048	.000*
$X_1$	27.540	2	13.770	169.950	.000*
$X_2$	62.323	2	31.161	384.590	.000*
$X_3$	90.786	2	45.393	560.232	.000*
$X_1X_2$	4.541	1	4.541	56.049	.000*
$X_1X_3$	.022	1	.022	0.267	.608
$X_2X_3$	.889	1	.889	10.976	.002*
$X_1^2$	.000	0			
$X_2^2$	.000	0			
$X_3^2$	.000	0			

หมายเหตุ \* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยที่ได้ พบว่ามีความน่าจะเป็นเท่ากับ 0.000 ซึ่งมีค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังนั้นสมการถดถอยที่สร้างขึ้นจึงมีความเหมาะสมสำหรับทำนายหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.972 หรือร้อยละ 97.2 และค่าปรับปรุงสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (adjusted  $R^2$ ) เท่ากับ 0.967 หรือร้อยละ 96.7 และเมื่อทำการทดสอบความเหมาะสมของแบบจำลอง (lack of fit) พบว่า P value มีค่าเท่ากับ 0.22 แสดงว่าแบบจำลองนี้มีความเหมาะสมและสามารถใช้เป็นตัวแทนของชุดข้อมูลได้ ( $p > 0.05$ ) (อรทัย, 2553) ซึ่งผลการวิเคราะห์สมการถดถอยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ แสดงดังตารางที่ 4.5

**ตารางที่ 4.5** ผลการวิเคราะห์สมการถดถอยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95)

Source	Sum of Squares	Degree of freedom	Mean square	F value	P value
Regression	1222.03	9	135.78	192.86	.000 <sup>a</sup>
Residual	35.2	50	0.70		
Lack of fit	0.126	1	0.13	1.58	0.22
Pure error	3.60	45	0.08		
หมายเหตุ	$R^2 = 0.972$ , Adjusted $R^2 = 0.967$				

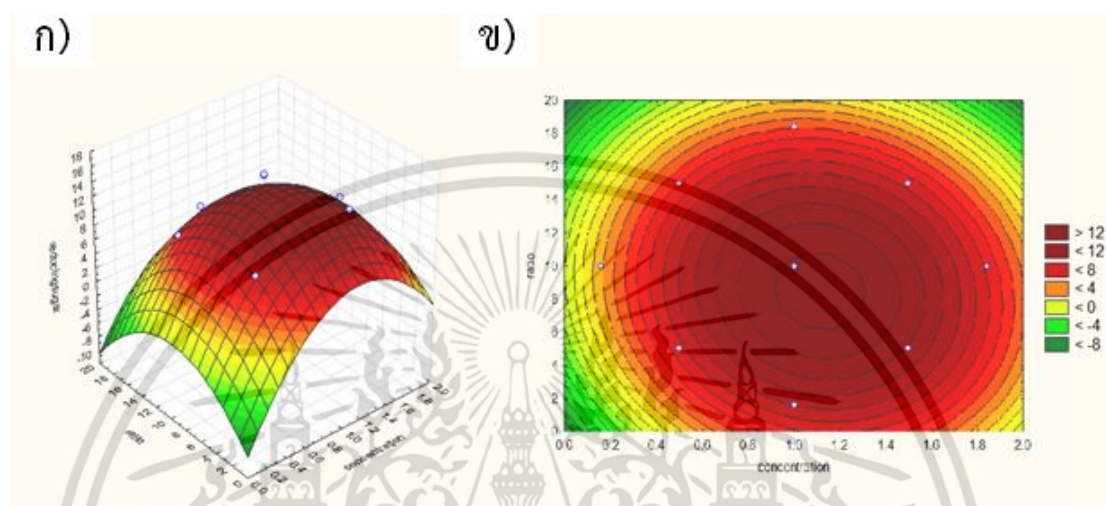
#### 4.6 อิทธิพลของตัวแปรอิสระต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

การวิเคราะห์อิทธิพลของตัวแปรอิสระต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ หาผลตอบสนองของด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองโดยสร้างกราฟ 3 และ 2 มิติของพื้นที่ตอบสนอง ได้ในรูปของกราฟพื้นผิวตอบสนอง (surface plot) และกราฟโครงร่าง (contour plot) เป็นพื้นที่ตอบสนองระหว่างความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิส

เมื่อพิจารณารูปที่ 4.4 ก) กราฟพื้นที่ตอบสนองระหว่างปัจจัย ความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งจุดสูงสุดของกราฟมีค่าเท่ากับร้อยละ 1.16 โดยปริมาตร, 1:8.42 กรัมต่อมิลลิลิตร และ 13.47 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากกราฟจะเห็นได้ว่าการไฮโดรไลซิสเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริกเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง เนื่องจากเกิดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

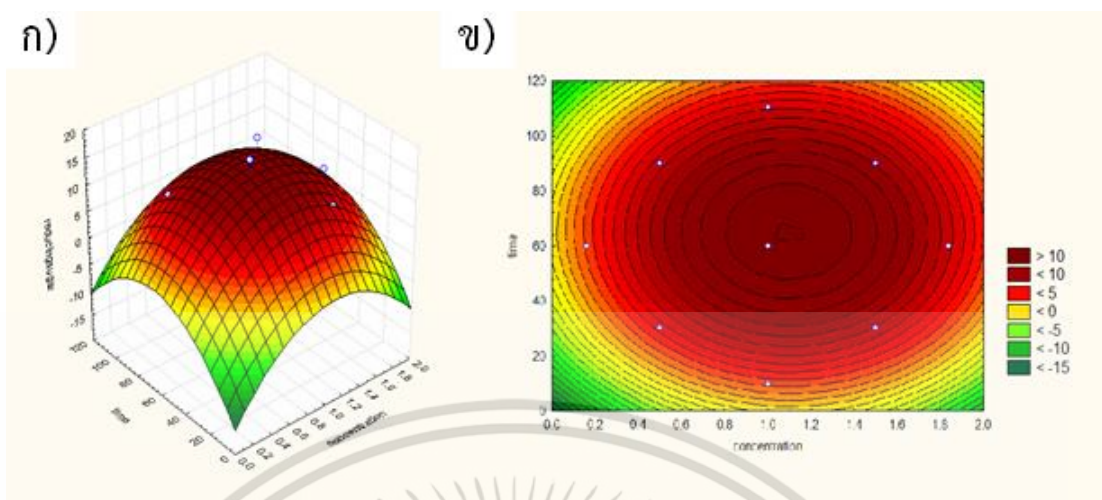
สลายตัวของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยปริมาณความเข้มข้นของกรดที่มากจะทำลายโครงสร้างน้ำตาล เป็นผลทำให้สูญเสียโมเลกุลของน้ำตาลทั้งหมดไปเป็นผลพลอยได้ซึ่งเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ กรดอินทรีย์ (กรดแอสติก กรดฟอร์มิก และกรดแลวลินิก) ฟูแรน (เฟอร์ฟิวรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรอล) และสารประกอบฟีนอลิก (Tan และคณะ, 2013)



รูปที่ 4.4 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกและอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มหลังปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริกต่อปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์  
ก) กราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง, ข) กราฟเส้นโครงร่าง

เมื่อพิจารณากราฟในรูปที่ 4.5 ก) กราฟพื้นที่ตอบสนองระหว่างปัจจัย ความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก เวลาในการไฮโดรไลซิส และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งจุดสูงสุดของกราฟมีค่าเท่ากับร้อยละ 1.05 โดยปริมาตร, 63.16 นาที และ 14.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากกราฟจะเห็นได้ว่าเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากกรดอ่อนจะช่วยทำลายโครงสร้างของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลน้ำตาลรีดิวซ์ (Lenihan และคณะ, 2011) ความเข้มข้นของกรดเป็นตัวแปรที่สำคัญในการเกิดน้ำตาล ในขณะที่เวลานำให้ในการไฮโดรไลซิสก็มีผลต่อการสลายตัวของน้ำตาลและเกิดผลพลอยได้ต่างๆ (Rahman และคณะ, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Satarn และคณะ (2014) ศึกษาการไฮโดรไลซิสขี้ข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก อุณหภูมิ 122 องศาเซลเซียส อัตราส่วน 1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0-6 โดยปริมาตร ที่เวลา 15-180 นาที และเมื่อใช้กรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยปริมาตร เวลา 60 นาที จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 24.96 กรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาการไฮโดรไลซิส แต่หลังจากไฮโดรไลซิสเวลามากกว่า 60 นาที น้ำตาลจะลดลงเนื่องจากเกิดสารประกอบที่เป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

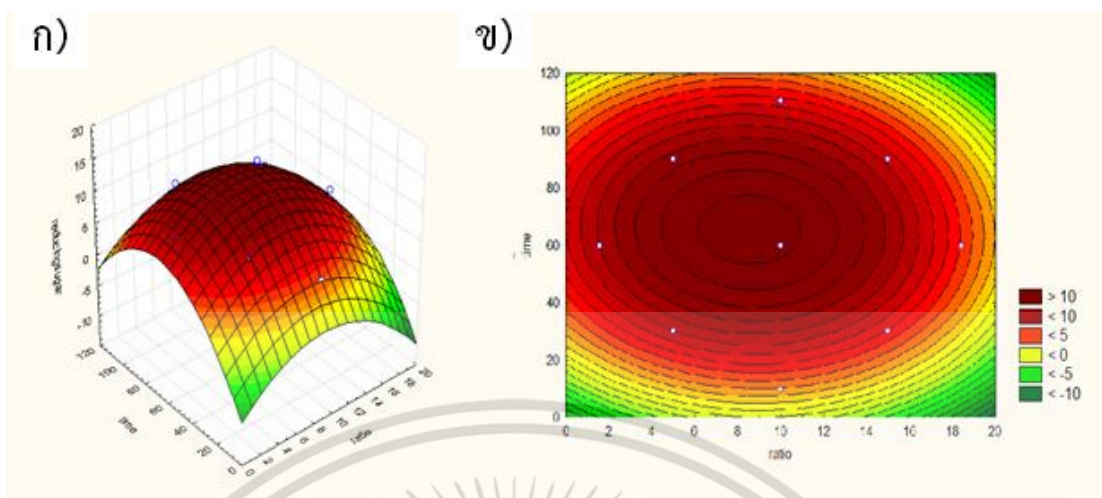


รูปที่ 4.5 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกและเวลาในการไฮโดรไลซิสต่อปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวิซ์

ก) กราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง, ข) กราฟเส้นโครงร่าง

และเมื่อพิจารณากราฟในรูปที่ 4.6 ก) กราฟพื้นที่ตอบสนองระหว่างปัจจัย อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก เวลาในการไฮโดรไลซิส และปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ ซึ่งจุดสูงสุดของกราฟมีค่าเท่ากับร้อยละ 1:7.37 กรัมต่อมิลลิลิตร, 63.16 นาที และ 13.89 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากกราฟจะเห็นได้ว่าอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริกมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ พบว่าเมื่ออัตราส่วนเพิ่มขึ้นจาก 1:5 ถึง 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์จะเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนมากกว่า 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์จะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Boonmanumsin และคณะ (2012) ศึกษาผลของอัตราส่วนการผลิตน้ำตาลโมโนเมอร์ (monomeric sugar) จาก *Miscanthus sinensis* โดยใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์มากกว่า 1:15 จะทำให้เกิดน้ำตาลโมโนเมอร์ลดลงเนื่องจากตัวอย่างถูกเจือจางโดยสารละลายที่มากเกินไป และงานวิจัยของ Tan และคณะ (2013) ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซโลสจากทะเลลายปาล์มเปล่าโดยใช้กรดซัลฟิวริกและฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 1-6 โดยปริมาตร อัตราส่วนของทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรด 1:5-1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส 20-120 นาที พบว่าเมื่อใช้อัตราส่วนของสารละลายกรดซัลฟิวริกและฟอสฟอริกในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้ได้น้ำตาลรีดิวิซ์ลดลง และสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการไฮโดรไลซิสทะเลลายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริกเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดคือ กรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 2.4 โดยปริมาตร อัตราส่วน 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร เวลา 20 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 อิทธิพลของอัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มหลังปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก และเวลาในการไฮโดรไลซิสต่อปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์  
ก) กราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง, ข) กราฟเส้นโครงร่าง

การทำนาย (predict value) สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดย ออกแบบการทดลองแบบ CCD ได้แทนค่าปัจจัยต่างๆ ที่ได้จากจุดสูงสุดของกราฟตามรูปที่ 4.4-4.6 จะสามารถทำนายสภาวะที่เหมาะสมได้ โดยใช้โปรแกรม STATISTICA 7 มาคำนวณรหัสของปัจจัย และนำค่าที่ได้แทนในสมการที่ 4.2 เพื่อทำนายค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จากสภาวะที่เหมาะสม ได้ดังตาราง ภาคผนวก ค-3 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์ม มีดังนี้ ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเท่ากับร้อยละ 1.05 โดยปริมาตร อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริกเท่ากับ 1:8.42 กรัมต่อมิลลิลิตร เวลาในการ ไฮโดรไลซิสเท่ากับ 63.16 นาที จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามการทำนายเท่ากับ 16.26 กรัมต่อลิตร และเมื่อทำการทดลองตามสภาวะดังกล่าวข้างต้น เพื่อพิสูจน์ผลของการทำนายตามแบบจำลองที่ สร้างขึ้น แต่ใช้เวลาไฮโดรไลซิสในการทดลองเท่ากับ 63 นาที จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการ ทดลองเท่ากับ 16.04 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองกับค่าการทำนาย พบว่าปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์มีความใกล้เคียงกัน โดยคิดเป็นร้อยละความแตกต่างเท่ากับร้อยละ 1.35 ซึ่งค่า ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ไม่ควรเกินร้อยละ 5 (นันทิกา, 2554) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสมการตัว แบบจำลองนี้สามารถนำมาใช้เป็นสมการตัวแบบในการทำนายสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซิส ได้ และสามารถนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเส้นใยทะเลลายปาล์มเพื่อใช้เป็น แหล่งคาร์บอนในการศึกษาในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.7 การกำจัดความเป็นพิษ

การไฮโดรไลซิสวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยสภาวะรุนแรง เช่น อุณหภูมิ ความเข้มข้นของกรด และความดันสูง จะทำให้เกิดการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากการสลายตัวของน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น เพอร์ฟิวรอล, 5-ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรอล และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งจะมีผลต่อกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ ดังนั้นในงานวิจัยจึงได้ศึกษาการกำจัดความเป็นพิษที่เกิดขึ้นในกระบวนการไฮโดรไลซิส ด้วยวิธี overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยนำส่วนไฮโดรไลเสทที่ได้ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มาให้ความร้อนและควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อลดความเข้มข้นของสารประกอบที่ระเหยได้ จากนั้นเติมน้ำกลั่นร้อนเพื่อปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร ดังเดิม เติมโซเดียมซัลไฟต์ปริมาณ 0.1% (1 กรัม) พร้อมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ คนสารละลายให้เข้ากันจนมีค่า pH เท่ากับ 10 กรองสารละลายเพื่อแยกตะกอนออก นำสารละลายส่วนใสที่ได้นำไปปรับค่า pH ให้เท่ากับ 6 โดยใช้กรดซัลฟิวริก (Kumar และคณะ, 2009a) ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสท แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์ม ก่อนและหลังการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

ไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริก	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
ก่อนกำจัดสารพิษ	15.78±0.36
หลังกำจัดสารพิษ	13.84±0.05

จากการศึกษาการกำจัดความเป็นพิษในไฮโดรไลเสทด้วยวิธี overliming พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการกำจัดสารพิษเท่ากับ 15.78±0.36 กรัมต่อลิตร และหลังการกำจัดสารพิษเท่ากับ 13.84±0.05 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในไฮโดรไลเสทหลังกำจัดสารพิษลดลงร้อยละ 12.29 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kumar และคณะ (2009a) ที่ผลิตเอทานอลจากผักตบชวา โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Pichia stipitis* NCIM-3497 และใช้กรดซัลฟิวริกในการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลส กำจัดสารพิษในไฮโดรไลเสทก่อนกระบวนการหมัก โดยใช้วิธีต้มให้เดือด (boiling) เพื่อกำจัดสารประกอบที่ระเหยได้, วิธี overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อลดความเข้มข้นของกรดชนิดต่างๆ และการเพิ่ม pH เท่ากับ 10 เพื่อให้โลหะหนักตกตะกอน ซึ่งผลของกระบวนการ overliming จะทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงร้อยละ 10 และไซโลสลดลงร้อยละ 4 เนื่องจากการใช้ pH สูงระหว่างการกำจัดสารพิษด้วยวิธี overliming จะทำให้น้ำตาลเพนโทสแยกออก งานวิจัยของ Telli-Okur และ Eken-Saracoglu (2008) ศึกษาการกำจัดสารพิษในไฮโดรไลเสท ด้วยวิธีต่างๆ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า การกำจัดสารพิษด้วยวิธี overliming ร่วมกับการใช้สารในกลุ่มซัลไฟต์ (โซเดียมซัลไฟต์) เป็นวิธีที่ดีที่สุดในการกำจัดสารพิษ ซึ่งในไฮโดรไลสเสทมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เริ่มต้นเท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร และเมื่อผ่านการกำจัดสารพิษด้วยวิธีดังกล่าวแล้วเหลือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 26 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลลดลงคิดเป็นร้อยละ 13.33 และงานวิจัยของ Camesasca และคณะ (2015) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากหญ้าเนเปียร์ ใช้กรดซัลฟิวริกในการปรับสภาพวัตถุดิบ และกำจัดสารพิษ โดยวิธี overliming พบว่า สามารถลดปริมาณสารประกอบที่เป็นพิษ ได้แก่ เพอร์ฟิวรอล ลดลงร้อยละ 99, 5-ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรอล ลดลงร้อยละ 85 และกรดแอสติกลดลงร้อยละ 68

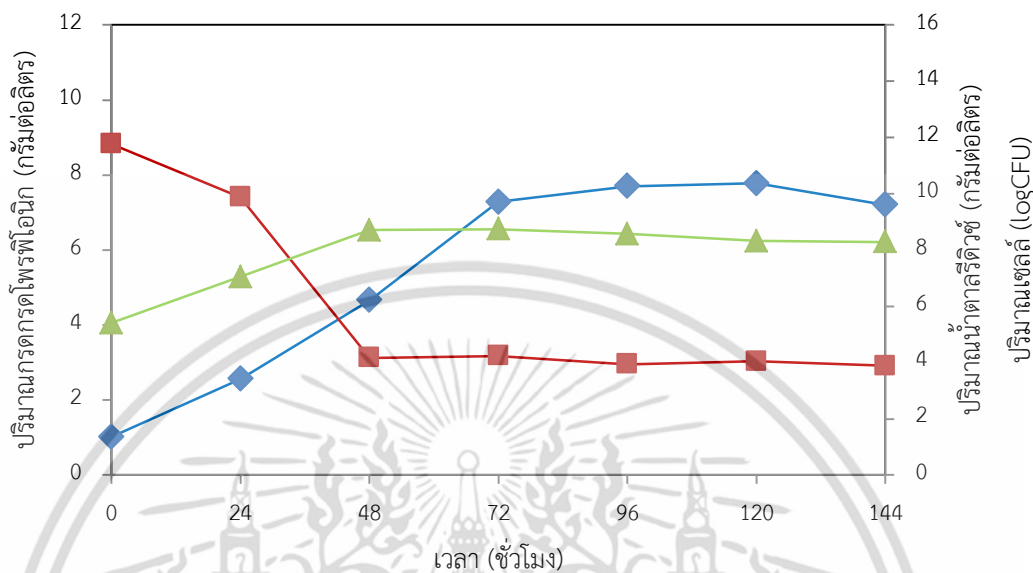
#### 4.8 การเปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลสเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

จากการศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลสเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และอาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลสเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตกรดโพรพิโอนิก โดยเฉพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร เติมหักเชื้อเริ่มต้นปริมาตร ร้อยละ 5 สภาวะของการหมักควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส pH เท่ากับ 6.5 อัตราการกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที หมักแบบสภาวะไร้ออกซิเจน และเก็บตัวอย่างน้ำหมักชั่วโมงที่ 0 และทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 144 ชั่วโมง โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออยู่ ด้วยวิธี DNS โดยดัดแปลงจากวิธีของ Miller (1959) (ภาคผนวก ข) ตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total plate count (ภาคผนวก ข) และวิเคราะห์ปริมาณกรดโพรพิโอนิกด้วย HPLC โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack Inertsil C8-3 (ภาคผนวก ข)

##### 4.8.1 การผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลสเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ผลการศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลสเสทเส้นใยทะเลลายปาล์ม ที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่าในชั่วโมงที่ 120 มีการผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงสุดเท่ากับ  $7.78 \pm 0.24$  กรัมต่อลิตร โดยมีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ  $11.77 \pm 0.26$  กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาหมักเท่ากับ  $3.88 \pm 0.28$  กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ  $65.68 \pm 1.21$  ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ใช้ไป จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเจริญสูงสุดเท่ากับ  $8.326 \log CFU$  ค่าผลได้ของกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ  $0.875 \pm 0.01$  กรัมกรด-

โพรพิโอนิกต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และมีอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิก  $0.056 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.7

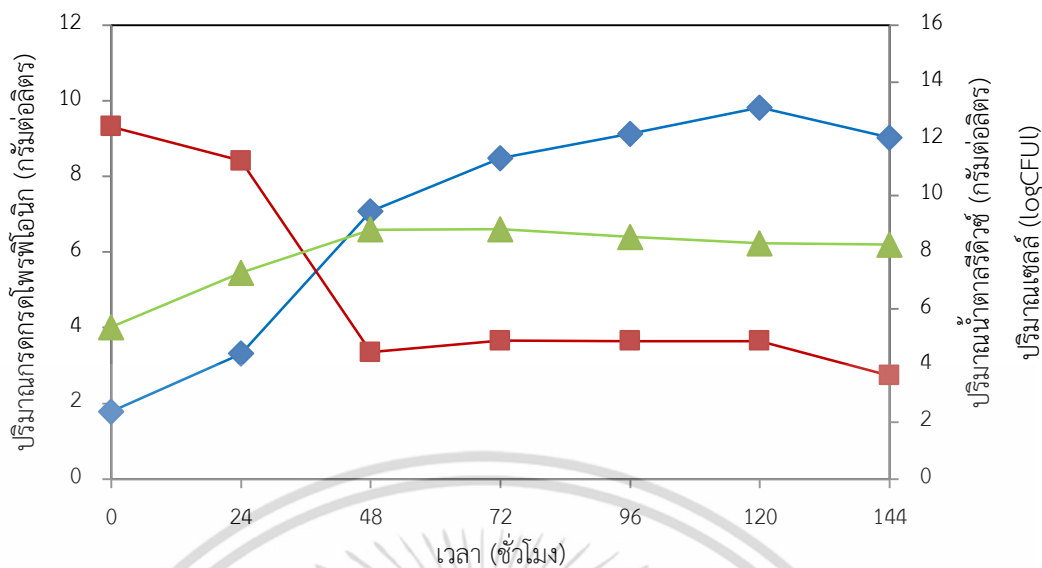


รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้และปริมาณเซลล์ของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 จากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming (◆) กรดโพรพิโอนิก, (■) น้ำตาลรีดิวซ์, (▲) ปริมาณเซลล์ของเชื้อ *P. acidipropionici* TISTR 442

#### 4.8.2 การผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ผลการศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์ม ที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 144 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่าในชั่วโมงที่ 120 มีการผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงสุดเท่ากับ  $9.82 \pm 0.19$  กรัมต่อลิตร โดยมีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ  $12.43 \pm 0.21$  กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาหมักเท่ากับ  $3.64 \pm 0.25$  กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ  $60.90 \pm 1.52$  ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ใช้ไป จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเจริญสูงสุดเท่ากับ  $8.305 \log CFU$  ค่าผลได้ของกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ  $1.062 \pm 0.01$  กรัมกรดโพรพิโอนิกต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และมีอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิก  $0.067 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้และปริมาณเซลล์ของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 จากอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ

(◆) กรดโพรพิโอนิก, (■) น้ำตาลรีดิวซ์, (▲) ปริมาณเซลล์ของเชื้อ *P. acidipropionici* TISTR 442

จากการทดลองได้สอดคล้องกับการศึกษาของพรวิสาข์ (2551) การเพิ่มผลผลิตกรดโพรพิโอนิก โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 ใช้หางนมเป็นแหล่งคาร์บอน มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร เติม  $\text{CaCO}_3$  ร้อยละ 1 และเติมหัวเชื้อเริ่มต้นปริมาตร ร้อยละ 5 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ควบคุมสภาวะที่ใช้เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และควบคุม pH ที่ 6.5 พบว่าเซลล์อิสระให้ผลผลิต 12.25 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการหมัก 216 ชั่วโมง กรดโพรพิโอนิกที่ได้จากการหมักมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราและยีสต์เช่นเดียวกับกรดโพรพิโอนิกที่ขายในทางการค้าซึ่งผลิตด้วยกระบวนการทางเคมี เช่นเดียวกับการศึกษาของ Liang และคณะ (2012) ที่ผลิตกรดโพรพิโอนิกจากไฮโดรไลเสทถั่ววัน โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งไฮโดรไลเสทถั่ววันที่มีปริมาณฟรุกโตส 40 กรัมต่อลิตร และปริมาณกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร พบว่ากระบวนการหมักแบบใช้เซลล์อิสระ จะให้ผลผลิตของกรดโพรพิโอนิกสูงสุดที่ 40.6 กรัมต่อลิตร ให้ผลได้ของกรดโพรพิโอนิกที่ 0.379 กรัมต่อกรัม และอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิกที่ 0.190 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

