การพรีทรีทเมนต์และการย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในขั้นตอนเดียว เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชานอ้อยด้วยกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

MICROWAVE PRETREATMENT AND HYDROLYSIS IN ONE-STEP FOR BIOETHANOL PRODUCTION FROM SUGARCANE BAGASSE BY *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

นางสาวกรวสา ไพจิตร

นายพัทธพล เพ็งสะและ

นางสาวศวิตา อุสาหะวงค์

นางสาวอภิชญา เอี่ยมโอภาส

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การพรีทรีทเมนต์และการย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในขั้นตอนเดียว เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชานอ้อยด้วยกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

MICROWAVE PRETREATMENT AND HYDROLYSIS IN ONE-STEP FOR BIOETHANOL PRODUCTION FROM SUGARCANE BAGASSE BY *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

นางสาวกรวสา ไพจิตร

นายพัทธพล เพ็งสะและ

นางสาวศวิตา อุสาหะวงค์

นางสาวอภิชญา เอี่ยมโอภาส

T149276

วพ. ก1817 2558

b12878285

b0026964

เลขหมู่ 2558

เลขทะเบียน 149276

วัน.เดือน.ปี 30 มิ.ย. 2561

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MICROWAVE PRETREATMENT AND HYDROLYSIS IN ONE-STEP FOR BIOETHANOL PRODUCTION FROM SUGARCANE BAGASSE BY *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

KORNVASA PAIJIT

PHATTAPHON PHENGSALAE

SAWITA USAHAWONG

APICHAYA EAIMOPAS

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การพรีทรีทเมนต์และการย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในขั้นตอนเดียวเพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชานอ้อยด้วยกระบวนการหมัก โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

Microwave Pretreatment and Hydrolysis in One-step for Bioethanol Production from Sugarcane Bagasse by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 and *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

ชื่อนักศึกษา

นางสาวกรวสา	ไพจิตร	รหัสนักศึกษา	55051230
นายพัทธพล	เพ็งสะและ	รหัสนักศึกษา	55051347
นางสาวศวิตา	อุสาหะวงค์	รหัสนักศึกษา	55051397
นางสาวอภิชญา	เอี่ยมโอภาส	รหัสนักศึกษา	55051424

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2558

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการ	
ดร. สมพิศ สอนโยธา กรรมการ	
รศ. ดวงใจ โอชัยกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การพรีทรีทเมนต์และการย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในขั้นตอนเดียวเพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชานอ้อยด้วยกระบวนการหมัก โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

ชื่อนักศึกษา
นางสาวกรวสา ไพจิตร รหัสนักศึกษา 55051230
นายพัทธพล เพ็งสะและ รหัสนักศึกษา 55051347
นางสาวศวิตา อุสาหะวงค์ รหัสนักศึกษา 55051397
นางสาวอภิชญา เอี่ยมโอภาส รหัสนักศึกษา 55051424

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2558
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

ชานอ้อย (Sugarcane bagasse, SB) เป็นหนึ่งในชีวมวลที่มีลิกโนเซลลูโลสจำนวนมากและเป็นวัสดุเหลือทิ้งหลังการบีบคั้นส่วนที่เป็นน้ำออกจากอ้อยในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล ซึ่งสามารถนำมาย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลสำหรับกระบวนการหมักไบโอเอทานอลได้ การศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการพรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกและด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่า ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ให้ประมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงถึง 53.11 ± 1.88 กรัมต่อลิตร และมีสารพิษเกิดขึ้นน้อยมาก เมื่อนำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวดังกล่าวมาทำการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 ในสภาวะเขย่า พบว่าทั้งสองเชื้อให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 คือ 8.51 ± 0.18 และ 8.24 ± 0.18 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และจากการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักพบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงกว่า *S. cerevisiae* YRK 017 เล็กน้อย

คำสำคัญ : ชานอ้อย ไบโอเอทานอล *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Microwave Pretreatment and Hydrolysis in One-step for Bioethanol Production from Sugarcane Bagasse by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 and *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017			
Students	Miss Kornvasa	Paijit	Student ID	55051230
	Mr. Phattaphon	Phengsalae	Student ID	55051347
	Miss Sawita	Usahawong	Student ID	55051397
	Miss Apichaya	Eaimopas	Student ID	55051424
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)			
Department	Biology			
Faculty	Science			
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)			
Academic Year	2015			
Advisor	Assoc.Prof.Duangjai Ochaikul			

Abstract

Sugarcane bagasse (SB) is one of the most important lignocellulosic biomass, which is acquired after crushing the juice from sugarcane in the sugar production process. It can be degraded into fermentable sugars for ethanol fermentation process. Microwave pretreatment and hydrolysis with sulfuric acid or sodium hydroxide were used in this study. The study found that microwave pretreatment and hydrolysis with 1% sulfuric acid (v/v) at 400 W for 2 minutes could release high level of reducing sugars (53.11 ± 1.88 g/L) and there are a few toxins were produced. The ethanol fermentation from liquid SB hydrolysate by *S. cerevisiae* TISTR 5088 or *S. cerevisiae* YRK 017 in shake conditions found that both of yeasts can produce the maximum ethanol concentration at 24 h (8.51 ± 0.18 and 8.24 ± 0.18 g/L, respectively). In addition, the kinetic production showed that *S. cerevisiae* TISTR 5088 has efficiency concerning ethanol production slightly more than *S. cerevisiae* YRK 017.

Keyword: Bagasse, Bioethanol, *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์เป็นอย่างดีจากหลายๆฝ่าย โดยเฉพาะ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่กรุณาเสียสละเวลาในการให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ และจุดประกายความคิดในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงาน พร้อมทั้งอำนวยความสะดวกและคอยสนับสนุนทางด้านข้อมูล เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาโครงงานพิเศษนี้ ตลอดจนการตรวจทานและแก้ไขรูปเล่มโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง คณะผู้วิจัยจึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ และ ดร. สมพิศ สอนโยธา คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ได้ชี้แนะแนวทางการศึกษาและวิธีการในการดำเนินงานให้ถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังแนะนำข้อบกพร่องต่างๆที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

ขอขอบพระคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความกรุณาตรวจวิเคราะห์สารพิษและน้ำตาลที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงาน เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการศึกษาโครงงานพิเศษต่อไป

ขอขอบพระคุณ นายนิรันดร์ วรรณเสวิฐ เจ้าของร้านขายน้ำอ้อยที่อนุเคราะห์ชานอ้อยซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักที่สำคัญ เพื่อใช้สำหรับการศึกษาโครงงานพิเศษในครั้งนี้

สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ผู้สอนทุกท่าน รวมถึงผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับความสำเร็จทั้งหมดของโครงงานพิเศษฉบับนี้ที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ข้างต้น

กรวสา ไพจิตร
พัทธพล เพ็งสะและ
ศวิตา อุสาหะวงค์
อภิชญา เอี่ยมโอภาส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ซ
คำย่อและสัญลักษณ์	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 เอทานอล	4
2.1.1 สมบัติของเอทานอล	4
2.1.2 กระบวนการผลิตเอทานอล	4
2.1.3 ประเภทของเอทานอล	8
2.1.4 ประโยชน์ของเอทานอล	9
2.2 อ้อย (Sugarcane)	9
2.2.1 ประวัติ	9
2.2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอ้อย	10
2.3 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส	12
2.3.1 เซลลูโลส (Cellulose)	13
2.3.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)	14
2.3.3 ลิกนิน (Lignin)	15
2.3.4 การพรีทรีทเมนต์วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4 คลื่นไมโครเวฟ	20
2.4.1 การเกิดความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ	20
2.4.2 กลไกลการทำงานของคลื่นไมโครเวฟ	21
2.4.3 ประโยชน์ของคลื่นไมโครเวฟ	22
2.5 ยีสต์ (Yeast)	22
2.5.1 ยีสต์ที่ใช้สำหรับการผลิตเอทานอล	24
2.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักเอทานอล	25
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	28
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	28
3.2 สารเคมี	28
3.3 อุปกรณ์	28
3.4 ขั้นตอนการดำเนินการ	29
3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง	29
3.4.2 การพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยเป็นน้ำตาลโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ ร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์	29
3.4.3 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017	30
3.4.4 การวิเคราะห์	31
3.4.5 การศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017	33
3.4.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ	33
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	34
4.1 ผลการศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟูริกที่มีต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อย	34
4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกเจือจางที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ผลการศึกษาปริมาณสารพิษที่เกิดจากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที	36
4.4 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที	37
4.5 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที	39
4.5.1 การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088	39
4.5.2 การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017	41
4.6 การศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017	44
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	46
5.1 สรุปผลการวิจัย	46
5.2 ข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	52
ภาคผนวก ก	53
ภาคผนวก ข	54
ภาคผนวก ค	61
ภาคผนวก ง	65
ภาคผนวก จ	79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับน้ำกลั่น สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟแตกต่างกัน เป็นเวลา 2 นาที	35
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที	36
4.3 ปริมาณสารพิษที่เกิดขึ้นจากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที	37
4.4 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที	38
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง เอทานอล และระดับพีเอชในน้ำหมักที่เวลาต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088	39
4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง เอทานอล และระดับพีเอชในน้ำหมักที่เวลาต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017	41
4.7 ปริมาณเอทานอลจากกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่เวลา 24 ชั่วโมง	43
4.8 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของเอทานอล	4
2.2 แสดงกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบประเภทน้ำตาล	5
2.3 แสดงปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับกรด	6
2.4 แสดงกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบประเภทแป้ง	7
2.5 แผนภูมิเปรียบเทียบปริมาณอ้อยเข้าหีบ ปี 2548/49 – 2557/58	11
2.6 แสดงโครงสร้างภายในของผนังเซลล์ของพืช	13
2.7 แสดงโครงสร้างของเซลลูโลส	14
2.8 แสดงโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส	14
2.9 แสดงโครงสร้างซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของลิกนิน	15
2.10 แสดงของกระบวนการพรีทรีทเมนต์ชีวมวลลิกโนเซลลูโลส	19
2.11 แสดงช่วงความยาวคลื่นของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดต่างๆ	20
2.12 แสดงส่วนประกอบภายในเตาไมโครเวฟ	21
2.13 แสดงการเกิดความร้อนในเนื้อวัตถุจากการให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริก	22
2.14 แสดงลักษณะของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้ Scanning electron microscope (SEM) ที่กำลังขยาย 6000 เท่า	23
2.15 แสดงวิถีเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอทานอลและเมแทบอลิซึมอื่นๆที่มีความสัมพันธ์ในระหว่างกระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae*	24
4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟแตกต่างกัน	35
4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	40
4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	หน่วย	คำอธิบาย
ADF	ร้อยละ	ค่าผลรวมของเซลลูโลสและลิกนินในตัวอย่าง
ADL	ร้อยละ	ค่าแสดงปริมาณลิกนินในตัวอย่าง
DNS	-	3,5-dinitrosalicylic
FID	-	Flame Ionization Detector
HPLC	-	High Performance Liquid Chromatography
NDF	ร้อยละ	ค่าผลรวมของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในตัวอย่าง
P_p	กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	ค่าประสิทธิภาพการผลิตของผลิตภัณฑ์
P_x	กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง	ค่าประสิทธิภาพการผลิตของมวลเซลล์
SB	-	Sugarcane bagasse
$Y_{p/s}$	กรัมต่อกรัม	ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท
$Y_{x/s}$	กรัมต่อกรัม	ค่าผลได้ของมวลเซลล์ต่อซับสเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

จากการสูญเสียน้ำมันเชื้อเพลิงอย่างไม่อาจหลีกเลี่ยงได้ และมีแนวโน้มที่จะลดลงอย่างต่อเนื่อง ก่อให้เกิดความกังวลเกี่ยวกับความมั่นคงด้านพลังงาน เมื่อผนวกกับปัญหาการปลดปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จำนวนมหาศาลจากการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิล ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของปัญหาภาวะโลกร้อน ทำให้เกิดความสนใจที่จะหาทางเลือกใหม่นอกเหนือจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียมมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน (Cardona และคณะ, 2010)

พลังงานชีวมวล (Bio-energy) เป็นหนึ่งในพลังงานทดแทนที่ได้จากสารอินทรีย์ของพืชและสัตว์ เช่น พืชเกษตรกรรม เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม ขยะมูลฝอย เศษไม้ เป็นต้น ซึ่งกระบวนการแปรรูปชีวมวลให้ได้เป็นพลังงาน มีหลากหลายรูปแบบ เช่น การเผาไหม้โดยตรง การผลิตแก๊สชีวภาพ การหมัก และการผลิตเชื้อเพลิงเหลว

เอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน สามารถผลิตได้โดยการสังเคราะห์ทางเคมีจากเอธิลีน ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี และยังสามารถผลิตได้จากกระบวนการหมักโดยอาศัยจุลินทรีย์ ซึ่งใช้พืชผลหรือวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีแป้งและน้ำตาลสูงเป็นวัตถุดิบ โดยสามารถเลือกใช้วัตถุดิบได้ตามความเหมาะสมของแต่ละพื้นที่ เช่น มันสำปะหลัง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย กากน้ำตาล เป็นต้น โดยทั่วไปเอทานอลจะผลิตจากวัตถุดิบจำพวกแป้งและน้ำตาล ซึ่งวัตถุดิบประเภทนี้สามารถใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ได้ จึงเป็นสาเหตุให้เกิดการแข่งขันทางด้านอาหาร ส่งผลให้ต้นทุนจากการใช้วัตถุดิบดังกล่าวสูงขึ้น ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะพัฒนาเทคโนโลยีสำหรับการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว ขี้เลื่อย หญ้า และชานอ้อย ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูก และยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกด้วย

ชานอ้อย (Sugarcane bagasse, SB) เป็นหนึ่งในชีวมวลที่สำคัญ เนื่องจากมีปริมาณลิกโนเซลลูโลสจำนวนมากและสามารถพบได้ในภูมิอากาศเขตร้อนหรือกึ่งร้อน โดยชานอ้อยเป็นผลพลอยได้หลังการบีบคั้นส่วนที่เป็นน้ำออกจากอ้อยในการผลิตน้ำตาล ซึ่งคาดว่าทุกๆ ปีทั่วโลกจะมีอ้อยเข้าสู่กระบวนการผลิตน้ำตาลถึง 5.4×10^8 ตัน (Cardona และคณะ, 2010)

ลิกโนเซลลูโลสสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ และด้วยคุณสมบัติเฉพาะทางเคมี ทำให้มีศักยภาพเพียงพอต่อการพัฒนาให้เกิดประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย ลิกโนเซลลูโลสสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยกรดหรือเอนไซม์ ให้กลายเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้สำหรับกระบวนการหมัก (Fermentable sugars)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสในการผลิตเอทานอลจำเป็นต้องมีการพรีทรีทเมนต์ก่อน โดยกระบวนการพรีทรีทเมนต์มีวิธีการที่หลากหลาย ทั้งวิธีการทางกายภาพ วิธีทางเคมี วิธีทางชีวภาพ และวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ (Physico-chemical pretreatment) ซึ่งการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดเจือจาง เป็นหนึ่งในวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ โดยวิธีการดังกล่าวเป็นขั้นตอนที่การพรีทรีทเมนต์และการย่อยเป็นน้ำตาลเกิดขึ้นภายในขั้นตอนเดียวกัน (Marx และคณะ, 2013)

การใช้คลื่นไมโครเวฟเป็นการให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริก (Dielectric heating) ซึ่งเป็นการให้ความร้อนที่ดำเนินการได้ง่ายและมีประสิทธิภาพสูง โดยความร้อนจะเกิดภายในเนื้อวัตถุโดยตรงและรวดเร็ว เมื่อเกิดการส่งผ่านคลื่นไมโครเวฟ จะทำให้โมเลกุลที่มีขั้วเกิดการหมุนในทิศทางของคลื่นไมโครเวฟ เกิดการสั่นสะเทือนและเสียดสีจนเกิดความร้อนภายในชิ้นวัตถุ และถ่ายเทความร้อนจากภายในสู่ภายนอก ซึ่งแตกต่างจากการให้ความร้อนแบบดั้งเดิมที่จะถ่ายเทความร้อนจากภายนอกสู่ภายในวัตถุ และคลื่นไมโครเวฟยังสามารถทำลายโครงสร้างของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสได้อีกด้วย (Lu และคณะ, 2011)

อย่างไรก็ตาม กระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสสำหรับนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทน จำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีที่มีความเหมาะสมในการผลิตเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด มีความคุ้มค่าและเหมาะสมทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม เพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงานที่สะอาดอย่างแท้จริง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาผลของการพรีทรีทเมนต์และการย่อยเป็นน้ำตาลของชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง
2) เพื่อศึกษาผลของการหมักเอทานอลจากชานอ้อยโดยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และการย่อยเป็นน้ำตาลของชานอ้อยด้วยวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง
2) ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และการย่อยเป็นน้ำตาลของชานอ้อยด้วยวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟ
3) ศึกษาประสิทธิภาพการหมักไบโอเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถนำชานอ้อย ซึ่งเป็นเศษวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล มาใช้ในการผลิตเอทานอลเพื่อนำมาเป็นแหล่งพลังงานทดแทนได้
2) สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลได้
3) ลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อม โดยนำชานอ้อยซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งมาใช้เป็นซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

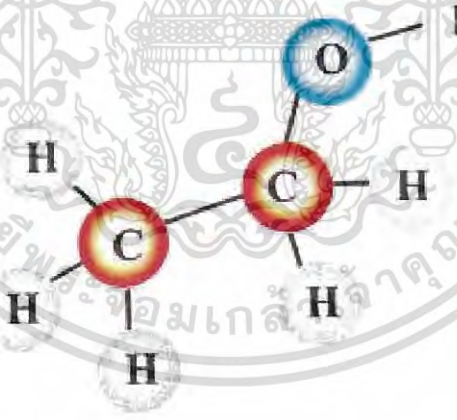
บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอทานอล

ในปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจเกี่ยวกับเชื้อเพลิงชีวภาพ เช่น เอทานอล เป็นจำนวนมาก เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่ โดยเฉพาะเอทานอลที่ได้จากการหมักผลพลอยได้ทางการเกษตร (ส่วนของพืชที่ไม่ใช่อาหาร) (Sims และคณะ, 2010; Webner และคณะ, 2010) เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม และมีผลผลิตทางการเกษตรเหลือใช้ อีกทั้งยังมีศักยภาพในการนำไปผลิตเป็นพลังงานทดแทนได้ เช่น อ้อย มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพด เป็นต้น (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงานกระทรวงพลังงาน, 2554; ออนไลน์)

2.1.1 สมบัติของเอทานอล

เอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) หรือเกรนด์แอลกอฮลล์ (Grain alcohol) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี จุดติดไฟ และระเหยง่าย มีสูตรทางเคมีคือ C_2H_5OH มีน้ำหนักโมเลกุล 46.07 กรัมต่อโมล มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำและอีเทอร์ มีจุดเดือด 78.32 องศาเซลเซียส จุดเยือกแข็ง -114.1 องศาเซลเซียส และมีความหนาแน่น 0.7893 กรัมต่อมิลลิลิตร (กล้าณรงค์และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของเอทานอล
ที่มา : http://www.vcharkarn.com/lesson/1456 วันที่สืบค้น 1 มีนาคม 2559

2.1.2 กระบวนการผลิตเอทานอล (กล้าณรงค์และคณะ, 2549)

กระบวนการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical synthesis) และกระบวนการหมัก (Fermentation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.1 การผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical Synthesis)

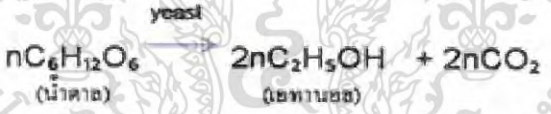
การผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี เป็นการสังเคราะห์จากอนุพันธ์ของสารปิโตรเลียม เช่น เอธิลีน (Ethylene, C_2H_4) ในระยะแรกเป็นการสังเคราะห์จากปฏิกิริยาทางอ้อมของเอธิลีน ซึ่งทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกได้เอทิลซัลเฟต จากนั้นจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้เอทานอล ต่อมาได้มีการสังเคราะห์เอทานอลจากเอธิลีนโดยตรงด้วยปฏิกิริยาการระเหยน้ำ (Dehydration)

2.1.2.2 การผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมัก (Fermentation)

กระบวนการหมักเป็นการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลโดยอาศัยการหมักด้วยเชื้อยีสต์ ซึ่งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ในขั้นตอนแรกยีสต์จะใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) เป็นสารอาหารสำหรับการเจริญ จากนั้นจะเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอลโดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งกระบวนการหมักสามารถแบ่งได้ตามประเภทของวัตถุดิบ โดยวัตถุดิบที่นำมาผลิตเอทานอลจะเป็นวัตถุดิบที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอยู่ในโครงสร้างโมเลกุล ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

- **วัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Sugar)**

วัตถุดิบประเภทนี้จะมีน้ำตาลซูโครส (Sucrose) เป็นองค์ประกอบหลัก โดยเชื้อยีสต์สามารถนำวัตถุดิบประเภทนี้ไปใช้ได้โดยตรง ไม่ต้องผ่านกระบวนการใดๆ เช่น ภากน้ำตาล ข้าวฟ่างหวาน และน้ำตาลจากหัวบีท

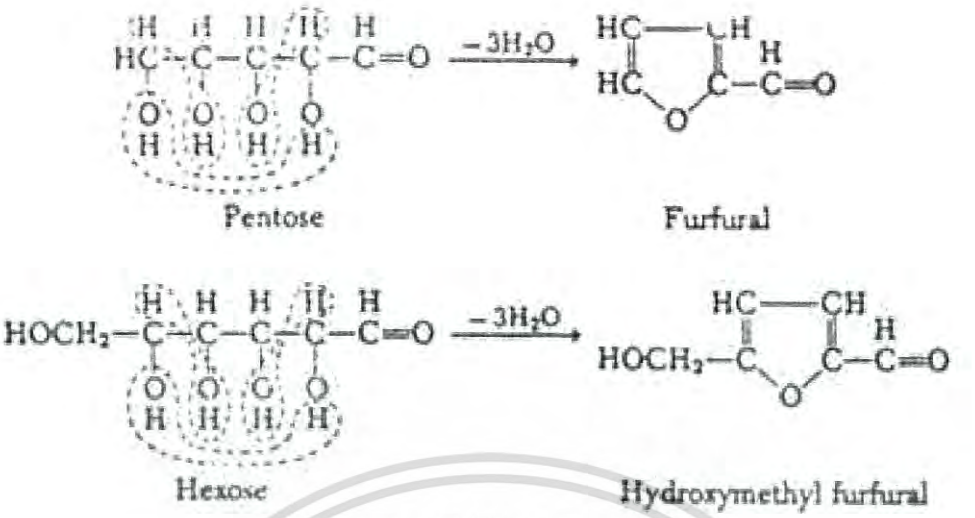


รูปที่ 2.2 แสดงกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบประเภทน้ำตาล

ที่มา : http://www.tpa.or.th/writer/read_this_book_topic.php?bookID=1619&pageid=4&read=true&count=true วันที่สืบค้น 1 มีนาคม 2559

นอกจากนี้น้ำตาลที่มีอยู่ในวัตถุดิบยังสามารถทำปฏิกิริยากับกรดได้ โดยเมื่อให้น้ำตาลทำปฏิกิริยากับกรดแก่ที่อุณหภูมิสูงๆ จะได้สารประกอบที่มีโครงสร้างเป็นรูปวงแหวน ทั้งนี้เพราะน้ำตาลเกิดปฏิกิริยาไซไคลเซชัน (Cyclization) จากการสูญเสียโมเลกุลของน้ำกลายเป็นสารประกอบเฟอร์ฟูรัล (Furfural) หรืออนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัล (Furfural derivative) สารประกอบเฟอร์ฟูรัลที่เกิดขึ้นนี้สามารถทำปฏิกิริยากับสารกลุ่มฟีนอล (Phenols) เกิดเป็นสารประกอบที่มีสี ดังนั้นปฏิกิริยานี้จึงนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจหาน้ำตาลได้ โดยปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับกรดเป็นไปตามสมการดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แสดงปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับกรด

ที่มา : http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap1/chapter1_3.html วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2559

จากปฏิกิริยาข้างต้น กรดจะทำหน้าที่เป็นตัวดึงโมเลกุลของน้ำออกจากน้ำตาล โดยปกติจะใช้กรดแก่ที่มีความเข้มข้น 4-6 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่านี้จะต้องใช้กรดที่เข้มข้นมากขึ้น สำหรับน้ำตาลเพนโตส (คาร์บอน 5 อะตอม) เมื่อเกิดปฏิกิริยานี้จะได้เฟอร์ฟูรัล ส่วนน้ำตาลเฮกโซส (คาร์บอน 6 อะตอม) จะได้ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (Hydroxy methyl furfural) โดยอัตราเร็วของปฏิกิริยานี้จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของน้ำตาล อุณหภูมิและความเข้มข้นของสารละลายกรด

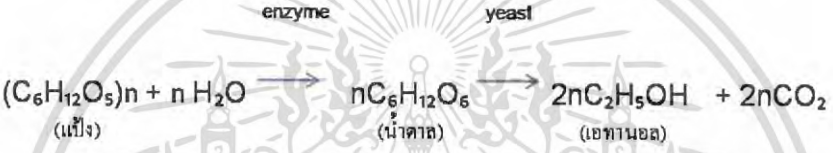
น้ำตาลยังสามารถเกิดปฏิกิริยากับด่างได้ โดยเมื่อน้ำตาลทำปฏิกิริยากับด่างจะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายอย่าง ดังต่อไปนี้ เมื่อให้น้ำตาลอยู่ในสารละลายของด่างอ่อน เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) หรือแบเรียมไฮดรอกไซด์ ($Ba(OH)_2$) น้ำตาลกลูโคสจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นฟรุคโตส และแมนโนส หรือกลูโคส ฟรุคโตส และแมนโนสได้ โดยเปลี่ยนโครงสร้างไปมาระหว่างกัน การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นตรงคาร์บอนอะตอมที่ 1 และ 2 เท่านั้น เนื่องจากน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวมีโครงสร้างตั้งแต่คาร์บอนอะตอมที่ 3 ถึงคาร์บอนอะตอมที่ 6 เหมือนกัน เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงตรงคาร์บอนที่มีโครงสร้างต่างกัน จึงทำให้สามารถเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลอีกชนิดหนึ่งได้ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปมาระหว่างน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดนี้จะผ่านทางอีนอลฟอร์ม (Enol form) ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (Intermediate) ของปฏิกิริยานี้ และเรียกการเปลี่ยนแปลงในลักษณะนี้ว่า Lobry de Bruyn Transformation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อให้น้ำตาลอยู่ในสารละลายของด่างแก่ เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) น้ำตาลจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลายอย่าง ทำให้น้ำตาลมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าในสารละลายที่เป็นกรด ดังนั้นการทดสอบคุณสมบัติการรีดิวซ์ของน้ำตาลจึงนิยมทำในสารละลายที่มีด่างแก่อยู่ด้วยเสมอ (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2559 : ออนไลน์)

- **วัตถุดิบประเภทแป้ง (Starch)**

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (Glucosidic linkage) เมื่อนำมาผ่านกระบวนการย่อยจะได้น้ำตาลกลูโคสสำหรับใช้ในกระบวนการหมัก เช่น มันสำปะหลัง มันเทศ ธัญพืช และมันฝรั่ง (กล้าณรงค์ และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.4 แสดงกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบประเภทแป้ง

ที่มา : http://www.tpa.or.th/writer/read_this_book_topic.php?bookID=1619&pageid=4&read=true&count=true วันที่สืบค้น 1 มีนาคม 2559