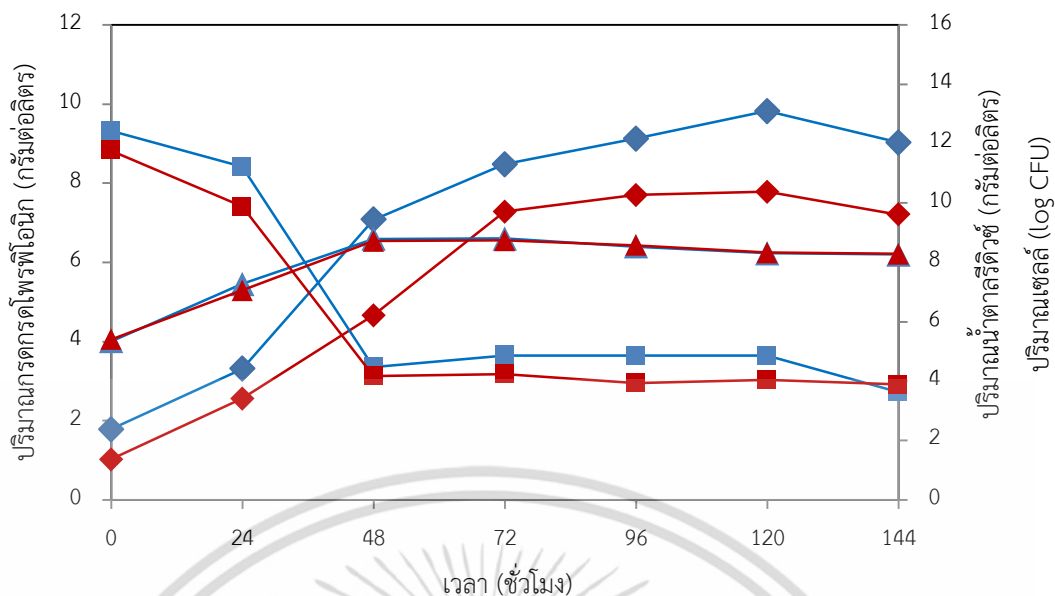
#### 4.8.3 การผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming เปรียบเทียบกับอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

การผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 โดยใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลเสทเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ นำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตกรดโพรพิโอนิก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยควบคุม สภาวะของการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่า pH ของการหมักเท่ากับ 6.5 ได้ปริมาณกรดโพรพิโอนิก และค่าทางจุลพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก แสดงดังตารางที่ 4.7 และ รูปที่ 4.9 จากนั้น นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี T-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้ โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17 ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่กำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

สภาวะ การ ทดลอง	ชั่วโมง ที่	ปริมาณกรด โพรพิโอนิก (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิต ผลได้ (กรัมต่อลิตรต่อ ชั่วโมง)	ผลได้ (กรัมต่อกรัม)	ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ ที่ถูกใช้ (ร้อยละ)	ปริมาณเซลล์ (logCFU)
ผ่านการ กำจัด ความเป็น พิษ	120	7.78±0.24	0.056±0.01	0.875±0.01	65.68±1.21	8.326±0.01
ไม่ผ่าน การกำจัด ความเป็น พิษ	120	9.82±0.19	0.067±0.01	1.062±0.01	60.90±1.52	8.305±0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 4.9** แสดงการเปรียบเทียบระหว่างปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลลactic ที่ถูกใช้ และปริมาณเซลล์ของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 จากอาหารไฮโดรไลสเสทที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และอาหารไฮโดรไลสเสทที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ

(◆) กรดโพรพิโอนิก, (■) น้ำตาลลactic, (▲) ปริมาณเซลล์ของเชื้อ *P. acidipropionici* TISTR 442 ของอาหารไฮโดรไลสเสทที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ด้วยวิธี overliming

(◆) กรดโพรพิโอนิก, (■) น้ำตาลลactic, (▲) ปริมาณเซลล์ของเชื้อ *P. acidipropionici* TISTR 442 ของอาหารไฮโดรไลสเสทที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ

ผลการเปรียบเทียบระหว่างอาหารไฮโดรไลสเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และอาหารไฮโดรไลสเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลสเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ให้ปริมาณกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ  $9.82 \pm 0.19$  กรัมต่อลิตร สูงกว่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลสเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ซึ่งให้ปริมาณกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ  $7.78 \pm 0.24$  กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบค่าทางสถิติด้วย F-test พบว่า F-test เท่ากับ 0.103 ปรากฏว่ามีนัยสำคัญ เท่ากับ 0.764 แสดงว่าค่าความแปรปรวนของปริมาณกรดโพรพิโอนิก ในอาหารไฮโดรไลสเสททั้งสองชนิดเท่ากัน ที่ค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และทดสอบค่าสถิติ T-test โดยดูส่วนของ Equal variances assumed ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ (Sig. (2-tailed)) เท่ากับ 0.00 แสดงว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดโพรพิโอนิกในอาหารไฮโดรไลสเสททั้งสองชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยอาหารไฮโดรไลสเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษมีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดโพรพิโอนิกสูงกว่า อาหารไฮโดรไลสเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ โดย เชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
propionic	Equal variances assumed	.103	.764	-11.775	4	.000	-2.04333	.17353
	Equal variances not assumed			-11.775	3.803	.000	-2.04333	.17353
productivity	Equal variances assumed	.000	1.000	-2.958	4	.042	-.0117	.00394
	Equal variances not assumed			-2.958	3.971	.042	-.0117	.00394
yield	Equal variances assumed	.516	.512	-36.911	4	.000	-.187000	.005066
	Equal variances not assumed			-36.911	3.723	.000	-.187000	.005066
use_reducing	Equal variances assumed	.456	.537	4.302	4	.013	4.82667	1.12189
	Equal variances not assumed			4.302	3.798	.014	4.82667	1.12189
logCFU	Equal variances assumed	.000	1.000	4.067	4	.015	.021000	.005164
	Equal variances not assumed			4.067	3.978	.015	.021000	.005164

หมายเหตุ propionic = ปริมาณกรดโพรพิโอนิก, productivity = อัตราการผลิต, yield = ผลได้ของกรดโพรพิโอนิก, use\_reducing = ร้อยละของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ และ logCFU = ปริมาณเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเทียบค่าทางสถิติด้วย F-test ของอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิก พบว่า F-test เท่ากับ 0.000 ปรากฏว่ามีนัยสำคัญ เท่ากับ 1.000 แสดงว่าค่าความแปรปรวนของอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิกในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดเท่ากัน ที่ค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และทดสอบค่าสถิติ T-test โดยดูส่วนของ Equal variances assumed ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 0.042 แสดงว่าค่าเฉลี่ยของอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิกในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษมีค่าเฉลี่ยของอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงกว่า อาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming

ในส่วนของผลได้ของกรดโพรพิโอนิก จะเห็นได้ว่าเมื่อเทียบค่าทางสถิติด้วย F-test พบว่า F-test เท่ากับ 0.516 ปรากฏว่ามีนัยสำคัญ เท่ากับ 0.512 แสดงว่าค่าความแปรปรวนของผลได้ของกรดโพรพิโอนิกในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดเท่ากัน ที่ค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และทดสอบค่าสถิติ T-test โดยดูส่วนของ Equal variances assumed ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 0.000 แสดงว่าค่าเฉลี่ยของผลได้ของกรดโพรพิโอนิกในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษมีค่าเฉลี่ยของผลได้ของกรดโพรพิโอนิกสูงกว่า อาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming

เมื่อพิจารณาร้อยละของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ จะเห็นได้ว่าเมื่อเทียบค่าทางสถิติด้วย F-test พบว่า F-test เท่ากับ 0.456 ปรากฏว่ามีนัยสำคัญ เท่ากับ 0.537 แสดงว่า ค่าความแปรปรวนของร้อยละปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดเท่ากัน ที่ค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และเมื่อทดสอบค่าสถิติ T-test ในส่วนของ Equal variances assumed ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 0.013 แสดงว่าค่าเฉลี่ยของร้อยละของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming มีค่าเฉลี่ยของร้อยละของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้สูงกว่า อาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลล์ของเชื้อ *P. acidipropionici* TISTR 442 จะเห็นได้ว่าเมื่อเทียบค่าทางสถิติด้วย F-test พบว่า F-test เท่ากับ 0.000 ปรากฏว่ามีนัยสำคัญ เท่ากับ 1.000 แสดงว่าค่าความแปรปรวนของปริมาณเซลล์ในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดเท่ากัน ที่ค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และทดสอบค่าสถิติ T-test โดยดูส่วนของ Equal variances assumed ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 0.015 แสดงว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเซลล์ในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming มีค่าเฉลี่ยของปริมาณเซลล์มากกว่าอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเซสที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษและไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ พบว่าอาหารไฮโดรไลเซสที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ จะให้ปริมาณ อัตราการผลิต และผลได้ของกรดโพรพิโอนิก สูงกว่าอาหารไฮโดรไลเซสที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลเซสเส้นใยทะเลลายปาล์ม ที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริก ไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดสารพิษ ก่อนนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากการใช้กรดฟอสฟอริกในการไฮโดรไลซิส นั้น มีความรุนแรงน้อยกว่ากรดชนิดอื่นๆ ทำให้เกิดสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น เพอร์ฟิวรอล หรือ แอซีติกน้อย (Hong และคณะ, 2012) และการใช้กรดฟอสฟอริกยังมีฟอสฟอรัสที่เป็นสารอาหารสำคัญ ที่ใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จึงมีประโยชน์ต่อกระบวนการหมักทางชีวภาพ (Avci และคณะ, 2013)

ซึ่งงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Boonsombuti และคณะ (2015) ศึกษาผลของการใช้กรดฟอสฟอริกในการปรับสภาพซังข้าวโพด เพื่อผลิตบิวทานอล โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium beijerinckii* TISTR 1461 พบว่าซังข้าวโพดที่ปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกสามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการเพื่อกำจัดสารพิษ เช่นเดียวกับ Avci และคณะ (2013) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากต้นข้าวโพด โดยใช้กรดฟอสฟอริกในการปรับสภาพวัตถุดิบ เพื่อลดขั้นตอนการกำจัดสารพิษที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการหมัก โดยจุลินทรีย์ Recombinant *Escherichia coli* FBR5 เนื่องจากการใช้กรดฟอสฟอริกในสภาวะที่เหมาะสม จะทำให้เกิดเพอร์ฟิวรอลที่มีผลต่อการเจริญของ *E. coli* FBR5 ต่ำ จึงเป็นการลดขั้นตอนของการผลิตเอทานอลจากต้นข้าวโพดให้ง่ายขึ้น

งานวิจัยของ Ramsay และคณะ (1998) ศึกษาการใช้เฮมิเซลลูโลสเพื่อผลิตกรดโพรพิโอนิกด้วยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 โดยใช้เอนไซม์ในการไฮโดรไลซิส ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลสเท่ากับ 29.6 กรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ 18.3 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิต 0.23 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ ในการนำไฮโดรไลเซสเฮมิเซลลูโลสจากไม้ มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ *P. acidipropionici* และงานวิจัยของ Liu และคณะ (2012) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากไฮโดรไลเซส corn cob molasses ซึ่งเป็นผลพลอยได้ของการผลิตไซลิทอล เพื่อการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ *P. acidipropionici* ATCC 4875 โดย corn cob molasses (มีกลูโคสประมาณ 90 กรัมต่อลิตร) เป็นตัวแทนของไฮโดรไลเซสของวัสดุประเภทเฮมิเซลลูโลส โดยกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส pH ที่ 6.0 จะได้ความเข้มข้นกรดโพรพิโอนิกสุดท้าย 71.8 กรัมต่อลิตร และอัตราการผลิต 0.28 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าไฮโดรไลเซสเฮมิเซลลูโลสสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอน สำหรับการผลิตกรดโพรพิโอนิกได้ กระบวนการหมักกรดโพรพิโอนิกโดยใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตร และชีวมวลที่มีความหลากหลาย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น หางนม น้ำแช่ข้าวโพด และเฮมิเซลลูโลส มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนทางเลือกสำหรับกระบวนการหมักกรดโพรพิโอนิก เป็นการช่วยลดต้นทุนการผลิตทางชีวภาพ (Suwannakham, 2005)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดฟาง พบว่าเส้นใยทะเลลายปาล์มมีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ  $39.99 \pm 0.09$  โดยน้ำหนักแห้ง, เฮมิเซลลูโลสร้อยละ  $17.24 \pm 0.86$  โดยน้ำหนักแห้ง, ลิกนินร้อยละ  $19.48 \pm 0.03$  โดยน้ำหนักแห้ง และอื่นๆ ร้อยละ  $23.29 \pm 0.90$  โดยน้ำหนักแห้ง เมื่อนำมาปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เป็นการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมช่วยลดปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ส่งผลให้เส้นใยทะเลลายปาล์มมีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นภายหลังกระบวนการปรับสภาพเท่ากับร้อยละ  $62.81 \pm 0.30$  โดยน้ำหนักแห้ง และลิกนินลดลงเหลือร้อยละ  $14.23 \pm 0.19$  โดยน้ำหนักแห้ง

หลังจากการนำเส้นใยทะเลลายปาล์มหลังการปรับสภาพ มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดฟอสฟอริก โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD ร่วมกับวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM นำผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติ มาสร้างสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กับตัวแปรอิสระต่างๆ ได้ดังสมการ

$$Y = 15.949 + 0.762X_1 - 1.233X_2 + 1.488X_3 - 0.435X_1X_2 - 3.389X_1^2 - 2.532X_2^2 - 3.284X_3^2$$

โดยที่  $Y$  = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

$X_1$  = ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

$X_2$  = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

$X_3$  = เวลาในการไฮโดรไลซิส (นาที)

$\beta$  = ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficients)

เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยที่ได้ พบว่ามีความน่าจะเป็นเท่ากับ 0.000 ซึ่งมีค่านัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังนั้นสมการถดถอยที่สร้างขึ้นจึงมีความเหมาะสมสำหรับทำนายหาสภาวะ ที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับร้อยละ 97.2 และค่าปรับปรุงสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Adjusted  $R^2$ ) เท่ากับร้อยละ 96.7 และเมื่อทำการทดสอบความเหมาะสมของแบบจำลอง (Lack of fit) พบว่า P value มีค่าเท่ากับ 0.22 แสดงว่าแบบจำลองนี้มีความเหมาะสมและสามารถใช้เป็นตัวแทนของชุดข้อมูลได้ ( $p > 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาสามารถทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์ม ได้ดังนี้ ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเท่ากับร้อยละ 1.05 โดยปริมาตร อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริกเท่ากับ 1:8.42 กรัมต่อมิลลิลิตร และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเท่ากับ 63.16 นาที จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 16.27 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการทดลองตามสภาวะดังกล่าวข้างต้น ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 16.04 กรัมต่อลิตร โดยคิดเป็นร้อยละความแตกต่างเท่ากับร้อยละ 1.35 ซึ่งค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ โดยผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมสอดคล้องกับการทดลอง จึงนำสภาวะดังกล่าวไปผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อศึกษาต่อไป

การผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากไฮโดรไลเสทของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร สภาวะของการหมักควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่าการผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงสุดในชั่วโมงที่ 120 ไฮโดรไลเสทของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ สามารถผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงสุดเท่ากับ  $7.78 \pm 0.24$  กรัมต่อลิตร และไฮโดรไลเสทของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดความเป็นพิษ สามารถผลิตกรดโพรพิโอนิกสูงสุดเท่ากับ  $9.82 \pm 0.19$  กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านและไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดโพรพิโอนิกในอาหารไฮโดรไลเสททั้งสองชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยอาหารไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษมีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดโพรพิโอนิกสูงกว่า อาหารไฮโดรไลเสทที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการใช้กรดฟอสฟอริกในการไฮโดรไลซิส ไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดสารพิษในไฮโดรไลเสทก่อนจะนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากการใช้กรดฟอสฟอริกในการไฮโดรไลซิส นั้น มีความรุนแรงน้อยกว่ากรดชนิดอื่นๆ จึงทำให้เกิดสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น เพอร์ฟิวรอล หรือแอสติกันน้อย ซึ่งเป็นการลดขั้นตอนการกำจัดสารพิษที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการหมัก ผลของการศึกษานี้ น่าจะเป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากไฮโดรไลเสทวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสและชีวมวลได้ต่อไป

### ข้อเสนอแนะ

การนำเส้นใยทะเลลายปาล์มเปล่ามาผ่านกระบวนการปรับสภาพ และไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดฟอสฟอริก เพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ในกระบวนการหมักนั้น จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่าน้ำตาลเริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการหมักกรดโพรพิโอนิก จากเชื้อ *P. acidipropionici* ที่ 40 กรัมต่อลิตร (พรวิสาข์, 2551) ดังนั้นการศึกษาจึงควรเพิ่มเวลา ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้ในกระบวนการไฮโดรไลซิสเพื่อให้ผลิตกรดโพรพิโอนิกมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2553. **ร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ศึกษาและสาธิตการผลิตก๊าซชีวภาพจากชีวมวล**. กรุงเทพฯ: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (พพ.) กระทรวงพลังงาน. หน้า 2-22.
- กองบรรณาธิการเฉพาะกิจสำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม. 2541. **การเพาะเห็ดฟาง**. พิมพ์ครั้งที่ 5, กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม. หน้า 5-10.
- จรัล ทรัพย์เสรี. 2552. “DOE ตอน Central Composite Design”. **for Quality**. 145: 72-74.
- จักรกฤษณ์ อัมพูช. 2553. “การแยกและทำบริสุทธิ์กรดอินทรีย์จากน้ำหมักโดยกระบวนการแผ่นเยื่อบาง:นาโนฟิวเตรชั่น”. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ฉกรรจ์ สังข์ทอง. 2542. **ปาล์มน้ำมัน**. สงขลา: เซาท์เทิร์นเพรสแอนด์พับลิเคชั่น. หน้า 165-166.
- ธวัฒน์ สร้อยทอง. 2557. “วัสดุคอมโพสิตด้วยเส้นใยธรรมชาติสำหรับการใช้งานด้านบรรจุภัณฑ์ Natural fiber composite for packaging applications”. **รายงานผลการวิจัยมหาวิทยาลัยแม่โจ้**. หน้า 40-41.
- ธัญวรรณ์ ศรีทองอุทัย, มณีชนก กนต์ธีร์, อรกมล รัฐพิทักษ์สันติ. 2556. “กระบวนการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยกรดจากเปลือกและกะลาจากเพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคส”. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ธีระพงศ์ จันทน์นิยม. 2555. **คู่มือปาล์ม. (ฉบับเกษตรกร)** กลุ่มบริษัทสุขสมบูรณ์น้ำมันปาล์ม.
- นันทิกา คล้ายชม, เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ และ อนุสิษฐ์ ธนะพิมพ์เมธา. 2554. “การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากขางข้าวฟางหวาน โดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด”. **วิศวกรรมสาร มก.** 24(75): 91-102.
- ปิยะนุช เปี้ยคง. 2557. “การศึกษาการผลิตไซโลสจากทะลายปาล์มเปล่า”. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- พรวิสาข์ ยุ่นประยงค์. 2551. “การผลิตกรดโพรพิโอนิกเพื่อยับยั้งเชื้อราและยีสต์โดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมอัลจิเนต โดยใช้เวย์เป็นซับสเตรต”. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ไพโรจน์ วิริยจारी. 2544. **การออกแบบพื้นที่การตอบสนอง : Response Surface Design**. เชียงใหม่ : คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มยุรา ศรีกัลยานุกุล, รุปน ชื่นบาล, ศิราภรณ์ ชื่นบาล, ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน. 2555. “การผลิตอาหาร

เลี้ยงเชื้อราจากน้ำทิ้งโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบ Production of Mould Culture Medium  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ประโยชน์ในเชิงวิชาการเท่านั้น เมื่อผู้ยืมได้เห็นว่าไม่เหมาะสมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

from Potato Chip Effluent”. รายงานผลการวิจัยเรื่องการผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

รัชณี ตันตะพานิชกุล. 2550. ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ 3 = Organic Chemistry Laboratory III : CM 328. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง. หน้า 141-159.

รัชพล พะวงศรีรัตน์. 2558. “กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส”. วารสารวิชาการ Veridain E-Journal. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า 143-157.

วรวงษ์ สุริยภัทร. 2535. เยื่อใยในอาหารสัตว์. เอกสารประกอบการสอน. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล, วรสิทธิ์ โทจำปา และประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ. 2544. วิศวกรรมเคมีชีวภาพ พื้นฐาน 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 235-236.

สุขใจ ชูจันทร์. 2554. การผลิตกรดอินทรีย์จากวัสดุเหลือใช้มวลชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุทธิชัย สมสุข. 2555. เทคโนโลยีการเพาะเห็ดฟางในตระกร้า. นิตยสารคลินิกเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุนารณ อร่ามเรือง. 2550. “การผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเวย์โดยวิธีการหมักแบบกะของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต เทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุรีย์ นานาสมบัติ. 2549. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ: โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 3-13.

เสาวนีย์ นิลลักษณ์. 2551. “การศึกษาองค์ประกอบอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนและไซลานเนสจาก *Bacillus* sp. ด้วยวิธีการออกแบบการทดลองทางสถิติ.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

อรทัย วิไลวัลย์. 2553 “การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบเพคตินจากใบกรูงเขมา (*Cissampelos pareira* L.) เพื่อการตรึงเซลล์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* TISTR 108. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 39-83.

อรุณี ศุภสินสาธิ. 2555. “พลังงานจากชีวมวลที่มีลิกโนเซลลูโลสสูง”. วารสารสิ่งแวดล้อม. 16(2): 36-43.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล. 2550. การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับอุตสาหกรรมเกษตร. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 123-154.
- An, Z., Jianxin, S., Zhongqiang, W., Shang-Tian, Y. and Haiying, Z. 2015. "Effects of Carbon Dioxide on Cell Growth and Propionic Acid Production from Glycerol and Glucose by *Propionibacterium acidipropionici*". **Bioresource Technology**. 175: 374–381.
- Ariffin, H., Hassan, M.A., Kalsom M.S.U., Abdullah, N. and Shirai, Y. 2008. "Effect of Physical, Chemical and Thermal Pretreatments on The Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB)". **Journal of Tropical Agriculture and Food Science**. 36(2): 259-268.
- Avcı, A., Saha, B.C., Dien, B.S., Kennedy, G.J. and Cotta, M.A. 2013. "Response Surface Optimization of Corn Stover Pretreatment using Dilute Phosphoric Acid for Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Production". **Bioresource Technology**. 130: 603–612.
- Balamurugan, K., Dasu V.V. and Panda, T. 1999. "Propionic Acid Production by Whole Cells of *Propionibacterium freudenreichii*". **Bioprocess Engineering**. 20: 109-116.
- Barbirato, F., Chedaille, D. and Bories, A. 1997. "Propionic Acid Fermentation from Glycerol: Comparison with Conventional Substrates". **Appl Microbiol Biotechnol**. 47: 441-446.
- Boonmanumsin, P., Treeboobpha, S., Jeamjumnunja, K., Luengnaruemitchai, A., Chaisuwan, T. and Wongkasemjit S. 2012. "Release of monomeric sugars from *Miscanthus sinensis* by microwave-assisted ammonia and phosphoric acid treatments". **Bioresource Technology**. 103(1): 425-431.
- Boonsombuti, A., Luengnaruemitchai, A. and Wongkasemjit, S. 2015. "Effect of Phosphoric Acid Pretreatment of Corncobs on the Fermentability of *Clostridium beijerinckii* TISTR 1461 for Biobutanol Production". **Preparative Biochemistry and Biotechnology**. 45(2):173-191.
- Boyaval, P and Corre, C. 1995. "Production of Propionic Acid". **Lait**. 75: 453-461.
- Buswell, J. 2014. "Biochemical Features Influencing Mushroom-Substrate Compatibility". **Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8)**. 252-257.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Camesasca, L., Ramírez, M.B., Guigou, M., Ferrari, M.D. and Lareo, C. 2015. "Evaluation of Dilute Acid and Alkaline Pretreatments, Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of Napiergrass for Fuel Ethanol Production". **Biomass and bioenergy**. 74: 193-201.
- Chandel, A.K., Kapoor, R.K., Singh, A. and Kuhad, R.C. 2007. "Detoxification of Sugarcane Bagasse Hydrolysate Improves Ethanol Production by *Candida shehatae* NCIM 3501". **Bioresource Technology**. 98(10): 1947-1950.
- Chandel, A.K., Silva, de S.S. and Singh, O.V. 2011. "Detoxification of lignocellulosic hydrolysates for improved bioethanol production" **Biofuel Production - Recent Developments and Prospects**. 225-246.
- Chen, F., Feng X., Xu H., Zhang D. and Ouyang ,P.. 2012. "Propionic Acid Production in a Plant Fibrous-bed Bioreactor with Immobilized *Propionibacterium freudenreichii* CCTCC M207015". **Journal of Biotechnology**. 164: 202-210.
- Converti, A., Domínguez, J. M., Perego, P., Silva, da S.S. and Zilli, M. 2000. "Wood Hydrolysis and Hydrolyzate Detoxification for Subsequent Xylitol Production". **Chemical Engineering & Technology**. 23(11): 1013-1020.
- Coral, J., Karp, S.G., Vandenberghe, L.P.de S., Parada, J.L., Pandey, A. and Soccol, C.R. 2008. "Batch Fermentation Model of Propionic Acid Production by *Propionibacterium acidipropionici* in Different Carbon Sources". **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 151(2-3): 333-341.
- Coral, J.. 2008. "Propionic Acid Production by *Propionibacterium sp.* Using Low-Cost Carbon Sources in Submerged Fermentation". **Biotechnology and Bioprocesses Engineering Division Federal University of Parana**.
- Dishisha, T., Ståhl, A., Lundmark, S. and Hatti-Kaul, R. 2013. "An Economical Biorefinery Process for Propionic Acid Production from Glycerol and Potato Juice using High Cell Density Fermentation". **Bioresource Technology**. 135: 504-512.
- Duangwang, S. and Sangwichien, C. 2013. "Optimization Studies on Acid Hydrolysis of Pretreated Oil Palm Empty Fruit Bunch for Production of Xylose by Application of Response Surface Methodology". **Advanced Materials Research**. 699: 77-82.
- Duangwang, S. and Sangwichien, C. 2015. "Utilization of Oil Palm Empty Fruit Bunch Hydrolysate for Ethanol Production by Baker's Yeast and Loog-Pang". **Energy Procedia**. 79: 157-162.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- European Food Safety Authority. 2014. “Scientific Opinion on The Re-evaluation of Propionic Acid (E 280), Sodium Propionate (E 281), Calcium Propionate (E 282) and Potassium Propionate (E 283) as Food Additives”. *EFSA Journal* 12(7).
- Ferrer, A., Requejo, A., Rodríguez A. and Jiménez, L. 2013. “Influence of Temperature, Time, Liquid/Solid Ratio and Sulfuric Acid Concentration on The Hydrolysis of Palm Empty Fruit Bunches”. *Bioresource Technology*. 129: 506–511.
- Gámez, S., Ramírez, J.A., Garrote, G. and Vázquez, M. 2004. “Manufacture of Fermentable Sugar Solutions from Sugar Cane Bagasse Hydrolyzed with Phosphoric Acid at Atmospheric Pressure”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(13): 4172-4177.
- González, M.I., Álvarez, S., Riera, F.A. and Álvarez, R. 2006. “Purification of Lactic Acid from Fermentation Broths by Ion-Exchange Resins”. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 45(9): 3243-3247.
- Goswami, V. and Srivastava, A.K.. 2000. “Fed-Batch Propionic Acid Production by *Propionibacterium acidipropionici*”. *Journal Biochemical Engineering*. 4(2): 121-128.
- Haque M.N., Chowdhury R., Islam K.M.S. and Akbar M.A.. 2009. “Propionic Acid is An Alternative to Antibiotics in Poultry Diet”. *Bangladesh Journal of Animal Science*. 38(1-2): 115-122.
- Hong, B., Xu, G., Weng, L., Guo, X. 2012. “Pretreatment of Moso Bamboo with Dilute Phosphoric Acid”. *BioResources*. 7(4): 4902-4913.
- Iberahim, N.I., Jahim, J.M., Harun, S., Nor, M.T.M. and Hassan, O. 2013. “Sodium Hydroxide Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Mesocarp Fiber”. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 4(3): 101-105.
- Kagliwal, L.D., Survase, S.A., Singhal, R.S. and Granström, T. 2013. “Wheat Flour Based Propionic Acid Fermentation: An Economic Approach”. *Bioresource Technology*. 129: 694–699.
- Kasim, F. and Kasim, A. 2013. “Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers to Produce Sugar Hydrolyzate as Raw Material for Bioethanol Production”. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*. 3(3): 24-17.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kim, S. and Kim, C.S. 2013. "Bioethanol Production using the Sequential Acid/Alkali-Pretreated Empty Palm Fruit Bunch Fiber". **Renewable Energy**. 54: 150-155.
- Kim, S., Park, J.M., Seo, J.W. and Kim, C.H. 2012. "Sequential Acid-/Alkali-Pretreatment of Empty Palm Fruit Bunch Fiber". **Bioresource Technology**. 109: 229-233.
- Kośmider, A., Drożdżyńska, A., Blaszk, K., Leja, K. and Czaczyk, K. 2010. "Propionic Acid Production by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* using Crude Glycerol and Whey Lactose Industrial Wastes". **Polish Journal of Environmental Studies**. 19(6): 1249-1253.
- Kumar, A., Singh, L.K. and Ghosh, S. 2009a. "Bioconversion of Lignocellulosic Fraction of Water-Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Hemicellulose Acid Hydrolysate to Ethanol by *Pichia stipites*". **Bioresource Technology**. 100(13): 3293-3297.
- Kumar, R., Mago, G., Balan, V. and Wyman, C.E. 2009b. "Physical and Chemical Characterizations of Corn Stover and Poplar Solids Resulting from Leading Pretreatment Technologies". **Bioresource Technology**. 100(17): 3948-3962.
- Lavarack, B.P., Griffin, G.J. and Rodman D. 2002. "The Acid Hydrolysis of Sugarcane Bagasse Hemicellulose to Produce Xylose, Arabinose, Glucose and Other Products". **Biomass and Bioenergy**. 23(5): 367-380.
- Lenihan, P., Orozco, A., O'Neill, E., Ahmad, M.N.M., Rooney, D.W., Mangwandi, C. and Walker, G.M. 2011. "Kinetic Modelling of Dilute Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass". **Biofuel Production-Recent Developments and Prospects**. 293-308.
- Lewis, V.P. and Yang, S.T. 1992. "Propionic acid fermentation by *Propionibacterium acidipropionici*: Effect of Growth Substrate". **Applied Microbiology and Biotechnology**. 37(4): 437-442.
- Liang, Z.X., Li, L., Li, S., Cai, Y.H., Yang, S.T. and Wang, J.F. 2012. "Enhanced propionic acid production from Jerusalem artichoke hydrolysate by immobilized *Propionibacterium acidipropionici* in a fibrous-bed bioreactor". **Bioprocess and Biosystems Engineering**. 35(6): 915-921.
- Lind, H. 2010. "Antifungal Properties of Dairy Propionibacteria". Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala 2010.
- Liu, Y., Zhang, Y.G., Zhang, R.B., Zhang, F. and Zhu, J. 2010. "Glycerol/Glucose Co-Fermentation: One More Proficient Process to Produce Propionic Acid by *Propionibacterium acidipropionici*". **Current Microbiology**. 62(1): 152-158.