- **วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose)**

วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด เศษไม้เศษกระดาษและขี้เลื่อย เป็นต้น มีองค์ประกอบสำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ลิกนิน (Lignin) และสารประกอบอื่นๆ เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาวและอยู่ในรูปผลึก มีลักษณะเป็นเส้นใยเหนียวและไม่ละลายน้ำ เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส (Pentose) หลายชนิด เช่น ไซโลส (Xylose) แมนโนส (Mannose) และอะราบิโนส (Arabinose) เป็นต้น โดยลิกนินเป็นโพลิเมอร์ของฟีนิลโพรเพน (Phenylpropane) ซึ่งทนต่อการย่อยสลายอย่างมาก ดังนั้นในการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสจึงประกอบด้วยขั้นตอนหลักๆ 3 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้

1) การทำพรีทรีทเมนต์ เป็นการทำลายพันธะที่เซลลูโลสจับกับสารประกอบอื่นๆออก เพื่อให้เอนไซม์เซลลูเลสสามารถเข้าย่อยเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น โดยวิธีการพรีทรีทเมนต์มีหลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ ได้แก่ การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) วิธีทางเคมี ได้แก่ การย่อยด้วยกรดเจือจาง กรดเข้มข้น การย่อยด้วยโอโซน และย่อยด้วยด่าง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การย่อย มี 2 วิธี คือ การย่อยด้วยกรด และการย่อยด้วยเอนไซม์ การย่อยด้วยกรดประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการย่อยเฮมิเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลเพนโตส จากนั้นขั้นตอนที่ 2 เป็นการย่อยเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลกลูโคส ส่วนเทคโนโลยีการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ใช้ในปัจจุบันคือ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

3) การหมักน้ำตาลที่ได้ให้เป็นเอทานอล โดยนำน้ำตาลที่ได้มาใช้เป็นสารอาหารสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่เลือกใช้ต้องมีความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดนั้นๆ จากนั้นจึงหมักน้ำตาลไปเป็นเอทานอล (สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553)

2.1.3 ประเภทของเอทานอล

เอทานอลเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง และเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน สามารถละลายทั้งในน้ำ และสารละลายอินทรีย์อื่นๆ เป็นแอลกอฮอล์ที่สามารถนำมาบริโภคได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในรูปของเอทานอลไร้น้ำ (Anhydrous ethanol) ที่มีความบริสุทธิ์สูง (ความเข้มข้นร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร) การนำเอาเอทานอลไปใช้ สามารถทำได้หลายทางดังนี้

1) แอลกอฮอล์ที่ใช้รับประทานได้โดยตรง (Portable alcohol) ส่วนใหญ่จะถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมสุรา เครื่องสำอาง และยา

2) แอลกอฮอล์ที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงมีความบริสุทธิ์สูงร้อยละ 95 หรือร้อยละ 99.5 - 99.6 แอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์แตกต่างกันนี้ สามารถนำมาใช้ทำเป็นเชื้อเพลิงได้ 3 รูปแบบ ได้แก่

- แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ร้อยละ 95 ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซิน หรือดีเซลโดยใช้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง
- แอลกอฮอล์ร้อยละ 99.5 - 99.6 เมื่อผสมกับน้ำมันเบนซินจะได้เป็น แก๊สโซฮอล์ โดยที่แก๊สโซฮอล์ 95 หมายถึงการผสมน้ำมันเบนซิน 95 กับเอทานอลในสัดส่วน 9:1 โดยที่ยังรักษาค่าออกเทนไว้ได้ในระดับเดิม
- เป็นสารเคมีที่ช่วยเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมัน โดยการเปลี่ยนรูปเอทานอล เป็น ETBE (Ethyl Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่ง MTBE เป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้เนื่องจากก่อให้เกิดมลภาวะในอากาศที่สูงกว่าสารเติมแต่งอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ประโยชน์ของเอทานอล (เดือนรุ่ง และคณะ, 2549)

1) ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์จากแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ
2) ใช้เป็นตัวทำละลาย ตัวสกัดในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น สี แล็กเกอร์ เป็นต้น
3) ใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง เช่น แก๊สโซฮอลล์
4) ใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่างๆ เช่น เบียร์ สุรา ไวน์ เป็นต้น
5) ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางต่างๆ
6) ใช้เป็นส่วนผสมในยาบางชนิด เช่น tinctures

เอทานอลสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ โดยมีข้อดี คือ เป็นของเหลวที่ใช้ได้ทันที ซึ่งแตกต่างกับเชื้อเพลิงปิโตรเลียมที่ต้องผ่านกระบวนการที่ซับซ้อนเพื่อทำให้บริสุทธิ์ โดยเอทานอลสามารถผลิตได้จากทรัพยากรธรรมชาติที่สร้างขึ้นมาทดแทนใหม่ได้ (Renewable Resource) หลากหลายชนิด ช่วยแก้ปัญหาผลผลิตทางการเกษตรล้นตลาด เช่น อ้อย มันสำปะหลัง และยังสร้างความมั่นคงด้านพลังงานจากการใช้วัตถุดิบที่ผลิตได้ภายในประเทศ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงานกระทรวงพลังงาน, 2554; ออนไลน์) อีกทั้งการเผาไหม้ของเอทานอลยังสะอาดกว่าการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงปิโตรเลียม เช่น น้ำมันเบนซิน ทั้งนี้เอทานอลอาจใช้เป็นเชื้อเพลิงเพียงอย่างเดียว หรือผสมกับน้ำมันเบนซินหรือดีเซลได้อีกด้วย (สาวิตรี, 2549)

2.2 อ้อย (Sugarcane) (เกษม, 2519)

2.2.1 ประวัติ

อ้อยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Saccharum officenarum* L. มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในหมู่เกาะนิวกินี ซึ่งเป็นเกาะใหญ่ในมหาสมุทรแปซิฟิก และแพร่กระจายไปยังหมู่เกาะเมลานีเซียตะวันออกกลางและแอฟริกาเหนือ อ้อยเป็นพืชในสกุล *Saccharum* ซึ่งพืชในสกุลนี้มี 6 สปีชีส์ คือ

1) *S. spontaneum* จัดเป็นอ้อยป่าที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลต่ำมาก แต่มีเยื่อใยสูง ลำต้นเล็ก ใบแคบ ทนทานต่อความแห้งแล้ง ทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูอ้อย มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตกึ่งร้อนของประเทศอินเดีย
2) *S. robustum* จัดเป็นอ้อยป่า ที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลต่ำ แต่มีเยื่อใยสูง ลำต้นยาวและใหญ่ มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะนิวกินี และหมู่เกาะเมลานีเซีย
3) *S. sinense* หรือเรียกว่า อ้อยจีน เป็นอ้อยขนาดเล็กและแข็ง มีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลปานกลาง เยื่อใยสูง ปล้องยาวแต่ลำเล็ก ใบยาวแคบ มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีน
4) *S.barberi* Jesw. เรียกว่าอ้อยอินเดีย เป็นอ้อยที่มีขนาดเล็กเช่นเดียวกับอ้อยจีน มีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลปานกลาง แต่เยื่อใยสูง ปล้องยาวปานกลางแต่ลำเล็กใบสั้นแคบและมีถิ่นกำเนิดทางเหนือของประเทศอินเดีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) *S. edule* เป็นลูกผสมระหว่าง *S. robustum* และ *Miscanthus floridulus* มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะนิวกินี ซึ่งคนพื้นเมืองของหมู่เกาะเมลานีเซียใช้ช่อดอกเป็นอาหาร

6) *S. officenarum* L. เป็นอ้อยที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลในปัจจุบัน มีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูง แต่มีเยื่อใยค่อนข้างต่ำ ปล้องยาว ลำใหญ่ มีใบยาวและกว้าง มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตของประเทศอินโดนีเซีย เมียนมาร์ และจีน

2.2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอ้อย

อ้อยมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์ Gramineae โดย *S. officenarum* เป็นอ้อยที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลในปัจจุบัน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์โดยทั่วไปของอ้อยมีส่วนต่างๆ ที่สำคัญดังนี้

2.2.2.1 ลำต้น

ลักษณะลำต้น เป็นลำเดี่ยวมีข้อ และปล้องสังเกตได้ชัดเจน ไม่มีกิ่งก้าน ลำต้นทำหน้าที่เป็นท่อลำเลียงอาหารและน้ำจากดินไปสู่ยอด น้ำตาลซึ่งผลิตขึ้นที่ใบจะถูกเก็บไว้ในลำต้น เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต และเป็นส่วนสำคัญที่สุดที่ใช้ในการขยายพันธุ์และสะสมน้ำตาล ลำต้นแบ่งออกเป็นปล้องๆ แต่ละปล้องมีข้อ และตาหนึ่งตาหรือมากกว่า

ปล้องอ้อยมีลักษณะตัน มีความยาว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ลักษณะสี และการคดงอที่แตกต่างกันออกไปตามชนิดของอ้อย โดยทั่วไปเส้นผ่าศูนย์กลางลำอ้อยจะมีขนาดประมาณ 2-5 เซนติเมตร เปลือกนอกของลำต้นอ้อยจะมีความแข็งและมีไข (Wax) เกาะโดยรอบเปลือก

บริเวณข้อจะมีลักษณะเป็นวงโดยรอบ อ้อยหนึ่งปล้องจะมีหนึ่งตา บางปล้องอาจไม่มีตา ซึ่งเมื่อตัดปล้องอ้อยไปลงปลูกในดิน หน่อของอ้อยลำใหม่จะเจริญออกมาจากบริเวณนี้

2.2.2.2 ใบ

ส่วนของใบจะประกอบด้วยกาบใบและแผ่นใบ กาบใบจะเกิดขึ้นที่ข้อเป็นส่วนที่หุ้มลำต้นไว้ มีขนปกคลุม และเชื่อมต่อกับแผ่นใบซึ่งมีลักษณะยาว บาง และแบน

2.2.2.3 ระบบราก

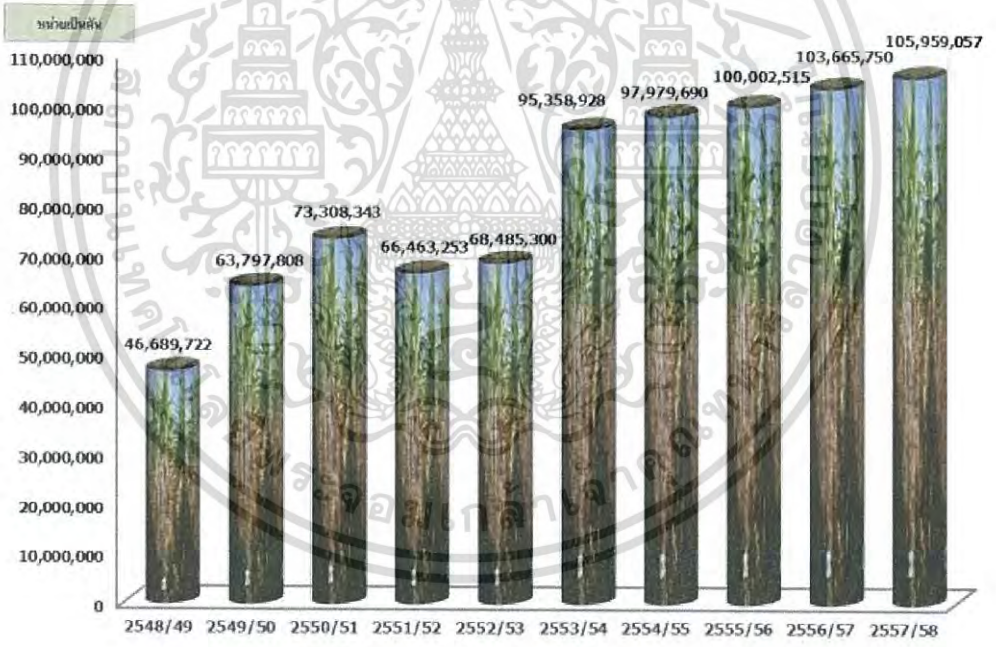
อ้อยมีระบบรากฝอยเช่นเดียวกับพืชตระกูลหญ้าทั่วไป โดยแผ่กระจายรอบลำต้นและหยั่งลึกลงในดินได้มากกว่า 30 เซนติเมตร รากอ้อยแบ่งได้ 3 ชนิด คือ 1. รากค้ำยัน เกิดจากโคนอ้อย 2. รากฝอย มีลักษณะเป็นฝอยบาง และมีแขนงมาก 3. รากดิ่ง มีลักษณะคล้ายเส้นเชือกแทงลึกลงในดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.4 ดอกอ้อย

อ้อยมีดอกขนาดเล็กเกิดเป็นช่อที่บริเวณปลายของลำต้น มีสีขาวไปจนถึงน้ำเงินหรือม่วง ในทางเศรษฐกิจไม่นิยมปลูกอ้อยที่ออกดอก เพราะน้ำตาลที่สะสมอยู่ในลำต้นถูกนำไปใช้สร้างช่อดอก จึงส่งผลให้ความหวานลดลงเล็กน้อย แต่ดอกอ้อยสามารถใช้เพื่อการผสมพันธุ์ได้ เมื่อเกิดการผสมพันธุ์กันขึ้น จะพัฒนาเกิดเป็นเมล็ดในเวลาต่อมา โดยมีรูปร่างเป็นรูปไข่ มีสีน้ำตาลออกเหลืองอ่อน ขนาดเล็กมาก เส้นผ่าศูนย์กลางยาวเพียง 1 – 1.5 มิลลิเมตร

นอกจากจะหีบเอาน้ำอ้อยไปทำน้ำตาลแล้ว ส่วนประกอบอื่นๆ ของอ้อยที่เหลือ เช่น ชานอ้อย ซึ่งประกอบไปด้วย เซลลูโลสร้อยละ 34 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27 และลิกนินร้อยละ 18 (Binod และคณะ, 2011) ก็สามารถนำไปดัดแปลงใช้ประโยชน์ด้านอื่นได้อีก โดยนำไปอัดเป็นแผ่นคล้ายไม้อัด ใช้ทำเยื่อกระดาษ พลาสติก และสามารถนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงทดแทนได้อีกด้วย (กรมวิชาการเกษตร, 2523)



รูปที่ 2.5 แผนภูมิเปรียบเทียบปริมาณอ้อยเข้าหีบ ปี 2548/49– 2557/58

(รายงาน ณ วันที่ 9 พฤษภาคม 2558)