- Liu, Z., Ma, C., Gao, C. and Xu, P. 2012. "Efficient Utilization of Hemicellulose Hydrolysate for Propionic Acid Production using *Propionibacterium acidipropionici*". **Bioresource Technology**. 114: 711-714.
- Medina, J.D., Woiciechowski, A., Zandona, F.A., Nosedá, M.D., Kaur, B.S. and Soccol, C.R. 2015. "Lignin preparation from oil palm empty fruit bunches by sequential acid/alkaline treatment - A biorefinery approach". **Bioresource Technology**. 194: 172-178.
- Min, D.J., Cho, K.H., Chang, Y.K. and Kim, J.H. 2011. "Effect of Operating Parameters on Precipitation for Recovery of Lactic Acid from Calcium Lactate Fermentation Broth". **Korean Journal of Chemical Engineering**. 28(10): 1969-1974 .
- Mussatto, S. I. and Teixeira, J. A.. 2010. "Lignocellulose as Raw Material in Fermentation Processes". **Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**. 897-907.
- Nantapipat, J., Luengnaruemitchai, A. and Wongkasemjit, S. 2013. "A Comparison of Dilute Sulfuric and Phosphoric Acid Pretreatment in Biofuel Production from Corncoobs". **International Scholarly and Scientific Research & Innovation**. 7(4): 479-483.
- Onuoha, C.I., Oyibo, G. and Ebibila, J. 2009. "Cultivation of Straw Mushroom (*Volvariella volvacea*) Using Some Agro-Waste Material". **Journal of American Science**. 5(5): 135-138.
- Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. 2000a. "Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates. I: Inhibition and Detoxification: Review". **Bioresource Technology**. 74(1): 17-24.
- Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. 2000b. "Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates. II: Inhibitors and Mechanism of Inhibition: Review". **Bioresource Technology**. 74(1): 25-33.
- Piarpuza'n, D., Quintero, J.A. and Cardona, C.A. 2011 . "Empty Fruit Bunches from Oil Palm as a Potential Raw Material for Fuel Ethanol Production". **Biomass and bioenergy**. 35(3): 1130-1137.
- Qin, W., Wu, L., Zheng, Z., Dong, C. and Yang, Y. 2014. "Lignin Hydrolysis and Phosphorylation Mechanism During Phosphoric Acid-Acetone Pretreatment: A DFT study". **Molecule**. 19(12): 21335-21349.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Quesada-Chanto, A., Afschar, A.S. and Wagner, F. 1994. "Optimization of a *Propionibacterium acidipropionici* Continuous Culture Utilizing Sucrose". **Applied Microbiology and Biotechnology**. 42(1): 16-21.
- Quesada-Chanto, A., Schroeder, A.G., Schmid-Meyer, A.C., López, J.A., Silveira, M.M. and Jonas, R. 1997. "Organic Acid Production by *Propionibacterium shermanii* : Effect of pH, Temperature and Vitamin-Nitrogen Source". **Journal of biosciences**. 52(3): 193-196.
- Rahman, S.H.A., Choudhury, J.P. and Ahmad, A.L. 2006. "Production of Xylose from Oil Palm Empty Fruit Bunch Fiber using Sulfuric Acid". **Biochemical Engineering Journal**. 30(1): 97-103.
- Rahman, S.H.A., Choudhury, J.P., Ahmad, A.L. and Kamaruddin, A.H. 2007. "Optimization Studies on Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fiber for Production of Xylose". **Bioresource Technology**. 98(3): 554-559.
- Ramsay, J.A., Aly Hassan, M.-C., and Ramsay, B. A., 1998. "Biological Conversion of Hemicellulose to Propionic Acid". **Enzyme and Microbial Technology**. 22(4): 292-295.
- Romero, I., Moya, M., Sanchez, S., Ruiz, E., Castro, E. and Bravo, V. 2007. "Ethanollic Fermentation of Phosphoric Acid Hydrolysates from Olive Tree Pruning". **Industrial Crops and Products** 25(2): 160-168.
- Satarn, J., Lamamorphanth, W. and Kamwilaisak, K. 2014. "Acid Hydrolysis from Corn Stover for Reducing Sugar". **Advanced Materials Research**. 1608-1613.
- Shetty, V.G., 2015. "Production and Optimization of Citric Acid by *Aspergillus Niger* Using Molasses and Corncob". **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 7(5): 152-157.
- Suwannakham, S. 2005. "Metabolic Engineering for Enhanced Propionic Acid Fermentation by *Propionibacterium acidipropionici*". PhD Thesis, The Ohio State University.
- Tan, H.T., Dykes, G.A., Wu, T.Y. and Siow, L.F. 2013. "Enhanced Xylose Recovery from Oil Palm Empty Fruit Bunch by Efficient Acid Hydrolysis". **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 170(7): 1602-1613.

- Tatum, E.L., Wood, H.G. and Peterson, W.H. 1936. "Essential Growth Factors for Propionic Acid Bacteria: I. Sources and Fractionation". **Journal of Bacteriology**. 32(2): 157-166.
- Telli-Okur, M. and Eken-Saracoglu. 2008. "Fermentation of Sunflower Seed Hull Hydrolysate to Ethanol by *Pichia stipitis*". **Bioresource Technology**. 99(7): 2162-2169.
- Vázquez, M., Oliva, M., Téllez-Luis, S.J. and Ramírez, J.A. 2006. "Hydrolysis of Sorghum Straw using Phosphoric Acid: Evaluation of Furfural Production". **Bioresource Technology**. 98(16): 3053-3060.
- Vasconcelos, SM de., Santos, AMP., Rocha, GJM. and Maior, AMS. 2013. "Diluted Phosphoric Acid Pretreatment for Production of Fermentable Sugars in a Sugarcane-Based Biorefinery". **Bioresource Technology**. 135: 46-52.
- Verardi, A., Bari, I.D., Ricca, E and Calabrò, V. 2012. "Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass: Current Status of Processes and Technologies and Future Perspectives". **Bioethanol**. 95-122.
- Wallenius, J., Pahimanolis, N., Zoppe, J., Kilpeläinen, P., Master, E., Ilvesniemi H., Seppälä, J., Eerikäinen, T. and Ojamo, H. 2015. "Continuous Propionic Acid Production with *Propionibacterium acidipropionici* Immobilized in a Novel Xylan Hydrogel Matrix". **Bioresource Technology**. 197: 1-6.
- Wang, Z., Ammar, E.M., Zhang, A., Wang, L., Lin, M. and Yang, S-T. 2015. "Engineering *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *Shermanii* for Enhanced Propionic Acid fermentation: Effects of Overexpressing Propionyl-CoA : Succinate CoA transferase". **Metabolic Engineering**. 27: 46-56.
- Werkman, C.H. and Brown, R.W. 1933. "The Propionic Acid Bacteria ii. Classification<sup>1</sup>". Department of bacteriology Iowa State College. 339-417.
- Wongkasemjit, S.. 2012. "Release of Monomeric Sugars from *Miscanthus sinensis* by Microwave-Assisted Ammonia and Phosphoric Acid Treatments". **Bioresource Technology**. 103(1): 425-431.
- Xu, X., Lin, J. and Cen, P. (2006). "Advances in the Research and Development of Acrylic Acid Production from Biomass". **Chinese Journal of Chemical Engineering**. 14(4) :419-427.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yunos, N.S.H.M., Baharuddin, A.S., Yunos, K.F.M., Naim, M.N. and Nishida, H. 2012. “Physicochemical Property Changes of Oil Palm Mesocarp Fibers Treated with High-Pressure Steam”. **BioResources**. 7(4): 5983-5994.

Zárate, G. 2012. “Dairy Propionibacteria: Less Conventional Probiotics to Improve the Human and Animal Health”. **InTech; Probiotic in Animals**. 153-220.

Zhang, D., Ong, Y.L., Li, Z. and Wu, J.C. 2012. “Optimization of Dilute Acid-Catalyzed Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch for High Yield Production of Xylose”. **Chemical Engineering Journal**. 181-182: 636–642.

Zidwick, M.J., Jiann-Shin Chen, J.S. and Rogers, P. 2013. “Organic Acid and Solvent Production : Propionic and Butyric Acids and Ethanol”. **The Prokaryotes - Applied Bacteriology and Biotechnology**. 135-167.