ที่มา : รายงานพื้นที่ปลูกอ้อยปีการผลิต 2557/58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสถานการณ์การผลิตอ้อยเข้าหีบ ตั้งแต่ปีการผลิต 2553/54 จนถึงปีการผลิต 2557/58 จะเห็นว่ามีปริมาณอ้อยเข้าหีบเพิ่มขึ้น โดยปีการผลิต 2557/58 มีปริมาณอ้อยเข้าหีบอยู่ที่ 105.96 ล้านตัน และปีการผลิต 2556/57 อยู่ที่ 103.66 ล้านตัน ซึ่งหีบได้มากกว่า 2.29 ล้านตัน คิดเป็นร้อยละ 2.2 เนื่องจากที่ผ่านมามีโรงงานน้ำตาลที่ได้รับอนุญาตให้ตั้งใหม่เพื่อเปิดรับอ้อยเข้าหีบเพิ่มขึ้นอีกหลายโรงในพื้นที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

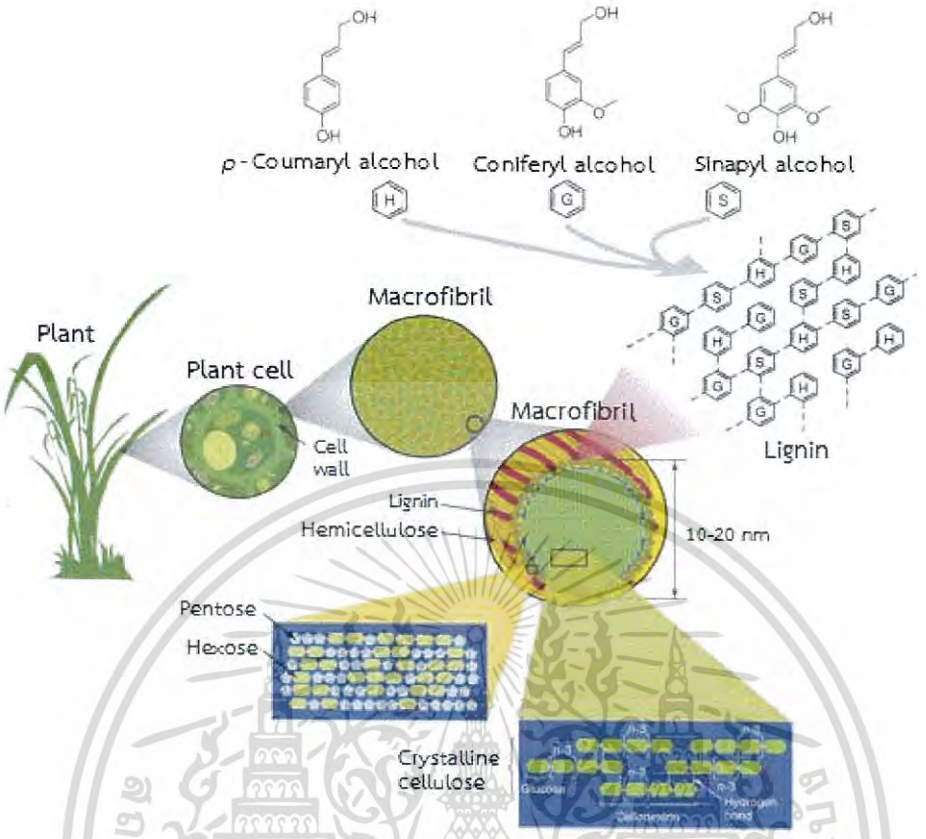
ชานอ้อยเป็นหนึ่งในวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสที่พบมาก ซึ่งได้จากลำต้นของอ้อยหลังจากการบดและบีบคั้นเอาส่วนของน้ำออก โดยเป็นผลพลอยได้ของอุตสาหกรรมน้ำตาล ซึ่งสามารถนำมาใช้สร้างพลังงานไอน้ำได้ (Fuel for steam generation) ที่ผ่านมามีการศึกษาค้นคว้านำชานอ้อยไปผลิตกระแสไฟฟ้า และเยื่อกระดาษในระดับอุตสาหกรรม รวมทั้งนำไปหมักให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ เอนไซม์ กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ และผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับยา อีกทั้งใช้เป็นซับสเตรทในการหมักให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไซลิทอล (Xylitol) กลิ่นรส (Favor) โปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein) และเอนไซม์ (Enzyme) เช่น เซลลูเลส (Cellulase), ลิกนินเนส (Ligninase) และ ไซลาเนส (Xylanase) นอกจากนี้ยังนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแอกติเวตเตด-คาร์บอน (Activated carbon) ได้อีกด้วย

โพลิเมอร์โดยทั่วไปของชานอ้อยจะคล้ายกับไม้เนื้อแข็ง ซึ่งมีเซลลูโลสร้อยละ 34 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27 และลิกนินร้อยละ 18 (Binod และคณะ, 2011) จากสถิติในปี 2004 พบว่าการผลิตชานอ้อยทั่วโลกมีประมาณ 373-416 ล้านตันต่อปี อ้อย 1 ตัน จะให้ชานอ้อย 280-312 กิโลกรัม ซึ่งทั่วโลกมีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากชานอ้อยได้ถึง 58.2 ล้านลิตรต่อปี (Cardond และคณะ, 2010)

2.3 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส

ลิกโนเซลลูโลสเป็นชีวมวลที่มีโครงสร้างซับซ้อน โดยมีส่วนประกอบหลักคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน มีกรดและแร่ธาตุจำนวนเล็กน้อย สำหรับการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอล จำเป็นต้องผ่านกระบวนการพรีทรีทเมนต์ และการย่อยที่สมบูรณ์ก่อน จึงจะเปลี่ยนไปเป็นโพลิเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต และน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



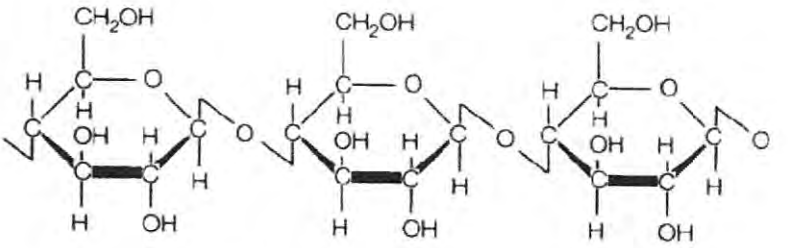
รูปที่ 2.6 ภาพแสดงโครงสร้างภายในของผนังเซลล์ของพืช

ที่มา : http://www.nature.com/nature/journal/v454/n7206/fig_tab/nature07190_F2.html วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2559

2.3.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลส เป็นเบต้ากลูแคน (β-glucan) ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4 (β-1,4-glycosidic) เซลลูโลสเป็นโครงสร้างเส้นตรง เกิดจากการเชื่อมต่อกันของหน่วยย่อย คือ เซลโลไบโอส (Cellobiose) โดยเซลลูโลสแต่ละสายจะเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจนเกิดเป็นโครงสร้างผลึก โครงสร้างนี้จะอยู่รวมเป็นกลุ่มซึ่งทำให้เกิดความแข็งแรงและยากต่อการสลายตัว ด้วยเหตุผลนี้เซลลูโลสจึงเป็นโครงสร้างหลักของพืชที่พบในผนังเซลล์ โดยพบเซลลูโลสร้อยละ 40 - 60 ของน้ำหนักแห้งของลิกโนเซลลูโลส (Cardona และคณะ, 2010) และเซลลูโลสเป็นโครงสร้างที่สำคัญในพืช อีกทั้งยังเป็นโพลิเมอร์ที่พบมากที่สุดในโลก โดยมีอัตราการสังเคราะห์ประมาณ 10^{10} - 10^{11} ตันต่อปี (David, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

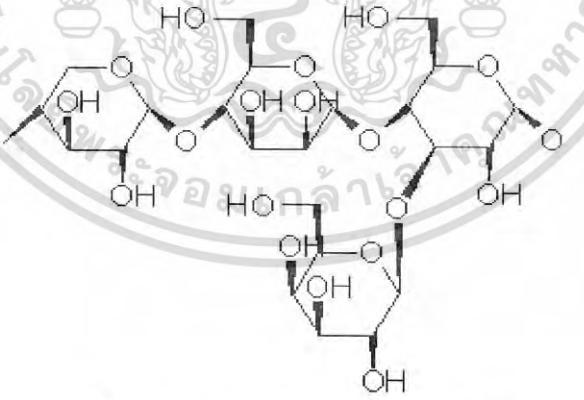


รูปที่ 2.7 แสดงโครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา : http://ir.swu.ac.th/xmlui/bitstream/handle/123456789/2631/Dusadi_S_R378199.pdf?sequence=1 วันที่สืบค้น 2 มีนาคม 2559

2.3.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลส เป็นส่วนประกอบที่พบในลิกโนเซลลูโลสร้อยละ 20 - 40 ในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส เป็นเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ (Heteropolysaccharide) ประกอบด้วยน้ำตาลสายสั้นๆ ที่มีการแตกกิ่ง ซึ่งแต่ละกิ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลโดยเฉลี่ย 200 หน่วย น้ำตาลที่พบเป็นน้ำตาลเพนโตส คือ ไซโลส และอะราบิโนส ส่วนน้ำตาลเฮกโซส คือ กลูโคส กาแล็กโตส และแมนโนส มีส่วนประกอบของกรดกลูคูโรนิก (Glucuronic acid), เมทิลกลูคูโรนิก (Methyl glucuronic) และกรดกาแล็กทูโรนิก (Galacturonic acid) เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสมีน้ำตาลไซโลสเป็นโครงสร้างหลัก จึงเรียกได้ว่าเป็นไซแลน (Xylan) เฮมิเซลลูโลสมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน (Amorphous) และเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของพืชที่อยู่รวมกับเซลลูโลส พบมากในผักและผลไม้



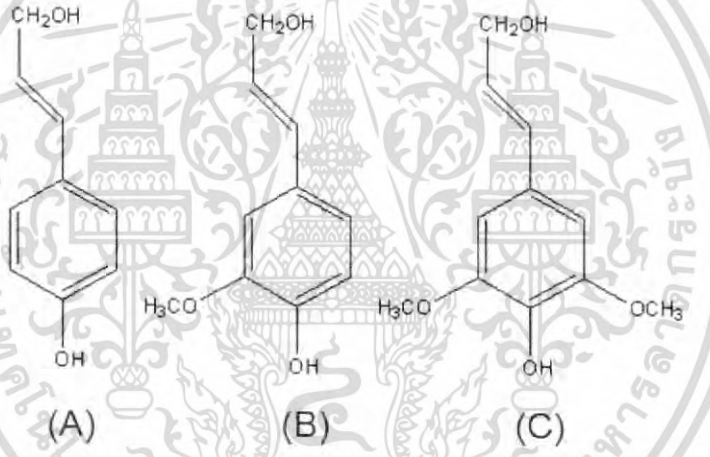
รูปที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Hemicellulose วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินเป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 10-25 ในชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของฟีโนลิก (Phenolic compound) ซึ่งประกอบไปด้วยฟีนิลโพรเพน เชื่อมด้วยพันธะคาร์บอน-คาร์บอน และคาร์บอน-ออกซิเจน-คาร์บอน มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน หน่วยของโครงสร้างของลิกนินเป็นซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) ซึ่งแตกต่างจากวงแหวนอะโรมาติกอื่นๆ ด้วยเหตุนี้ *p*-hydroxyphenyl จึงเป็นอนุพันธ์ของ *p*-coumaryl alcohol, quaiacyl จึงเป็นอนุพันธ์ของ coniferyl alcohol และ syringyl จึงเป็นอนุพันธ์ของ sinapyl alcohol ลิกนินมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ และมีความเฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ จึงทำให้โครงสร้างมีความเสถียร สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเคมี เช่น สังเคราะห์เป็นเรซิน น้ำหอม สี และผลิตภัณฑ์ทางยา (David, 2010) อีกทั้งลิกนินยังเป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์พืชทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรง โดยมีการทำงานร่วมกับเฮมิเซลลูโลสซึ่งจะช่วยปกคลุมเซลลูโลส ทำให้เซลลูโลสถูกย่อยสลายได้ยาก



รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้างซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของลิกนิน

(A) *p*-coumaryl alcohol (*p*-hydroxyphenyl)

(B) coniferyl alcohol (guaiacyl)

(C) sinapyl alcohol (syringyl)

ที่มา : https://www.researchgate.net/figure/280302107_fig1_Fig-1-Majorphenylpropanoid-units-of-lignin-A-p-coumaryl-alcohol-p-hydroxyphenyl วันที่สืบค้น 2 มีนาคม 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 การพรีทรีทเมนต์วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส (Cardona และคณะ, 2010)

วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic material) มีส่วนประกอบหลัก ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

โดยการพรีทรีทเมนต์วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสมีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1) เพื่อสลายโครงสร้างระหว่างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส
2) ลดโครงสร้างที่เป็นผลึกของเซลลูโลส
3) ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส
4) ทำลายลิกนินบางส่วน
5) เพิ่มรูพรุนของชีวมวล

นอกจากนี้การพรีทรีทเมนต์ยังมีส่วนช่วยให้ได้น้ำตาลเฮกโซสและเพนโตส จากการย่อยเฮมิเซลลูโลส หรือได้น้ำตาลกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ โดยขั้นตอนการพรีทรีทเมนต์นี้ควรหลีกเลี่ยงการทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นตัวยับยั้งกระบวนการหมักเอทานอล จากการศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการพรีทรีทเมนต์พบว่า ชีวมวลที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์จะได้ผลได้กลูโคสทางทฤษฎีจากการย่อยเซลลูโลสน้อยกว่าร้อยละ 20 ส่วนชีวมวลที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์จะได้ผลได้กลูโคสทางทฤษฎีจากการย่อยเซลลูโลสมากกว่าร้อยละ 90 วิธีการพรีทรีทเมนต์ชีวมวลที่เป็นลิกโนเซลลูโลส มีด้วยกันหลายวิธี ตัวอย่างเช่น วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพ ซึ่งการเลือกใช้วิธีการพรีทรีทเมนต์ขึ้นอยู่กับความเหมาะสม รวมทั้งต้นทุนที่ใช้ในกระบวนการ เช่น การใช้ตัวเร่งในปฏิกิริยาต่างๆ และความเป็นไปได้ของการเกิดผลิตภัณฑ์ร่วมที่เกิดจากลิกนิน

2.3.4.1 การพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีทางกายภาพ

วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสสามารถทำให้มีขนาดเล็กลงโดยวิธีการ หั่น สับ บด เช่น การบดด้วยลูกบอล เพื่อเป็นการลดโครงสร้างที่เป็นผลึกของเซลลูโลส ช่วยลดปริมาณเอนไซม์ที่ใช้กับชีวมวล เนื่องจากวิธีนี้เป็นการเพิ่มพื้นผิวในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยพลังงานที่ใช้สำหรับกระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับขนาดสุดท้ายของวัตถุดิบที่ต้องการ เช่น การบดชานอ้อยแบบแห้งและแบบเปียก ซึ่งส่งผลต่อกระบวนการย่อยชีวมวลไปเป็นน้ำตาลกลูโคส โดยกระบวนการบดแบบแห้งจะทำให้มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนชีวมวลไปเป็นกลูโคสร้อยละ 49.2 ส่วนกระบวนการบดแบบเปียกจะทำให้มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนชีวมวลไปเป็นกลูโคสร้อยละ 25 ส่วนขนาดของวัตถุดิบยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนชีวมวลไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ในกรณีของหญ้าทิโมธีที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีการบดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะให้ผลได้ของน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 56.4 และหญ้าอัลฟาฟ่าให้ผลได้ของกลูโคสร้อยละ 62.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ส่วนหญ้าทิโมธีที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีการบดจะให้ผลได้ของกลูโคสร้อยละ 51.4 และหญ้าอัลฟาฟ่าจะให้ผลได้ของกลูโคสร้อยละ 38 นอกจากนี้ยังใช้วิธีการให้ความร้อนแบบไพโรไลซิส (Pyrolysis) เป็นการย่อยสลายเซลลูโลสอย่างรวดเร็วโดยใช้อุณหภูมิสูง วิธีการนี้จะมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อมีออกซิเจน และเติมซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$) หรือแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เป็นตัวเร่ง

2.3.4.2 การพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์

การพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีทางกายภาพเพียงอย่างเดียว เช่น กระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำร่วมกับกรดเจือจางภายใต้อุณหภูมิและความดันสูง การพรีทรีทเมนต์วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสโดยใช้ไอน้ำอิ่มตัวที่ความดันสูงทำให้เกิดกระบวนการออโตไฮโดรไลซิส (Auto-hydrolysis) โดยกรดเจือจางจะเป็นตัวช่วยที่ทำให้ส่วนของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินเปลี่ยนไปเป็นโอลิโกเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ ประสิทธิภาพของการพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับเวลา อุณหภูมิ ขนาดของวัตถุดิบ และความชื้น การเลือกใช้กระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ จะพิจารณาจากขนาดของวัตถุดิบ ซึ่งการลดขนาดของวัตถุดิบด้วยวิธีทางกายภาพจะใช้พลังงานมากกว่ากระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำถึงร้อยละ 70 อย่างไรก็ตามกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำอาจก่อให้เกิดตัวยับยั้งที่ส่งผลต่อกระบวนการทางชีวภาพ (การย่อยด้วยเอนไซม์, กระบวนการหมัก) กระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำเป็นอีกหนึ่งวิธีการที่มีประสิทธิภาพมากสำหรับไม้เนื้อแข็ง และอุตสาหกรรมเกษตร แต่มีประสิทธิภาพน้อยสำหรับไม้เนื้ออ่อน ตัวอย่างเช่น กระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ถึงร้อยละ 90 เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ ที่มีประสิทธิภาพการย่อยเพียงร้อยละ 15 ในกรณีของชานอ้อยได้มีการศึกษาสภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงที่สุด โดยศึกษาที่ช่วงอุณหภูมิ 188-243 องศาเซลเซียส และใช้ช่วงระยะเวลา 0.5-44 นาที ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลส อีกหนึ่งวิธีที่มีประสิทธิภาพในการพรีทรีทเมนต์ คือการพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธี Liquid hot water วิธีนี้ทำให้ไม่สูญเสียน้ำตาลเพนโตส และไม่เกิดตัวยับยั้ง แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าใช้วิธีนี้กับตัวอย่างที่เป็นของแข็งจะให้ประสิทธิภาพประมาณร้อยละ 50 ของกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ นอกจากนี้ยังมีวิธี Ammonia fiber explosion ซึ่งมีความคล้ายกับกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ การพรีทรีทเมนต์ด้วยแอมโมเนียมจะไม่ทำให้เกิดตัวยับยั้งที่ส่งผลต่อกระบวนการทางชีวภาพ และวิธี CO_2 - explosion เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ไม่ทำให้เกิดตัวยับยั้งและมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสได้มากถึงร้อยละ 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
149276

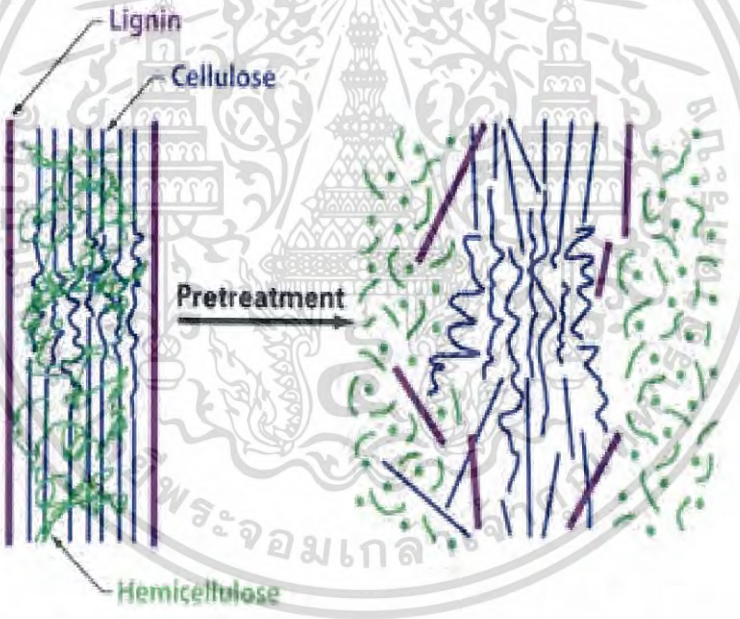
2.3.4.3 การพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีทางเคมี

วิธีการพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีทางเคมีเป็นวิธีการใช้สารเคมี เช่น โอโซน (O_3) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ตัวทำละลายอินทรีย์ สารละลายกรด เช่น กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) กรดไฮโดรคลอริก (HCl) สารละลายด่าง เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) แอมโมเนีย (NH_3) เป็นต้น การย่อยด้วยโอโซน (Ozonolysis) สามารถย่อยลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในลิกโนเซลลูโลสได้ ในกรณีของขี้เลื่อยที่ทำการพรีทรีทเมนต์ด้วยโอโซน จะเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 57 อย่างไรก็ตามวิธีนี้จะต้องใช้โอโซนจำนวนมาก ส่งผลให้กระบวนการนี้มีต้นทุนสูง ขณะที่การใช้กรดอนินทรีย์ มักนิยมใช้กรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริกในการพรีทรีทเมนต์ ซึ่งกรดมีความเป็นพิษ และมีฤทธิ์กัดกร่อน โดยเฉพาะกรดซัลฟูริก ที่มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาสูง ดังนั้นจึงนิยมใช้กรดที่มีความเจือจาง อย่างไรก็ตามการพรีทรีทเมนต์ด้วยกรดอนินทรีย์ มักก่อให้เกิดตัวยับยั้งที่ส่งผลต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ การพรีทรีทเมนต์ด้วยด่างเป็นการใช้ด่างเจือจาง มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของลิกโนเซลลูโลส โดยทำให้เกิดการบวมออก ช่วยลดความเป็นพอลิเมอร์และความเป็นโครงผลึก ทำลายพันธะระหว่างลิกนินกับโพลิเมอร์อื่น รวมถึงทำลายลิกนินได้ ประสิทธิภาพของวิธีการนี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของลิกนินในชีวมวล ส่วนกรณีของซังข้าวโพด ซึ่งใช้แอมโมเนียมความเข้มข้นร้อยละ 2.5-20 ที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีประสิทธิภาพการทำลายลิกนินร้อยละ 60-80 เช่นเดียวกับชานอ้อยและฟางข้าว มีการศึกษาการใช้ด่างร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งการย่อยสลายลิกนินสามารถทำได้โดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ผ่านกระบวนการที่เรียกว่า ออกซิเดทีฟดีลิกนิฟิเคชัน (Oxidative delignification) และยังมีการศึกษาการย่อยสลายลิกนินด้วยวิธี wet oxidation ด้วยการเติมออกซิเจนและน้ำที่อุณหภูมิสูงร่วมกับความดัน เพื่อเปิดโครงสร้างของเซลลูโลสและทำลายลิกนิน ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิกนินทำได้โดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$) และด่างที่ใช้โดยทั่วไปคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือตัวทำละลายที่มีลักษณะคล้ายเอทานอลหรือเมทานอล ซึ่งสามารถย่อยสลายลิกนินได้ แต่วิธีการนี้มีต้นทุนที่สูง จึงไม่คุ้มค่ากับการนำไปใช้ในอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4.4 การพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีทางชีวภาพ

การพรีทรีทเมนต์ด้วยวิธีทางชีวภาพ เป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานต่ำและใช้สภาวะไม่รุนแรง อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้จะเกิดช้ามาก ซึ่งวิธีนี้เป็นการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์กลุ่มฟังไจที่เจริญบนผิวหน้าของไม้ ฟังไจกลุ่ม brown-rot มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี ในขณะที่ฟังไจกลุ่ม white-rot และ soft-rot สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและลิกนินได้ สำหรับฟังไจกลุ่ม white-rot มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายลิกนินได้ดีที่สุด และสามารถนำมาผลิตเอนไซม์ลิกนินเนส (Ligninase) ได้ โดยเอนไซม์จะถูกปลดปล่อยขณะที่จุลินทรีย์กลุ่มฟังไจทำการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส โดยเฉพาะเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* และ *Phlebia radiate* ซึ่งมีความสำคัญในการสังเคราะห์เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส นอกจากนี้กระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลสอาจอาศัยเอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์กลุ่มฟังไจ โดยการเพาะเลี้ยงแบบการหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) หรือแบบการหมักบนอาหารเหลว (Submerged fermentation)



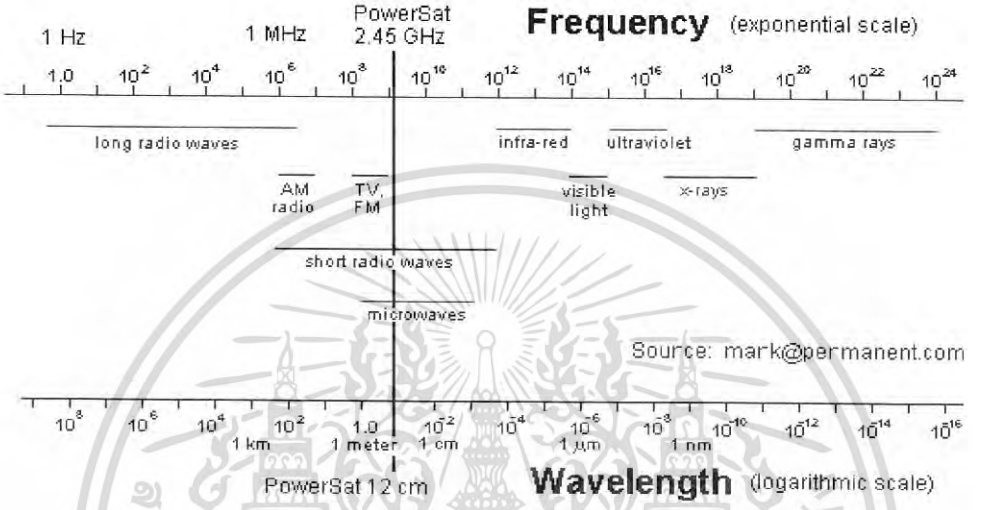
รูปที่ 2.10 แสดงของกระบวนการพรีทรีทเมนต์ชีวมวลลิกโนเซลลูโลส

ที่มา : http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2013/gc/c2gc36364j วันที่สืบค้น 26 กุมภาพันธ์ 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 คลื่นไมโครเวฟ

คลื่นไมโครเวฟ (Microwave) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดหนึ่ง ที่มีความถี่อยู่ระหว่าง 0.3 – 300 จิกะเฮิรตซ์ (GHz) ซึ่งการนำมาใช้งานส่วนมาก นิยมใช้ความถี่ระหว่าง 1- 60 จิกะเฮิรตซ์ เพราะเป็นย่านความถี่ที่สามารถผลิตขึ้นได้ด้วยอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2558 : ออนไลน์)



รูปที่ 2.11 แสดงช่วงความยาวคลื่นของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดต่างๆ

ที่มา : http://www.permanent.com/solar-powersat-satellite-beam-environment-beam.html วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2559

2.4.1 การเกิดความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ

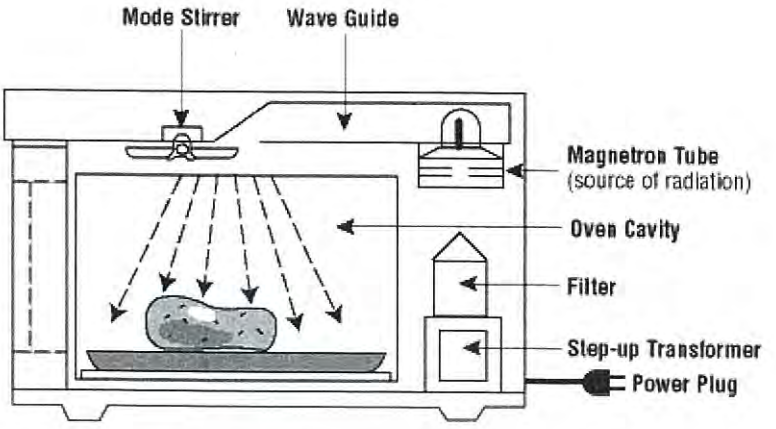
พื้นฐานของระบบการทำความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ ประกอบด้วยการทำงานของอุปกรณ์ 3 ส่วน ได้แก่