[Online]. Available : <https://sportahealth.com/nutrition/the-notes-from-eating-mushrooms.html> (สืบค้นข้อมูลวันที่ 28 มีนาคม 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

### 1.1 อาหารเหลว De Man Rogosa Sharpe (MRS broth) ประกอบด้วย

สารสกัดเนื้อ (meat extract)	10	กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	5	กรัม
ดี-กลูโคส (D-glucose)	20	กรัม
Tween 80	1	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	2	กรัม
โซเดียมแอสซิเตต ( $CH_3COONa$ )	5	กรัม
ไตรแอมโมเนียมซิเตรต ( $CH_3COONH_3$ )	2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.2	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ( $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ )	0.05	กรัม

### วิธีการ

ซึ่งส่วนประกอบทั้งหมดแล้วนำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้ได้ 6.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 1.2 อาหารแข็ง De Man Rogosa Sharpe (MRS agar) ประกอบด้วย

สารสกัดเนื้อ (meat extract)	10	กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	5	กรัม
ดี-กลูโคส (D-glucose)	20	กรัม
Tween 80	1	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	2	กรัม
โซเดียมแอสซิเตต ( $CH_3COONa$ )	5	กรัม
ไตรแอมโมเนียมซิเตรต ( $CH_3COONH_3$ )	2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.2	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ( $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ )	0.05	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิธีการ

ซึ่งส่วนประกอบทั้งหมดแล้วนำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้ได้ 6.5 จากนั้นจึงเติมอุ่นลงไป ให้ความร้อนและคนจนอุ่นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในตู้นึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

#### 1.3 อาหารดัดแปลง (พรวิสาร, 2551) ประกอบด้วย

ยีสต์สกัด (yeast extract)	10	กรัม
ทริปติคัสซอยพรอต (trypticase soy broth)	5	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	0.25	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.2	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ( $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ )	0.05	กรัม

### วิธีการ

ซึ่งส่วนประกอบทั้งหมดแล้วนำมาละลายในน้ำไฮโดรไลสัทปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำไฮโดรไลสัท ปรับค่า pH ให้ได้ 6.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในตู้นึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยด้วยวิธี Forage fiber analysis (Goering และ Van Soest, 1970)

วิธีการวิเคราะห์แบบ forage fiber analysis เป็นวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาโดย Goering และ Van Soest โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะให้สามารถแยกแยะ ปริมาณองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชได้วิธีการวิเคราะห์แบบ detergent analysis (วรพงษ์ ,2535)

แบ่งวัตถุแห้งของ อาหารสัตว์ออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ

1. cell content หรือ neutral detergent soluble (NDS) คือ ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์พืชทั้งหมด สามารถละลายได้ในสารละลาย detergent ที่เป็นกลาง ประกอบด้วย กรดอะมิโน ไชมัน แป้ง น้ำตาล เพคติน soluble protein และ non- protein nitrogen วัตถุแห้งส่วนนี้สัตว์ ทุกชนิดสามารถใช้ประโยชน์ได้เกือบทั้งหมด

2. cell wall constituents หรือ neutral detergent fiber (NDF) คือส่วนประกอบของผนังเซลล์ซึ่งไม่สามารถละลายในสารละลาย detergent ที่เป็นกลาง ประกอบด้วยพวกเยื่อใยทั้งหมด คือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนิน คิวติน ซิลิกา เคราติน วัตถุแห้งส่วนนี้เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องเท่านั้นเพราะในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้องมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสได้ NDF แบ่งได้เป็น 2 พวกคือ

2.1 เยื่อใยพวก acid detergent soluble (ADS) เยื่อใยชนิดนี้คือ hemicellulose ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ เป็นสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำสามารถละลายได้ดีในกรด อ่อน และด่างอ่อน พืชตระกูลหญ้าจะมี hemicellulose สูงกว่าพืชตระกูลถั่ว และจะพบ hemicellulose มาก ที่ส่วนใบของพืช พืชที่กำลังงอกจะใช้ hemicellulose ที่มีในเมล็ดเป็นอาหาร และในพืชอาหารสัตว์พบว่า hemicellulose จะอยู่ร่วมกับ ลิกนิน จึงทำให้การย่อยได้ไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากลิกนินเป็นตัวขัดขวางการ ย่อยได้ของ hemicellulose ซึ่งทำให้ย่อยได้ไม่หมด

2.2 เยื่อใยพวก acid detergent fiber (ADF) ประกอบด้วย

- cellulose คือเยื่อใยที่จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตพวกที่ไม่ละลายน้ำ น้ำย่อยของสัตว์ทุกชนิดไม่สามารถย่อยเซลลูโลสได้ จึงจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ cellulase ช่วยในการย่อยสลาย แต่การย่อยได้ของเซลลูโลส จะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณลิกนิน

- Lignin เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์พืช ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรง จะเป็น ส่วนประกอบของเปลือก ชัง หรือส่วนที่เป็นเยื่อใยของราก ลำต้น และจะถูกสร้างจาก ส่วนโคนต้น ไปสู่ยอด เมื่อพืชมีอายุมากขึ้น ปริมาณลิกนิน จะเพิ่มมากขึ้นด้วย จากการที่ลิกนินเป็นสารที่ไม่มีสัตว์ชนิดใดใช้ ประโยชน์ได้เลย ในขณะที่เดียวกับการที่ลิกนิน อยู่ร่วมกับเซลลูโลส และ hemicellulose ทำให้การย่อยได้ของ เซลลูโลส และ hemicellulose ลดลง

ด้วยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Cutin เป็นสารที่เคลือบผิวด้านนอกของผนังเซลล์ของพืช ส่วนใหญ่จะพบบนผิวของเมล็ด มี ลักษณะคล้ายขี้ผึ้ง cutin ย่อยไม่ได้ และถ้ามีมากอาจจะลดการย่อยได้ของ เซลลูโลส และ hemicellulose

- Acid insoluble ash (AIA) คือส่วนของเถ้าที่ไม่ละลายในกรด จัดเป็น สารประกอบอนินทรีย์ ประกอบด้วย silica ซึ่งส่วนใหญ่ร่างกายสัตว์ไม่สามารถจะย่อย หรือ ดูดซึมได้ และยังทำให้การย่อยได้ของ อาหารลดลง

Acid detergent lignin (ADL) หมายถึงส่วนที่มีลิกนินเป็นหลัก ซึ่งเอนไซม์จากสัตว์และ จุลินทรีย์ไม่ สามารถย่อยได้ cellulose หมายถึงเยื่อใยที่จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตพวกที่ไม่ละลายน้ำ hemicellulose เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ เป็นสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลาย น้ำ สามารถละลายได้ดีในกรดอ่อน และด่างอ่อน

#### สูตรคำนวณหาปริมาณเซลลูโลส (ร้อยละ)

$$\text{เซลลูโลส (ร้อยละ)} = \text{ADF (ร้อยละ)} - \text{ADL (ร้อยละ)}$$

#### สูตรคำนวณหาปริมาณเฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)

$$\text{เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)} = \text{NDF (ร้อยละ)} - \text{ADL (ร้อยละ)}$$

### 1.1 การวิเคราะห์หาเยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (Neutral-detergent fiber, NDF)

เป็นการต้มตัวอย่างในสารฟอกที่เป็นกลาง ซึ่งส่วนประกอบภายในเซลล์จะถูกละลายออกมา อยู่ในสารละลาย ขณะที่ส่วนที่เป็นเยื่อใยจะไม่ถูกย่อยละลายได้ ซึ่งเรียกส่วนนี้ว่า NDF ซึ่ง ประกอบด้วย เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน

#### อุปกรณ์

1. เครื่องย่อย (Heating Mantle apparatus) เปิดเครื่องและเปิดน้ำให้ไหลเวียน
2. ขวดก้นกลม (round bottom flask)
3. Gooch crucible (อบที่ 100 องศาเซลเซียส 1 คืบ ใสในโถดูดความชื้นชั่งน้ำหนักบันทึก)
4. เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum pump)

#### สารเคมี

สารละลาย neutral-detergent (neutral detergent solution) ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย

-Sodium lauryl sulphate

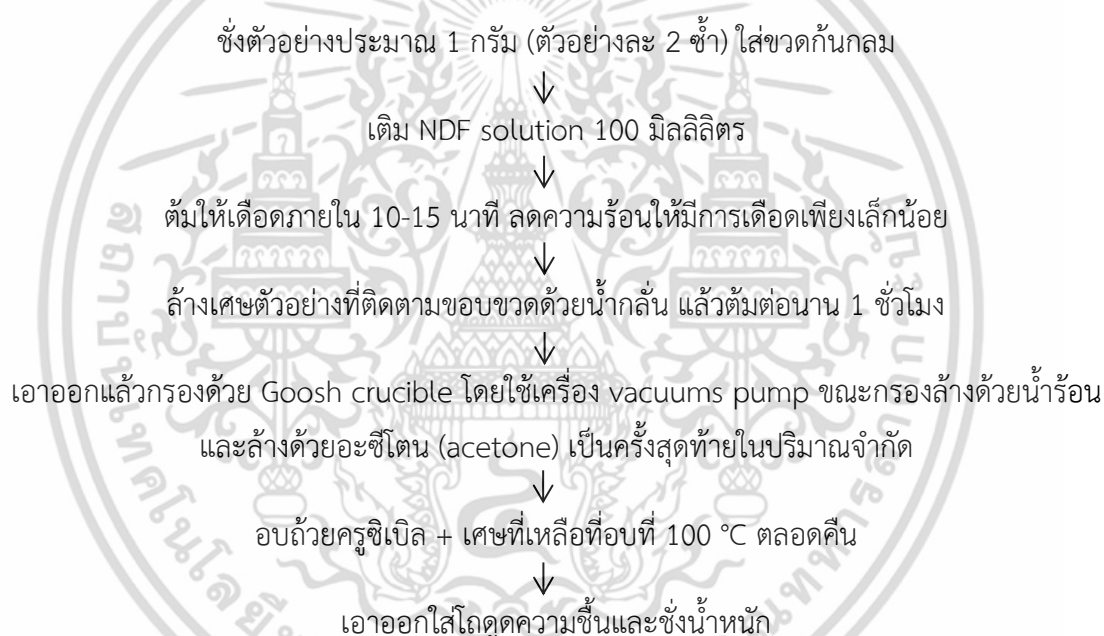
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Disodium ethylene diamine-tetraacetate (EDTA) dehydrate crystal
- Sodium borate decahydrate (borax) ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )
- Disodium hydrogen phosphate anhydrous ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )
- Triethylene glycol หรือ 2-ethoxy ethanol

#### วิธีเตรียม

ใส่ EDTA (18.61 กรัม) และ  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  6.81 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาดใหญ่แล้วผสมน้ำกลั่นเล็กน้อย ละลายสารเคมีโดยใช้ความร้อนจนกระทั่งสารเคมีละลายหมด แล้วเติม sodium lauryl sulphate 30 กรัม และ triethylene glycol 10 มิลลิลิตร หรือ 2-ethoxy ethanol 10 กรัม หลังจากนั้นเติม  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  4.56 กรัม ลงในบีกเกอร์แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

#### วิธีการ



$$\text{การคำนวณ \% NDF} = \frac{(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{เยื่อใย NDF}) - \text{น้ำหนัก crucible} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

## 1.2 การวิเคราะห์หาเยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (Acid-detergent fiber, ADF)

เป็นการย่อย NDF ออกโดย hemicelluloses จะละลายอยู่ในสารฟอกที่เป็นกรด ส่วนที่เหลือที่ไม่ละลายได้แก่ โปรตีน cellulose lignin และ bound nitrogen

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## อุปกรณ์

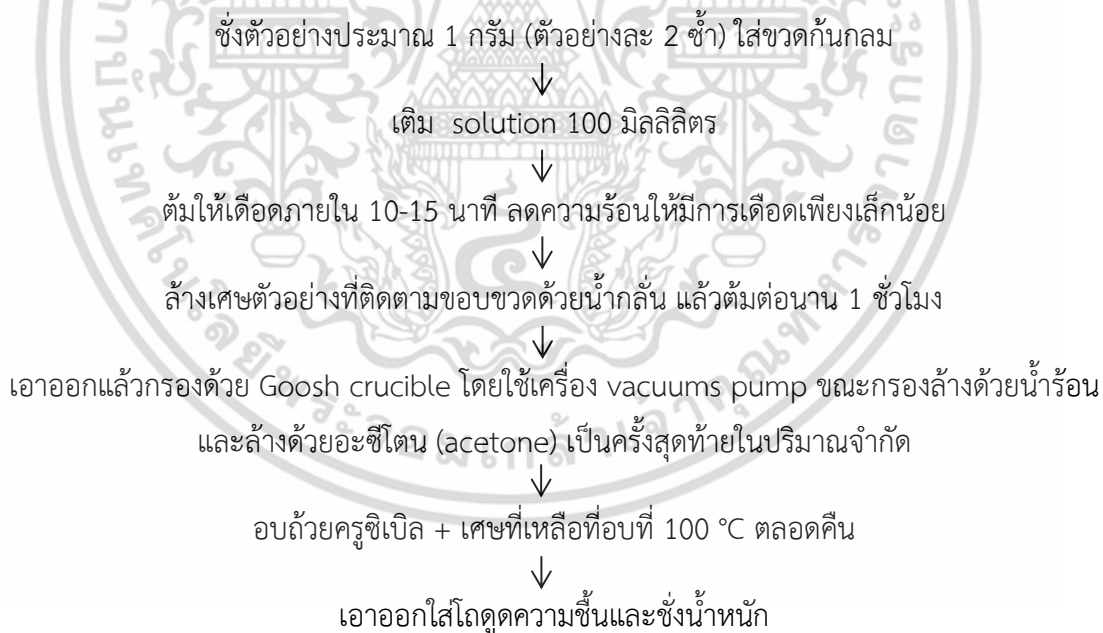
1. เครื่องย่อย (heating mantle apparatus)
2. ขวดก้นกลม (round bottom flask)
3. gooch crucible
4. เครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump)