ส่วนที่ 1 แหล่งกำเนิดของคลื่นไมโครเวฟ (Microwave power generator unit) ประกอบด้วย แหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง หลอดแมกนิตรอน (Magnetron) ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นไมโครเวฟ และไอโซเลเตอร์ (Isolator) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่นไมโครเวฟ

ส่วนที่ 2 คาวิตี้ (Cavity) หรือแอพพลิเคเตอร์ (Applicator) โดยคลื่นไมโครเวฟจะถูกส่งมายังส่วนคาวิตี้ จากนั้นจึงผ่านท่อนำคลื่น ซึ่งเป็นส่วนที่มีวัตถุที่ต้องการเหนี่ยวนำความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟอยู่ โดยแอพพลิเคเตอร์จะเป็นตัวบ่งบอกรูปแบบคลื่นไมโครเวฟที่กระทำต่อวัตถุว่าเป็นลักษณะคลื่นโหมดเดี่ยว (Single mode) หรือคลื่นหลายโหมด (Multimode)

ส่วนที่ 3 วงจรควบคุมการทำงานของระบบไมโครเวฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



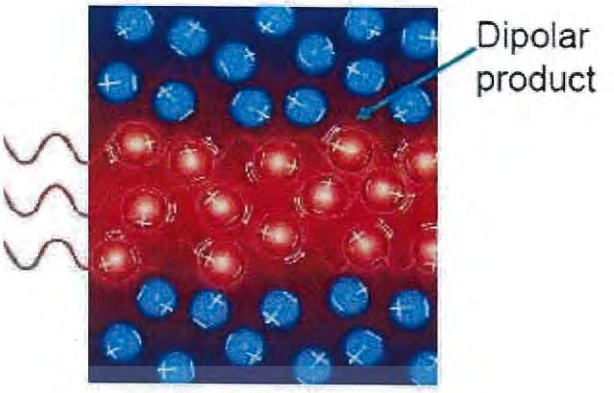
รูปที่ 2.12 แสดงส่วนประกอบภายในเตาไมโครเวฟ

ที่มา : http://ffden2.phys.uaf.edu/104_spring2004.web.dir/arts_mcnulty/howmicrowave ovenswork.htm วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2559

2.4.2 กลไกลการทำงานของคลื่นไมโครเวฟ

กลไกลการทำงานของคลื่นไมโครเวฟเป็นการให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริก ซึ่งทำงานโดยอาศัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เมื่อความถี่ย่านคลื่นไมโครเวฟกำลังสูงวิ่งผ่านเข้าไปในเนื้อวัตถุ รังสีไมโครเวฟจะเกิดความร้อน เนื่องจากการกระตุ้นของคลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดการหมุนของน้ำในระดับโครงสร้างโมเลกุลและเกิดการเสียดสีกันระหว่างโมเลกุล เกิดเป็นพลังงานความร้อน อุปกรณ์ที่เหนี่ยวนำให้เกิดคลื่นไมโครเวฟ เรียกว่า หลอดแมกนิตรอน ซึ่งมีหลักการทำงานเช่นเดียวกับหลอดไฟทั่วไป คลื่นไมโครเวฟจึงมีลักษณะเป็นระนาบเส้นตรง และอาศัยการกระทบที่ผนังเตาไมโครเวฟ ซึ่งทำจากโลหะและสะท้อนไปยังตำแหน่งอื่นๆ อย่างไรก็ตาม คลื่นไมโครเวฟจะมีความเข้มของคลื่นในตำแหน่งระนาบหนึ่งๆเท่านั้น จึงมีการออกแบบระบบจานหมุนเข้าไปในตู้ไมโครเวฟ เพื่อให้วัตถุได้รับการกระตุ้นจนเกิดเป็นความร้อนจากไมโครเวฟได้อย่างทั่วถึง ปัจจุบันมีเทคโนโลยีการออกแบบผนังตู้ไมโครเวฟเป็นสารผสมเซรามิก ที่มีความสามารถในการสะท้อนคลื่นไมโครเวฟได้ดี ทำให้มีความเข้มของระดับคลื่นไมโครเวฟเท่ากันทั่วทุกตำแหน่งในตู้ไมโครเวฟ และเรียกเทคโนโลยีดังกล่าวว่า “ระบบกวนคลื่น” (ฤทธิชัย, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 แสดงการเกิดความร้อนในเนื้อวัตถุจากการให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริก

ที่มา : http://www2.dede.go.th/bhrd/old/web_display/websemple/Industrial (PDF)/Bay%2015%20Radio%20Frequency%20Dielectric%20Heating.pdf วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2559

2.4.3 ประโยชน์ของคลื่นไมโครเวฟ

1) คลื่นความถี่สูงจะส่งผ่านพลังงานไปยังวัตถุโดยตรง ทำให้ประหยัดเวลาถึงร้อยละ 15 - 85
2) มีความสามารถในการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากไม่เสียเวลาในการส่งผ่านความร้อนไปยังผลิตภัณฑ์จากด้านนอกเข้าสู่ด้านใน
3) ใช้พื้นที่ในการผลิตน้อย
4) สามารถควบคุมความชื้นได้สม่ำเสมอ ความร้อนที่ผ่านไปยังวัตถุจะอยู่ในระดับเดียวกัน
5) มีการควบคุมที่แม่นยำ

2.5 ยีสต์ (Yeast)

ไฟลัม	:	Ascomycota
ชั้น	:	Saccharomycetes
อันดับ	:	Saccharomycetales
วงศ์	:	Saccharomycetaceae
สกุล	:	*Saccharomyces*
สปีชี่ส์	:	*S. cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.14 แสดงลักษณะของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้ Scanning electron microscope (*SEM*) ที่กำลังขยาย 6000 เท่า

ที่มา : http://www.corbisimages.com/stock-photo/rights-managed/42-29390408/yeast-saccharomyces-cerevisiae-budding-and-with-bud วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2559

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นสูงหรือที่เรียกว่า ยูคาริโอติกเซลล์ (Eukaryotic cell) ที่มีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์เดี่ยว ส่วนใหญ่เพิ่มจำนวนโดยไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (Budding) บางชนิดมีการเพิ่มจำนวนแบบฟิสชัน (fission) หรือการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ (Ascospore) (สาวิตรี, 2549)

ยีสต์มีความสำคัญทางด้านอาหารทั้งในแง่ประโยชน์ และทำให้เกิดความเสียหายแก่อาหาร ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณ มีผู้กล่าวว่ายีสต์นั้นเป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาใช้ เช่น การทำอาหารหมักบางชนิด ได้แก่ ข้าวหมาก ปลาแจ่ว เครื่องดองของเมาหลายชนิดเช่น อุ สาโท และกระแช่ เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ เบียร์ ไวน์ และวิสกี้ การผลิตเอทิลแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นสารเคมีและเชื้อเพลิง เป็นต้น (เดือนรุ่งและคณะ, 2549)

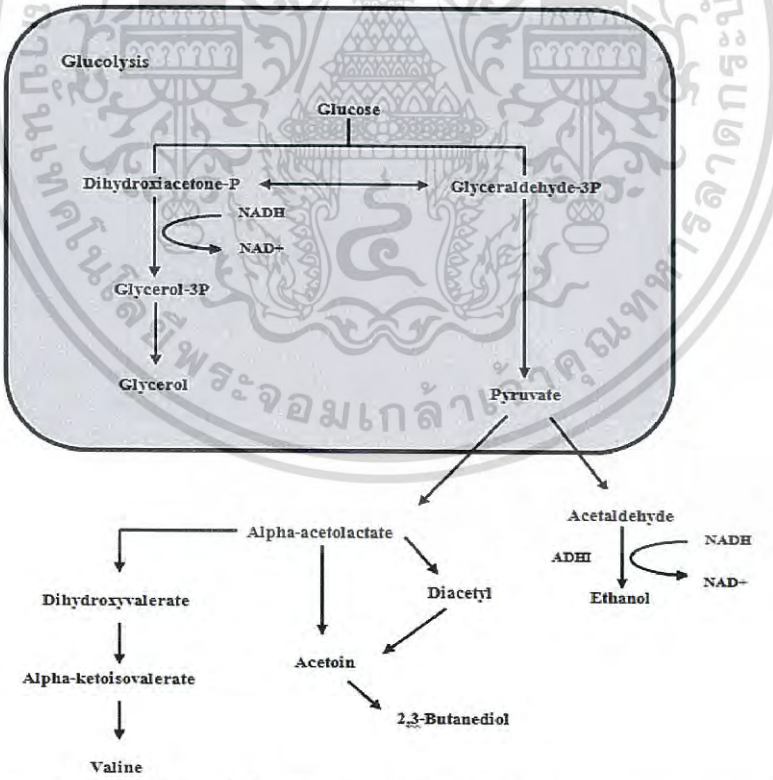
ผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมที่ใช้ยีสต์ในการผลิต สามารถแบ่งกว้างๆได้เป็น

1) เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ และวิสกี้
2) ผลิตภัณฑ์จากการหมัก เช่น เอทานอล และกลีเซอรอล
3) ผลิตภัณฑ์ในรูปของเซลล์ยีสต์ เช่น ยีสต์ขนมปัง ยีสต์อาหารคน และยีสต์อาหารสัตว์
4) ผลิตภัณฑ์ที่สกัดจากเซลล์ยีสต์ เช่น วิตามินบี วิตามินดี และเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 ยีสต์ที่ใช้สำหรับการผลิตเอทานอล

ยีสต์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ คือยีสต์กลุ่ม *Saccharomyces* spp. ซึ่งมีหลายสปีชีส์ แต่ละสปีชีส์จะมีความสามารถในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน เชื้อ *Saccharomyces* มีลักษณะเซลล์รูปกลม รูปรี ทรงกระบอกหรือยาว สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อรอบเซลล์ อาจสร้างซูโดไมซีเลียม (Pseudomycelium) แต่ไม่พบไมซิลเลียมจริง สร้างแอสโคสปอร์รูปกลมหรือรูปไข่ที่ส่วนใหญ่ผนังเรียบ มีบางชนิดที่ผนังสปอร์อาจมีปุ่ม โดยปกติมีจำนวน 1-4 สปอร์ ต่อหนึ่งแอสคัส (Ascus) เชื้อกลุ่ม *Saccharomyces* spp. ทุกชนิดสามารถหมักน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วและไม่มีความสามารถในการใช้ไนเตรต (เดือนรุ่ง และคณะ, 2549) ยีสต์ที่ใช้สำหรับการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมมีหลายสปีชีส์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae, S. uvarum (carlsbergensis), Schizosaccharomyces pombe* และ *Kluyveromyces fragilis* สำหรับ *S. cerevisiae* เป็นยีสต์ที่นิยมใช้ในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่น คือ มีการเจริญรวดเร็ว ให้ผลผลิตแอลกอฮอล์ในปริมาณสูง (พรเทพ, 2554) ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ ได้ดีกว่า *S. uvarum* และยีสต์ชนิดอื่นๆ ดังนั้นการผลิตเอทานอลส่วนใหญ่จึงนิยมใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีการพัฒนาการผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Zymomonas mobillis* และ *Clostridium thermocellum* อีกด้วย (สาวิตรี, 2549)



รูปที่ 2.15 แสดงวิถีเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอทานอลและเมแทบอลิซึมอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์ในระหว่างกระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae*

ที่มา : Cardona และคณะ, 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ *S. cerevisiae* จะนำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์ จากนั้นกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางต่างๆ ในวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pathway) หรือผ่านวิถี Embden Meyerhof-Parnas (EMP) โดยไม่มีการใช้อากาศในปฏิกิริยา จุลินทรีย์ประเภทนี้ยังสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเฮกโซสไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ได้ด้วยการหายใจแบบใช้ออกซิเจน ซึ่งการที่ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดใดนั้น ขึ้นอยู่กับระดับของออกซิเจน โดยกรณีของการเพาะเลี้ยงยีสต์ให้เจริญในสภาวะที่มีอากาศ มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์และนำไปสู่การผลิตเบเกอร์ยีสต์ ขณะที่การเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ มีวัตถุประสงค์เพื่อชักนำให้ยีสต์ผลิตเอทานอล (Cardona และคณะ, 2010) โดยน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล จะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไพรูวิก 2 โมเลกุล จากนั้นกรดไพรูวิกที่เกิดขึ้น จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ pyruvate decarboxylase (PDC) และ alcohol dehydrogenase (ADH) ผ่านวิถีการสังเคราะห์เอทานอล ดังแสดงในรูปที่ 2.15 ซึ่งในทางทฤษฎีน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล สามารถเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้คิดเป็นร้อยละ 51 (กรัมเอทานอลต่อกลูโคสที่ใช้) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์คิดเป็นร้อยละ 49 (กรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อกรัมของกลูโคสที่ใช้) (พรเทพ, 2554)

2.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักเอทานอล (Panchal, 1990)

ปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งปฏิกิริยาการผลิตเอทานอล ส่งผลให้ผลิตเอทานอลได้น้อยลง มีปัจจัยหลักๆได้แก่

1) การยับยั้งการผลิตเอทานอลโดยผลิตภัณฑ์สุดท้าย นั่นคือเอทานอลทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยา
2) การยับยั้งการผลิตเอทานอลโดยการผลิตผลพลอยได้ (by-product) เช่น กรดอินทรีย์
3) การยับยั้งโดยแรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) เนื่องจากมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง
4) การยับยั้งเนื่องจากผลของอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น
5) การยับยั้งกระบวนการหมักแต่ไปส่งเสริมการเจริญของยีสต์ เนื่องจากการให้อากาศ (Aeration) หรือการกวน (Agitation)
6) การยับยั้งกระบวนการหมัก เนื่องจากการปนเปื้อนจากแบคทีเรียหรือยีสต์ชนิดอื่น (โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหมักในระดับอุตสาหกรรม)
7) การยับยั้งกระบวนการหมัก เนื่องจากสายพันธุ์ยีสต์ที่เลือกใช้ไม่คงตัว มีการกลายพันธุ์หรือมีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Yadav และคณะ (2011) ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากไฮโดรไลเซทที่ได้จากฟางข้าว โดยใช้เชื้อหมักร่วมกันระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* OVB 11 และ *Pichia stipitis* NCIM 3498 เนื่องจากฟางข้าวเป็นหนึ่งในวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลเฮกโซสและเพนโตส ฟางข้าวจะถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกสองเฟส และวิเคราะห์น้ำตาลชนิดต่างๆ ฟูราน (Furans) รวมทั้งสารกลุ่มฟีนอลลิกที่เกิดขึ้น ซึ่งความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่ได้จากการย่อยด้วยกรดซัลฟูริก คือ 16.8 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตเอทานอล จึงมีการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลในไฮโดรไลเซทให้สูงขึ้นเป็น 31 กรัมต่อลิตร ด้วยวิธีการกลั่นแบบสุญญากาศ จากนั้นตรวจสอบปริมาณน้ำตาล ฟูรานและสารกลุ่มฟีนอลลิก และทำการกำจัดสารพิษด้วยปูนขาว ซึ่งจากกระบวนการหมักเอทานอลพบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้ คือ 12 กรัมต่อลิตร และค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ ค่าประสิทธิภาพการผลิตผลิตภัณฑ์ ตลอดจนค่าประสิทธิภาพของกระบวนการหมัก คือ 0.4 กรัมต่อกรัม, 0.33 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และร้อยละ 95 ตามลำดับ

Binod และคณะ (2011) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส โดยประสิทธิภาพของการพรีทรีทเมนต์เป็นสิ่งที่จำเป็น เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ และเป็นการลดต้นทุนของกระบวนการผลิตทั้งหมด ซึ่งการพรีทรีทเมนต์แบบดั้งเดิมโดยการใช้กรดหรือด่างร่วมกับการใช้อุณหภูมิและความดันสูง มีข้อจำกัดในเรื่องของปริมาณพลังงานที่ใช้ จึงจำเป็นต้องหาเทคนิคเกี่ยวกับการให้ความร้อนที่ไม่เพียงแต่ช่วยลดปริมาณพลังงานที่ใช้ แต่ยังเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการทั้งหมดอีกด้วย การพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟอาจเป็นทางเลือกที่ดี ที่สามารถลดระยะเวลาในการพรีทรีทเมนต์และสามารถทำให้เกิดอุณหภูมิที่สูงกว่า จากการศึกษาได้ทำการเปรียบเทียบการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟ 3 วิธี คือ การใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับกรด, การใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่าง และการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่างแล้วตามด้วยกรด โดยใช้ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส คือชานอ้อย และทำการศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์และการกำจัดลิกนิน โดยทำการพรีทรีทเมนต์ชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 0.665 กรัมต่อกรัม ในขณะที่การพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่างแล้วตามด้วยกรด โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ตามด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเป็น 0.83 กรัมต่อกรัม ซึ่งการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่างที่กำลังไฟ 450 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาที สามารถกำจัดลิกนินในชานอ้อยได้ถึงร้อยละ 90 ส่วนประสิทธิภาพของการพรีทรีทเมนต์ ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วย XRD, SEM และ FTIR พบว่าการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่างแล้วตามด้วยกรด ใช้ระยะเวลาสั้นกว่าในการเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chen และคณะ (2011) ศึกษาการทำลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลส โดยการพรีทรีทเมนต์ชานอ้อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟ ซึ่งการทำลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสมีบทบาทสำคัญในการผลิตไบโอเอทานอล การศึกษานี้ได้ทดลองทำการพรีทรีทเมนต์ชานอ้อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟ โดยพิจารณาอุณหภูมิของคลื่นไมโครเวฟทั้งหมด 3 ระดับได้แก่ 130, 160 และ 190 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 และ 10 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของอนุภาคชานอ้อย เหตุผลที่ใช้คลื่นไมโครเวฟเข้าร่วมในการพรีทรีทเมนต์เนื่องจากเป็นการให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริก ซึ่งจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มอุณหภูมิสำหรับปฏิกิริยาให้สูงขึ้น จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสในชานอ้อยได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ จะถูกนำไปวิเคราะห์ทางด้านกายภาพเพื่อศึกษาถึงลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่ออุณหภูมิของปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นถึง 190 องศาเซลเซียส อนุภาคชานอ้อยจะแตกออกเป็นชิ้นส่วนจำนวนมาก หมายความว่าพื้นที่ผิวสัมผัสของชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะเดียวกันเฮมิเซลลูโลสเกือบทั้งหมดจะถูกทำลาย รวมทั้งทำให้โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสหายไป ในทางตรงกันข้ามปริมาณลิกนินยังคงมีเหลืออยู่จำนวนมาก แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการให้ความร้อนระหว่าง 5 และ 10 นาที พบว่าทั้งสองเวลามีผลต่อโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลา 5 นาที เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนสำหรับการพรีทรีทเมนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

- *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
- *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 เป็นยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าในประเทศไทย (วิมลักษณ์, 2549)

3.2 สารเคมี

3.2.1 Sulfuric acid (H_2SO_4)

3.2.2 Sodium hydroxide (NaOH)

3.2.3 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)

3.2.4 Potassium sodium tartrate (K-Na tartrate)

3.2.5 Yeast extract

3.2.6 Peptone

3.2.7 Glucose

3.2.8 Agar

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 เตาไมโครเวฟ (Microwave) ยี่ห้อ SHARP รุ่น R-242

3.3.2 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ยี่ห้อ Innova™ รุ่น 4330

3.3.3 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Centrifuge) ยี่ห้อ HERMLE รุ่น Z 383K

3.3.4 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo รุ่น G10S

3.3.5 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) ยี่ห้อ Clean รุ่น PH500

3.3.6 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น TE 214S

3.3.7 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ยี่ห้อ TOMY รุ่น ES315

3.3.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Clean Bench) ยี่ห้อ Telstar รุ่น BIO-II-Advance4

3.3.9 ตู้อบแห้ง (Hot Air Oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น UN110

3.3.10 ตู้เย็นรุ่น ITALY PT 230

3.3.11 เครื่องแก้ว (ฟลาสก์ หลอดทดลอง กรวย บีกเกอร์ ฯลฯ)

3.3.12 อุปกรณ์วัดปริมาตร (ปิเปต ไมโครปิเปต กระบอกตวง ฯลฯ)

3.3.13 ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.3.14 เตาไฟฟ้า (Hot plate) และ แท่งแม่เหล็กสำหรับกวนสาร

3.3.15 โถดูดความชื้น (Desicator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ขั้นตอนการดำเนินการ

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

รับตัวอย่างชานอ้อยจากผู้ผลิตและจัดจำหน่ายน้ำอ้อยย่านถนนร่มเกล้า แขวงคลองสองต้นนุ่น เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร จากนั้นนำมาฉีกให้มีขนาดเล็กลง หั่นให้มีขนาดเล็กประมาณ 1-2 เซนติเมตร นำมาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น บรรจุในถุงพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้งาน

3.4.2 การพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยเป็นน้ำตาลโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.4.2.1 ศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อย

3.4.2.1.1 ศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับน้ำกลั่น

นำผงชานอ้อย 10 กรัม ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนผงชานอ้อยต่อน้ำกลั่นเป็น 1:10) ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อทำการพรีทรีทเมนต์และย่อยที่ 80, 240 และ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรองไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาทำการเจือจางให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส (Miller, 1959) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (ดัดแปลงจาก Parameswaran และคณะ, 2011)

3.4.2.1.2 ศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกเจือจาง

นำผงชานอ้อย 10 กรัม ผสมสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนผงชานอ้อยต่อกรดซัลฟูริกเป็น 1:10) ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อทำการพรีทรีทเมนต์และย่อยที่ 80, 240 และ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรองไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาทำการเจือจางให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.1.3 ศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง

นำผงชานอ้อย 10 กรัม ผสมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนชานอ้อยต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 1:10) ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อทำการพรีทรีทเมนต์และย่อยที่ 80, 240 และ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรองไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาทำการเจือจางให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

จากการศึกษาในหัวข้อ 3.4.2.1.1 – 3.4.2.1.3 เลือกกำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟและสารเคมีที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกเจือจางที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ

นำผงชานอ้อย 10 กรัม ผสมสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนชานอ้อยต่อกรดซัลฟูริกเป็น 1:10) ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อทำการพรีทรีทเมนต์และย่อยที่กำลัง 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรองไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาทำการเจือจางให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และเก็บตัวอย่างส่งวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส ไซโลส เฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4.3 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017

3.4.3.1 การเตรียมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 ด้วยอาหาร Yeast-Extract-Peptone-Dextrose (YEPD)

ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 จำนวน 1-2 ลูป จากอาหารวุ้นเอียง YEPD (ประกอบด้วยยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.0) ลงในอาหารเหลว YEPD ที่บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงในสภาวะมีอากาศบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้เท่ากับ 0.5 จะได้หัวเชื้อสำหรับนำไปใช้ในกระบวนการหมัก (Yadav และคณะ, 2011)

3.4.3.2 กระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017

3.4.3.2.1 กระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

นำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริก มาปรับพีเอชให้ได้ 5.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ จากนั้นนำไฮโดรไลเซทที่เตรียมได้ปริมาตร 135 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (Yadav และคณะ, 2011) ทิ้งให้อาหารเย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เตรียมได้จากหัวข้อ 3.4.3.1 ลงไปร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น น้ำหนักเซลล์แห้ง และค่าพีเอชของน้ำหมัก ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.4.3.2.2 กระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017

ดำเนินกระบวนการหมักเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 3.4.3.2.1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง และวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับขั้นตอนข้างต้น โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.4.4 การวิเคราะห์

3.4.4.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (อัจฉราภรณ์, 2558)

นำตัวอย่างน้ำหมักมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล และค่าพีเอช จากนั้นนำส่วนตะกอนเซลล์ที่ได้ ไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาชั่งและคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งในหน่วยกรัมต่อลิตร โดยคำนวณดังนี้

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{น้ำหนักทั้งหมด} - \text{น้ำหนักหลอดอบแห้ง (กรัม)}) \times 1{,}000 \text{ (มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างน้ำหมัก (มิลลิลิตร)}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอส (Miller, 1959)

สร้างกราฟมาตรฐานโดยนำน้ำตาลกลูโคสไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งกลูโคสที่ผ่านการอบแห้งปริมาณ 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานกลูโคสดังกล่าวมาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0 100 200 400 600 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงในหลอดทดลองหลอดละ 1 มิลลิลิตร ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เติมสารละลายดีเอ็นเอส ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมเข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำให้เย็นทันที จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมเข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำหมัก ทำโดยนำตัวอย่างน้ำหมักมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอส เช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐาน แล้วนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง

3.4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆและปริมาณสารพิษ

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส และไซโลส รวมทั้งปริมาณสารพิษ คือ เฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล ในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกเจือจาง จะถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ซึ่งให้บริการโดยศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยที่แต่ละการทดลองจะดำเนินการทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.4.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Jekel, 2005)

นำส่วนใสที่ได้ มาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟี รุ่น Shimadzu 2014 คอลัมน์ที่ใช้ คือ DB-1 โดยใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา ซึ่งมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัด (Detector) ที่ใช้เป็นชนิด flame ionization detector (FID) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (Injector) อยู่ที่ 150 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 การศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017

ทำการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่าง ณ ช่วงเวลาต่างๆ นำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และน้ำหนักเซลล์แห้ง เพื่อคำนวณค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก โดยคำนวณหาค่าผลได้ของมวลเซลล์ต่อซับสเตรทในหน่วยกรัมต่อกรัม ($Y_{x/s}$) ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรทในหน่วยกรัมต่อกรัม ($Y_{p/s}$) รวมทั้งค่าประสิทธิภาพการผลิต (Productivity) ของมวลเซลล์และผลิตภัณฑ์ในหน่วยกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

3.4.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีจำนวนการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยวิธีของ Duncan โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS) ในการวิเคราะห์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟูริกที่มีต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อย

จากการศึกษาประสิทธิภาพการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยน้ำกลั่น ซึ่งใช้เป็นชุดการทดลองควบคุม สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 80 240 และ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 80 240 และ 400 วัตต์ร่วมกับน้ำกลั่น ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว 6.39 ± 0.01, 6.20 ± 0.10 และ 6.35 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ ไม่มีความสัมพันธ์กับกำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟที่เพิ่มขึ้น

ขณะที่การใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่างๆ ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 80 240 และ 400 วัตต์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 5.27 ± 0.10, 5.40 ± 0.00 และ 3.95 ± 0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งการเพิ่มกำลังไฟเป็น 400 วัตต์ มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Lin และคณะ (2015) ที่ใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายด่างในการพรีทรีทเมนต์ผักตบชวา พบว่าการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ลดลง อาจเป็นเพราะเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นในสภาวะที่เป็นด่าง น้ำตาลรีดิวซ์จะถูกสลายไปเป็นสารอนุพันธ์อื่นๆ ที่มีขนาดเล็กลง เช่น เฟอร์ฟูรัล และกรดอะซิติก (Lin และคณะ, 2015)

เมื่อพิจารณาผลของการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ต่างๆ พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 80 240 และ 400 วัตต์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 11.45 ± 0.40, 28.44 ± 0.88 และ 51.29 ± 3.26 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยที่กำลังไฟ 400 วัตต์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับกำลังไฟ 80 และ 240 วัตต์ แสดงให้เห็นว่ากำลังไฟของคลื่นไมโครเวฟที่สูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้เพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยคลื่นไมโครเวฟจะทำให้เกิดแรงสั่นสะเทือนที่มีผลในการทำลายพันธะไฮโดรเจน จึงช่วยลดความเป็นโครงผลึกของลิกโนเซลลูโลส ในขณะที่สารละลายกรดจะทำหน้าที่ในการย่อยสลายโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Marx และคณะ, 2014)