## สารเคมี

การเตรียม acid detergent solution (10 ลิตร)

1. ชั่ง CTAB น้ำหนัก 200 กรัม ลงในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 ลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. เติมน้ำกลั่น 1.725 ลิตร แล้วนำเข้าตู้ดูดควันแล้วค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริก 275 มิลลิลิตร (96% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
3. เติมน้ำกลั่น 6.7 ลิตร ลงในถังเก็บสาร แล้วจึงเติมสารในข้อ 1 และข้อ 2 ตามลำดับ ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

## วิธีการ



$$\text{การคำนวณ \% ADF} = \frac{(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{เยื่อใย ADF}) - \text{น้ำหนัก crucible} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1.3 การวิเคราะห์หาลิกนิน (Acid-detergent Lignin, ADL)

การหาปริมาณลิกนินใน ADF โดยใช้กรดซัลฟิวริก ละลายเซลลูโลสออกจากลิกนินแต่อาจมี คิวติน (cutin) และ bond nitrogen (เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด) รวมถึงปริมาณซิลิกา

อุปกรณ์

1. ถ้วยครุชเชิล ที่มีตัวอย่างจาก ADF
2. เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum pump)
3. แท่งแก้ว
4. ปีกเกอร์
5. ถาดน้ำเย็น
6. เตาเผา (500 องศาเซลเซียส)

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 72 เปอร์เซ็นต์ (72 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

วิธีการ

เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 72 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ลงใน gooch crucible ที่มี ปีกเกอร์  
 ↓  
 ใช้แท่งแก้วคนเป็นครั้งคราวให้ทั่ว ตั้งทิ้งไว้ 3 – 4 ชั่วโมงนำมากรองโดยใช้ความร้อนล้างและล้างครั้ง  
 สุดท้ายด้วยอะซีโตน  
 ↓  
 อบแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส ตลอดคืน  
 ↓  
 ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นชั่งและบันทึกน้ำหนัก  
 ↓  
 เมาที่ 500 องศาเซลเซียส ตลอดคืน  
 ↓  
 เอาออกใส่โถดูดความชื้นชั่งและบันทึกน้ำหนัก

$$\text{การคำนวณ \% ADL} = \frac{(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{น้ำหนักแห้ง lignin}) - (\text{น้ำหนัก crucible} + \text{Ash}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส (ดัดแปลงจาก สารโวจน์และคณะ, 2544)

### 2.1 อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
2. คิวเวตแก้ว
3. ปิเปต
4. หลอดทดลอง

### 2.2 สารเคมี

1. 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 1.0 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งดีเอ็นเอส 10 กรัม ในน้ำ 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายต่างที่ละน้อย (NaOH 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) คนให้ละลายเข้ากันจนหมด นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนจนกระทั่งได้สารละลายใสจากนั้นเติม potassium sodium tartrate (Rochell salt) ลงไปที่ละน้อยจนครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน เตรียมโดยชั่งกลูโคสมา 0.1000 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

ตารางที่ ข-1 การเจือจางสารละลายกลูโคสด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หลอดที่	สารละลายกลูโคส (1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	0.0	1.0	0
2	0.2	0.8	0.2
3	0.4	0.6	0.4
4	0.6	0.4	0.6
5	0.8	0.2	0.8
6	1.0	0.0	1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3 วิธีิการ

1. ดูดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการหมუნเหวียงแยกเซลล์ออกแล้ว หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ต้องการวิเคราะห์ 1.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

2. เติมสารละลายดีเอ็นเอสปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร

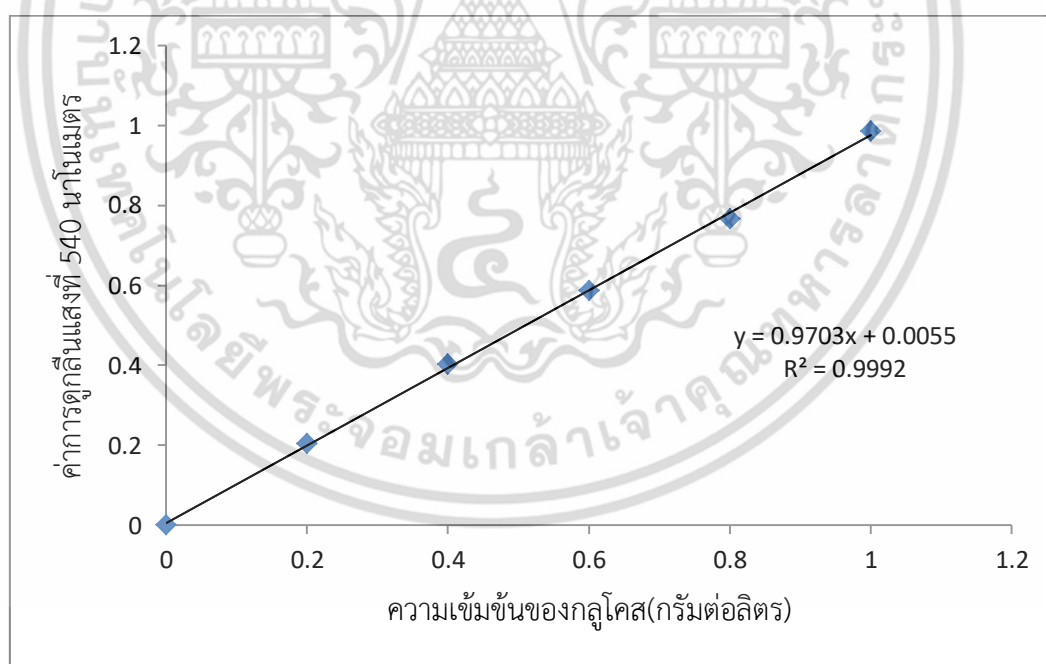
3. นำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที

4. แ่หลอดทดลองในอ่างน้ำเย็น 5 นาที

5. เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

6. นำค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง หรือคำนวณได้จาก

$$\text{ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราการเจือจาง})}{(\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน})}$$



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. การหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและการนับจำนวนโคโลนีโดยวิธี Total plate count (ดัดแปลงจาก สุรีย์, 2549 และ สารโจน์และคณะ, 2544)

#### 3.1 อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ de Man Rogosa Sharpe (MRS)
3. ปิเปตขนาดต่าง ที่อบฆ่าเชื้อแล้ว
4. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0.85 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 8.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
5. หลอดทดลอง
6. ตู้บ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

#### 3.2 วิธีการนับจำนวนโคโลนี

1. ดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำมาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
2. ดูดตัวอย่างแต่ละความเจือจางที่เหมาะสมใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว จานละ 1 มิลลิลิตร
3. นำอาหารแข็ง MRS ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วที่มีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส เทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 10 มิลลิลิตร
4. ทำการร่อนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ 4-5 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว จากนั้นคว่ำจานเพาะเลี้ยงเชื้อและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน
5. นับจำนวนโคโลนีในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกเฉพาะระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี
6. คำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU ต่อมิลลิลิตร)

$$\text{CFU ต่อมิลลิลิตร} = \text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{ส่วนกลับของ Dilution factor}$$

### 4. การวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสติกและปริมาณกรดโพรพิโอนิกด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ดัดแปลงจาก (พรวิสาข์, 2551)

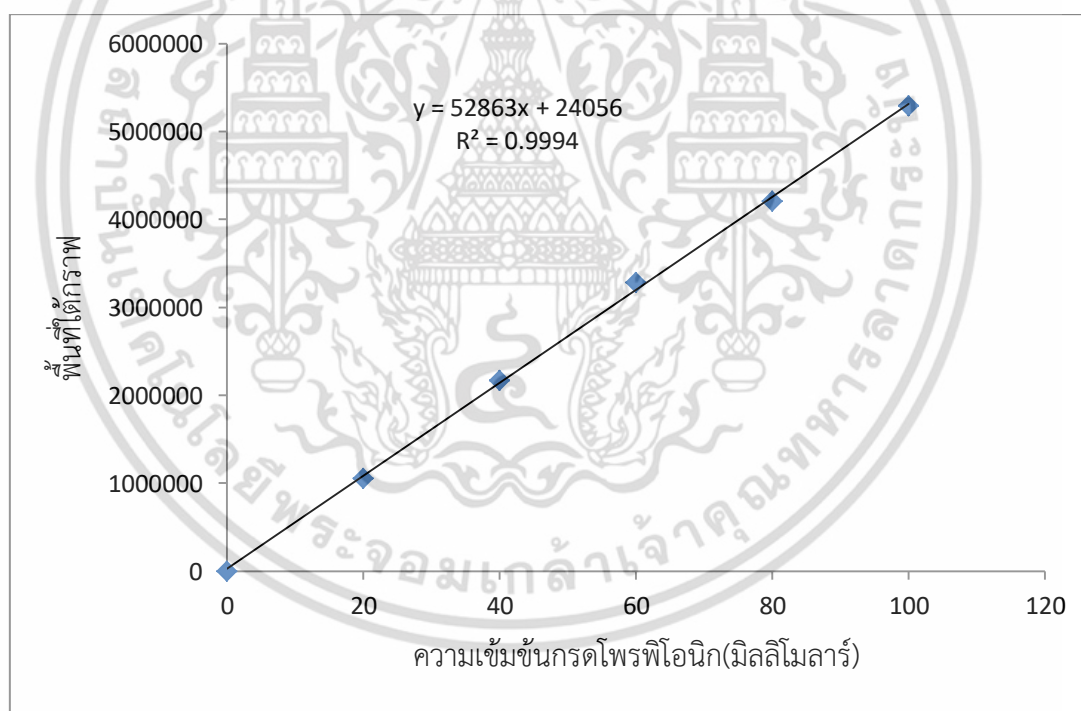
ทำการเตรียมตัวอย่างโดยนำน้ำหมักมาปั่นเหวี่ยงตัวอย่างด้วยความเร็วรอบ 10,000 × g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสกรองผ่านเซลลูโลสเมมเบรน (cellulose acetate filter) ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร แล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC (SHIMAZU รุ่น LC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อคุณได้เห็นว่าเว็บไซต์นี้มีการนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต กรุณาแจ้งให้เราทราบทันที

solution) โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack Inertsil C8-3 (4.6x250 mm., 5  $\mu$ m, SHIMADZU, Japan) โดยมีสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ (Coral และคณะ, 2008) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วย UV-Detector ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร นำพื้นที่ใต้กราฟจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดโพธิ์โอนิก

### 3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดโพธิ์โอนิก

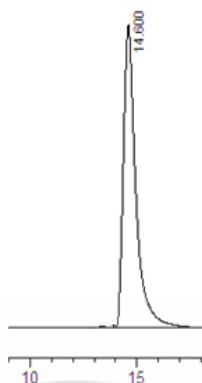
เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดโพธิ์โอนิกความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิโมลาร์ นำสารละลายมาตรฐานไปวิเคราะห์ปริมาณกรดโพธิ์โอนิกด้วย HPLC นำพื้นที่ใต้กราฟที่วิเคราะห์ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นกรดโพธิ์โอนิก โดยคำนวณความเข้มข้นของกรดโพธิ์โอนิกมาตรฐานที่มีหน่วยมิลลิโมลาร์เป็นหน่วยกรัมต่อลิตร แสดงกราฟมาตรฐานของกรด โพธิ์โอนิกดังรูปที่ ข-2



รูปที่ ข-2 กราฟมาตรฐานกรดโพธิ์โอนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างโครมาโตแกรมของกรดโพธิ์โอนิก



รูปที่ ข-3 แสดงโครมาโตแกรมของกรดโพธิ์โอนิก

## 5. วิธีคำนวณค่าจลนพลศาสตร์

### 5.1 ผลได้ของผลิตภัณฑ์ (Yield; $Y_{p/S}$ )

$$Y_{p/S} = \Delta P / \Delta S$$

$\Delta P$  = ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

$\Delta S$  = ปริมาณซับสเตรทที่ถูกใช้ไป

### 5.2 อัตราการเกิดของผลิตภัณฑ์ ( $Q_p$ )

$$Q_p = \Delta P / T$$

$\Delta P$  = ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

$T$  = เวลาที่ใช้ผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ค  
ผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. ผลการศึกษาองค์ประกอบของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ ค-1 องค์ประกอบของเส้นใยทะเลลายปาล์มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

องค์ประกอบ	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)			
	ก่อนการปรับสภาพ	1	2	3
เซลลูโลส	39.99	57.92	59.79	62.81
เฮมิเซลลูโลส	17.24	18.27	19.40	15.25
ลิกนิน	19.48	16.03	14.08	14.23
อื่นๆ	23.29	7.78	6.73	7.71

## 2. การคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์ม โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Central composite design (CCD)

ตารางที่ ค-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) โดยการออกแบบการทดลองแบบ CCD

การทดลองที่	รหัสของปัจจัย			ระดับของปัจจัย			น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	
1	-1	-1	-1	0.5	1:5	30	5.55
2	-1	-1	1	0.5	1:5	90	8.91
3	-1	1	-1	0.5	1:15	30	4.15
4	-1	1	1	0.5	1:15	90	7.02
5	1	-1	-1	1.5	1:5	30	8.37
6	1	-1	1	1.5	1:5	90	11.89
7	1	1	-1	1.5	1:15	30	5.51
8	1	1	1	1.5	1:15	90	7.98
9	-1.68	0	0	0.159	1:10	60	3.29
10	1.68	0	0	1.841	1:10	60	8.11

หมายเหตุ\* C = ความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

R = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

T = เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) โดยการออกแบบการทดลองแบบ CCD (ต่อ)

การทดลองที่	รหัสของปัจจัย			ระดับของปัจจัย			น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	
11	0	-1.68	0	1.0	1:1.59	60	9.84
12	0	1.68	0	1.0	1:18.41	60	5.81
13	0	0	-1.68	1.0	1:10	9.54	4.72
14	0	0	1.68	1.0	1:10	110.46	6.08
15	0	0	0	1.0	1:10	60	15.96
16	0	0	0	1.0	1:10	60	16.06
17	0	0	0	1.0	1:10	60	15.96
18	0	0	0	1.0	1:10	60	16.08
19	0	0	0	1.0	1:10	60	15.91
20	0	0	0	1.0	1:10	60	16.05

หมายเหตุ\* C = ความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

R = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

T = เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส (นาที)

ตารางที่ ค-3 แสดงการคาดคะเนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยปัจจัยจำเพาะต่างๆ ซึ่งได้จากพื้นที่ตอบสนอง

การทดลองที่	ระดับของปัจจัย			รหัสของปัจจัย			น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	
1	0.95	6.32	63.16	-0.1	-0.736	0.105	15.46
2	0.95	7.37	63.16	-0.1	-0.526	0.105	15.88
3	0.95	8.42	63.16	-0.1	-0.316	0.105	16.08
4	0.95	9.47	63.16	-0.1	-0.106	0.105	16.06
5	0.95	10.53	63.16	-0.1	0.106	0.105	15.80
6	0.95	11.58	63.16	-0.1	0.316	0.105	15.33
7	1.05	6.32	63.16	0.1	-0.736	0.105	15.68
8	1.05	7.37	63.16	0.1	-0.526	0.105	16.08

หมายเหตุ\* C = ความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

R = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

T = เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 แสดงการคาดคะเนปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ ด้วยปัจจัยจำเพาะต่างๆ ซึ่งได้จากพื้นที่  
ตอบสนอง (ต่อ)

การ ทดลองที่	ระดับของปัจจัย			รหัสของปัจจัย			น้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)
	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	C (X <sub>1</sub> )	R (X <sub>2</sub> )	T (X <sub>3</sub> )	
9	1.05	8.42	63.16	0.1	-0.316	0.105	16.26
10	1.05	9.47	63.16	0.1	-0.106	0.105	16.22
11	1.05	10.53	63.16	0.1	0.106	0.105	15.95
12	1.05	11.58	63.16	0.1	0.316	0.105	15.46
13	1.16	6.32	63.16	0.32	-0.736	0.105	15.60
14	1.16	7.37	63.16	0.32	-0.526	0.105	15.99
15	1.16	8.42	63.16	0.32	-0.316	0.105	16.15
16	1.16	9.47	63.16	0.32	-0.106	0.105	16.08
17	1.16	10.53	63.16	0.32	0.106	0.105	15.79
18	1.16	11.58	63.16	0.32	0.316	0.105	15.28
19	1.26	6.32	63.16	0.52	-0.736	0.105	15.25
20	1.26	7.37	63.16	0.52	-0.526	0.105	15.62
21	1.26	8.42	63.16	0.52	-0.316	0.105	15.76
22	1.26	9.47	63.16	0.52	-0.106	0.105	15.68
23	1.26	10.53	63.16	0.52	0.106	0.105	15.37
24	1.26	11.58	63.16	0.52	0.316	0.105	14.84
25	1.37	6.32	63.16	0.74	-0.736	0.105	14.55
26	1.37	7.37	63.16	0.74	-0.526	0.105	14.89
27	1.37	8.42	63.16	0.74	-0.316	0.105	15.02
28	1.37	9.47	63.16	0.74	-0.106	0.105	14.91
29	1.37	10.53	63.16	0.74	0.106	0.105	14.58
30	1.37	11.58	63.16	0.74	0.316	0.105	14.03

หมายเหตุ\* C = ความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก (ร้อยละโดยปริมาตร)

R = อัตราส่วนของเส้นใยทะเลลายปาล์มต่อสารละลายกรดฟอสฟอริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)

T = เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. ผลการศึกษาและเปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลเสสที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ค-4 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ และปริมาณเซลล์ ของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 ในอาหารไฮโดรไลเสสที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ ด้วยวิธี overliming

ชั่วโมงที่	ปริมาณกรดโพรพิโอนิก (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเซลล์ (logCFU)
0	1.02	11.77	5.407
24	2.56	9.88	7.053
48	4.66	4.17	8.712
72	7.28	4.24	8.744
96	7.70	3.94	8.574
120	7.78	4.04	8.326
144	7.21	3.88	8.287

ตารางที่ค-5 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ และปริมาณเซลล์ ของเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442 ในอาหารไฮโดรไลเสสที่ไม่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ

ชั่วโมงที่	ปริมาณกรดโพรพิโอนิก (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเซลล์ (logCFU)
0	1.78	12.43	5.344
24	3.31	11.22	7.270
48	7.08	4.47	8.794
72	8.48	4.87	8.805
96	9.13	4.86	8.535
120	9.82	4.86	8.305
144	9.03	3.64	8.265



ภาคผนวก ง  
ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยทะเลลายปาล์มก่อนการปรับสภาพ และหลังการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Cellulose	Between Groups	953.408	3	317.803	7565.228	0
	Within Groups	0.336	8	0.042		
	Total	953.744	11			
Hemicellulose	Between Groups	28.02	3	9.34	42.383	0
	Within Groups	1.763	8	0.22		
	Total	29.783	11			
Lignin	Between Groups	56.768	3	18.923	1096.957	0
	Within Groups	0.138	8	0.017		
	Total	56.906	11			
etc	Between Groups	569.625	3	189.875	678.105	0
	Within Groups	2.24	8	0.28		
	Total	571.865	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Cellulose

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05			
NaOH	N	1	2	3	4
0%	3	39.9867			
1%	3		57.92		
2%	3			59.79	
3%	3				62.81
Sig.		1	1	1	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Hemicellulose

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05			
NaOH	N	1	2	3	4
3%	3	15.2467			
0%	3		17.2433		
1%	3			18.27	
2%	3				19.4
Sig.		1	1	1	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Lignin

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05		
NaOH	N	1	2	3
2%	3	14.08		
3%	3	14.23		
1%	3		16.03	
0%	3			19.48
Sig.		0.199	1	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Etc.

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05		
NaOH	N	1	2	3
2%	3	6.73		
3%	3	7.7133	7.7133	
1%	3		7.78	
0%	3			23.29
Sig.		0.052	0.881	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-2 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลสาบคายปาล์มด้วยกรดฟอสฟอริก สำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี RSM

Model Summary<sup>b</sup>

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics				
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change
1	0.986 <sup>a</sup>	.972	.967	.83908	.972	192.856	9	50	.000

- a. Predictors: (Constant), time\_time, ration\_time, con\_time, con\_ratio, time\_ratio, concentration, ratio\_ratio, con\_con
- b. Dependent Variable: reducingugar

ANOVA<sup>b</sup>

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	1222.032	9	135.781	192.856	.000 <sup>a</sup>
	35.203	50	.704		
Total	1257.235	59			

- a. Predictors: (Constant), time\_time, ration\_time, con\_time, con\_ratio, time\_ratio, concentration, ratio\_ratio, con\_con
- b. Dependent Variable: reducingugar

Coefficients<sup>a</sup>

Model	Unstandardized Coefficients		Std. Error	Standardized Coefficients		t	Sig.	95.0% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error		Beta	t			Lower Bound	Upper Bound
1	(Constant)	15.949	.198		80.720	.000	15.552	16.346	
	con	.762	.131	.138	5.817	.000	.499	1.026	
	ratio	-1.233	.131	-.223	-9.406	.000	-1.496	-.970	
	time	1.488	.131	.269	11.350	.000	1.225	1.751	
	con_ratio	-.435	.171	-.060	-2.540	.014	-.779	-.091	
	con_time	-.030	.171	-.004	-.175	.862	-.374	.314	
	ratio_time	-.193	.171	-.027	-1.124	.266	-.537	.152	
	con_con	-3.389	.128	-.634	-26.559	.000	-3.645	-3.132	
	ratio_ratio	-2.532	.128	-.474	-19.845	.000	-2.788	-2.276	
	time_time	-3.284	.128	-.615	-25.737	.000	-3.540	-3.027	

a. Dependent Variable: reducingusugar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: reducing sugar

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1253.508 <sup>a</sup>	13	96.424	1190.048	.000
Intercept	173.245	1	173.245	2138.172	.000
concentration	27.540	2	13.770	169.950	.000
ratio	62.323	2	31.161	384.590	.000
time	90.786	2	45.393	560.232	.000
con_ratio	4.541	1	4.541	56.049	.000
con_time	.022	1	.022	.267	.608
ration_time	.889	1	.889	10.976	.002
con_con	.000	0	.	.	.
ratio_ratio	.000	0	.	.	.
time_time	.000	0	.	.	.
Error	3.727	46	.081		
Total	6859.649	60			
Corrected Total	1257.235	59			

a. R squared= 0.997 (Adjusted R Squared=0.996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 ผลการศึกษาและเปรียบเทียบการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากอาหารไฮโดรไลสที่ผ่านการกำจัดความชื้นด้วยวิธี overliming และไม่ผ่านการกำจัดความชื้น  
 พืช ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ปริมาณกรดโพรพิโอนิก (กรัมต่อลิตร)

		Group Statistics			
hydrolysate		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
propionic	1	3	7.7767	.23544	.13593
	2	3	9.8200	.18682	.10786

#### Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means				95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
propionic	Equal variances assumed	.103	.764	-11.775	4	.000	-2.04333	.17353	-2.52512	-1.56155	
	Equal variances not assumed			-11.775	3.803	.000	-2.04333	.17353	-2.53510	-1.55157	

อัตราการผลิต (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

Group Statistics

hydrolysate		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
productivity	1	3	0.05567	0.004619	0.002667
	2	3	0.06733	0.005033	0.002906

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances					t-test for Equality of Means				95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper		
productivity	Equal variances assumed	.000	1.000	-2.958	4	.042	-.0117	.00394	-.0226	-.0007		
	Equal variances not assumed			-2.958	3.971	.042	-.0117	.00394	-.0226	-.0007		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์หรือนำไปใช้ในการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลได้ (กรัมกรดโพพรโทอินทอกรัมน้ำตาลรีวิซ)

Group Statistics

	hydrolysate	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
yield	1	3	.87500	.007000	.004041
	2	3	1.06200	.005292	.003055

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means				95% Confidence Interval of the Difference			
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower
yield	.516	.512	-36.911	4	.000	-.187000	.005066	-.201066	-.172934
	Equal variances assumed								
	Equal variances not assumed								

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ (ร้อยละ)

Group Statistics

hydrolysate		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
use_reducing	1	3	65.6767	1.20525	.69585
	2	3	60.8500	1.52424	.88002

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
use_reducing	Equal variances assumed	.456	.537	4.302	4	.013	4.82667	1.12189	1.71179	7.94154
	Equal variances not assumed			4.302	3.798	.014	4.82667	1.12189	1.64538	8.00796

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณเซลล์ (logCFU)

Group Statistics

hydrolysate	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
logCFU 1	3	8.326	0.006557	0.003786
2	3	8.305	0.006083	0.003512

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
logCFU Equal variances assumed	.000	1.000	4.067	4	.015	.021000	.005164	.006662	.035338
Equal variances not assumed			4.067	3.978	.015	.021000	.005164	.006631	.035369

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวจุฑามาศ วิเศษศรี
วัน เดือน ปีเกิด	6 มีนาคม 2533
ที่อยู่ปัจจุบัน	39/1 หมู่ 3 ตำบลนาตาขวัญ อำเภอเมืองระยอง จังหวัดระยอง
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2554 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2559 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	จุฑามาศ วิเศษศรี และ สุขใจ ชูจันทร์ เรื่องการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพและการไฮโดรไลซิสเส้นใยทะเลลายปาล์มเหลือใช้จากการเพาะเห็ดฟางเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์. การประชุมวิชาการระดับชาติ “วลัยลักษณ์วิจัย” ครั้งที่ 8 ระหว่างวันที่ 7-8 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2559 ณ อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีและพัฒนานวัตกรรม มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้