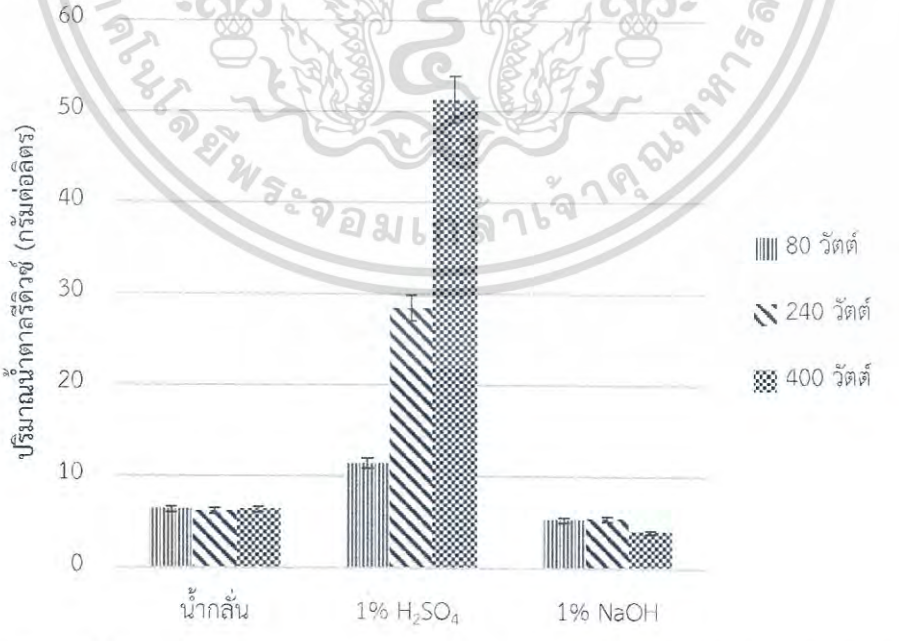
ดังนั้นในการศึกษาต่อไป จึงเลือกการพรีทรีทเมนต์และการย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริก โดยใช้กำลังไฟ 400 วัตต์เป็นเวลา 2 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับน้ำกลั่น สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟแตกต่างกัน เป็นเวลา 2 นาที

สารเคมี	กำลังไฟ (วัตต์)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
น้ำกลั่น	80	$6.39^{d} \pm 0.01$
	240	$6.20^{d} \pm 0.10$
	400	$6.35^{d} \pm 0.04$
โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1	80	$5.27^{de} \pm 0.10$
	240	$5.40^{de} \pm 0.00$
	400	$3.95^{e} \pm 0.02$
กรดซัลฟูริก ความเข้มข้นร้อยละ 1	80	$11.45^{c} \pm 0.40$
	240	$28.44^{b} \pm 0.88$
	400	$51.29^{a} \pm 3.26$

หมายเหตุ: เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกเจือจางที่มีผลต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ

จากการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 2 และ 3 โดยปริมาตร พบว่าให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 53.11 ± 1.88, 55.17 ± 4.92 และ 57.59 ± 2.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในการศึกษาต่อไป จึงเลือกใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร เพื่อลดค่าใช้จ่ายในเรื่องการใช้ปริมาณสารละลายกรดซัลฟูริก

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ โดยปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
1	$53.11^{a} \pm 1.88$
2	$55.17^{a} \pm 4.92$
3	$57.59^{a} \pm 2.16$

หมายเหตุ: เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3 ผลการศึกษาปริมาณสารพิษที่เกิดจากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

จากการศึกษาปริมาณสารพิษ ได้แก่ เฟอร์ฟูรัล และ ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล ที่เกิดขึ้นโดยใช้ HPLC ในการวิเคราะห์ พบว่าการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก ส่งผลให้ปริมาณสารพิษทั้งสองชนิดในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย ดังแสดงในตารางที่ 4.3

การใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 พบว่ามีปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลเกิดขึ้นน้อยที่สุด คือ $1.32 \times 10^{-2} \pm 4.00 \times 10^{-4}$ กรัมต่อลิตร และตรวจไม่พบเฟอร์ฟูรัล เมื่อพิจารณาร่วมกับผลการทดลองข้างต้น การใช้สารละลายกรดซัลฟูริกที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 จึงเลือกใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 1 ในการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ เพื่อใช้ในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สำหรับกระบวนการหมักเอทานอลจากชานอ้อย เนื่องจากให้ผลของน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณสูง และก่อให้เกิดสารพิษที่อาจมีผลกระทบต่อกระบวนการหมักน้อยที่สุด ถึงแม้ว่าไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จะมีสารพิษเกิดขึ้น แต่ปริมาณของสารพิษดังกล่าว มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับการทดลองของ Yang และคณะ (2011) ที่ศึกษาการหมักเอทานอลด้วยยีสต์โดยใช้ซับสเตรทเป็นไฮโดรไลเซทจากก้านข้าวโพดที่มีเฟอร์ฟูรัล 0.45 กรัมต่อลิตร โดยไม่ผ่านการกำจัดสารพิษ ขณะที่การทดลองของ Ramadoss และคณะ (2016) ที่ศึกษากระบวนการพรีทรีทเมนต์ชานอ้อยด้วย metal salt ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อผลิตไบโอเอทานอล พบว่าในขั้นตอนการย่อยให้เป็นน้ำตาล ซึ่งใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งนี้ ภายใต้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่ามีปริมาณเฟอร์ฟูรัลสูงถึง 2.48 ± 0.31 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารพิษที่เกิดขึ้นจากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ โดยปริมาตร)	ปริมาณสารพิษชนิดต่างๆ	
	เฟอร์ฟูรัล (กรัมต่อลิตร)	ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (กรัมต่อลิตร)
1	$0.00^{b} \pm 0.00$	$1.32\times10^{-2\ c} \pm 4.00\times10^{-4}$
2	$2.35\times10^{-5\ b} \pm 3.96\times10^{-6}$	$1.61\times10^{-2\ b} \pm 2.08\times10^{-4}$
3	$6.15\times10^{-4\ a} \pm 8.05\times10^{-5}$	$2.51\times10^{-2\ a} \pm 1.73\times10^{-4}$

หมายเหตุ: เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ภายหลังการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส และไซโลสในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เทียบกับไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวจากการใช้น้ำกลั่นในสภาวะเดียวกัน พบว่าน้ำตาลส่วนใหญ่ที่อยู่ในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวจากการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 คือน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และฟรุกโตส ซึ่งมีปริมาณสูงกว่ามากเมื่อเทียบกับไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวจากการใช้น้ำกลั่น แต่ตรวจไม่พบน้ำตาลไซโลส ขณะที่น้ำตาลส่วนใหญ่ในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวจากการใช้น้ำกลั่น คือ น้ำตาลซูโครส และพบน้ำตาลกลูโคสกับฟรุกโตสในปริมาณเล็กน้อย แต่ไม่พบน้ำตาลไซโลสเช่นเดียวกัน เมื่อพิจารณาถึงปริมาณน้ำตาลซูโครส พบว่าในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ไม่พบน้ำตาลซูโครส ดังแสดงในตารางที่ 4.4 อาจเนื่องจากน้ำตาลซูโครสเกิดการย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส ซึ่งการตรวจไม่พบน้ำตาลไซโลสและมีปริมาณกลูโคสเกิดขึ้นเล็กน้อย อาจเนื่องมาจากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกเจือจาง ใช้ระยะเวลา 2 นาที ซึ่งอาจไม่เพียงพอต่อการทำให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในชานอ้อยสลายตัวเป็นน้ำตาลกลูโคสและไซโลส

อย่างไรก็ตาม การตรวจไม่พบน้ำตาลไซโลสจากการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 มีความสอดคล้องกับผลการทดลองที่ 4.3 ที่ตรวจไม่พบเฟอร์ฟูรัลจากการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เนื่องจากไซโลสเป็นน้ำตาลเพนโตส และเฟอร์ฟูรัลเกิดจากปฏิกิริยาที่กรดดึงโมเลกุลของน้ำออกจากโมเลกุลของน้ำตาลเพนโตส (Ramadoss และคณะ, 2016)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ฟรุกโตส (กรัมต่อลิตร)	ไซโลส (กรัมต่อลิตร)
น้ำกลั่น	$22.03^{a} \pm 0.05$	$5.93^{b} \pm 0.07$	$5.59^{b} \pm 0.07$	$0.00^{a} \pm 0.00$
สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1	$0.00^{b} \pm 0.00$	$21.64^{a} \pm 0.06$	$20.01^{a} \pm 0.06$	$0.00^{a} \pm 0.00$

หมายเหตุ: เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

แม้ว่าน้ำตาลกลูโคสส่วนใหญ่ในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ จะไม่ได้มาจากการสลายตัวของเซลลูโลสในชานอ้อย แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นโดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส มีอยู่ในปริมาณสูง อีกทั้งยังถือเป็นการใช้ประโยชน์จากน้ำตาลที่หลงเหลืออยู่ในชานอ้อย ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรม ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนนี้ต่อไป เพื่อศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพในการหมักไบโอเอทานอล ระหว่างการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ซึ่งเป็นยีสต์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณสูง (วริศราและดวงใจ, 2558) และ *S. cerevisiae* YRK 017 ซึ่งเป็นยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า (วิมลลักษณ์, 2549)

4.5 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

4.5.1 การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะมีอากาศ เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และวิเคราะห์ตัวอย่างที่เวลาต่างๆ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล น้ำหนักเซลล์แห้ง และพีเอช มีการเปลี่ยนแปลงดังรูปที่ 4.2 โดยน้ำหมักเริ่มต้นที่ใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 46.73 ± 0.38 กรัมต่อลิตร ในระหว่างกระบวนการหมักพบว่า น้ำตาลรีดิวซ์มีการลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 12 ภายหลัง 24 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อนข้างคงที่ และในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก (48 ชั่วโมง) มีน้ำตาลรีดิวซ์ 1.25 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง เอทานอล และระดับพีเอชในน้ำหมักที่เวลาต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

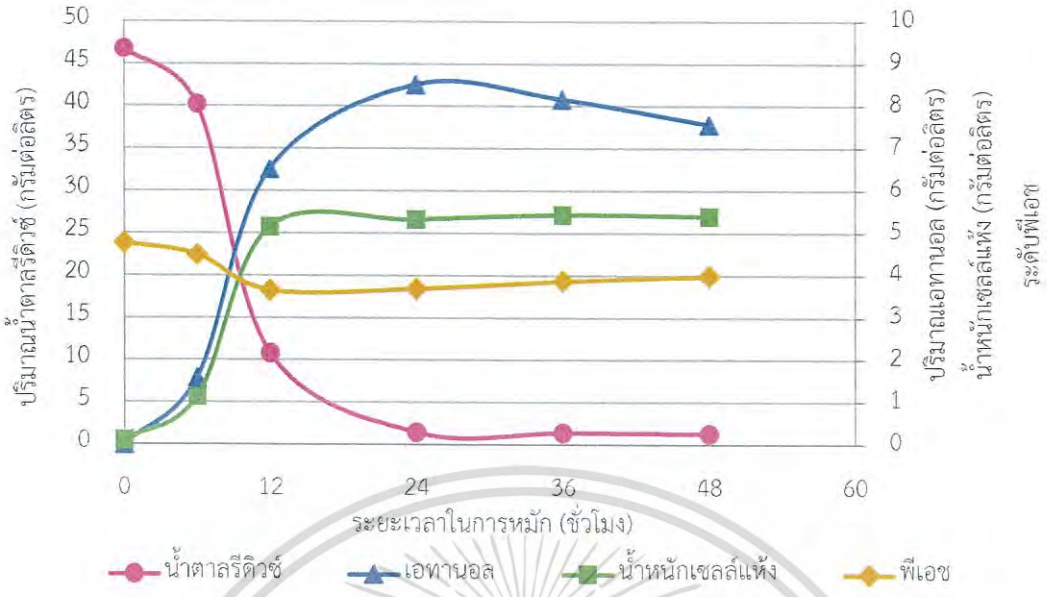
เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	$46.73^{a} \pm 0.38$	$0.10^{d} \pm 0.03$	$0.00^{f} \pm 0.00$	$4.77^{a} \pm 0.02$
6	$40.20^{b} \pm 0.18$	$1.13^{c} \pm 0.11$	$1.57^{e} \pm 0.06$	$4.49^{b} \pm 0.01$
12	$10.80^{c} \pm 0.19$	$5.15^{b} \pm 0.09$	$6.51^{d} \pm 0.06$	$3.65^{e} \pm 0.01$
24	$1.44^{d} \pm 0.05$	$5.31^{ab} \pm 0.09$	$8.51^{a} \pm 0.18$	$3.67^{e} \pm 0.01$
36	$1.36^{d} \pm 0.02$	$5.42^{a} \pm 0.10$	$8.15^{b} \pm 0.08$	$3.85^{d} \pm 0.01$
48	$1.25^{d} \pm 0.04$	$5.39^{a} \pm 0.12$	$7.57^{c} \pm 0.20$	$3.98^{c} \pm 0.01$

หมายเหตุ: เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และระดับพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นจึงเริ่มคงที่ โดยมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 0 6 12 24 36 และ 48 คือ 0.10 ± 0.03, 1.13 ± 0.11, 5.15 ± 0.09, 5.31 ± 0.09, 5.42 ± 0.10 และ 5.39 ± 0.12 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่า 6 ชั่วโมงแรกของการหมัก เชื้อชนิดนี้สามารถปรับตัวและเพิ่มจำนวนได้ในไฮโดรไลเซทที่เตรียมขึ้น และมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 ซึ่งสัมพันธ์กับช่วงเวลาที่ระดับน้ำตาลรีดิวซ์มีการลดลงอย่างรวดเร็ว

ความสามารถในการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.2 จะเห็นว่า มีเอทานอลเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วง 6 ชั่วโมงแรกและมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 12 ซึ่งมีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักเซลล์แห้ง แสดงให้เห็นว่า ในช่วง 12 ชั่วโมงแรก เชื้อชนิดนี้นำน้ำตาลรีดิวซ์ไปใช้สำหรับการสร้างทั้งเซลล์และเอทานอล หลังจากนั้นเชื้อจะเริ่มหยุดการเจริญ แต่ยังคงมีการผลิตเอทานอลต่อไป จนกระทั่งได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 คือ 8.51 ± 0.18 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามปริมาณเอทานอลในน้ำหมักกลับลดลงเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 36 และ 48 อาจเนื่องมาจากมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลือน้อยมากในชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไป ส่งผลให้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ผลิตเอทานอลได้น้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาระดับพีเอชของน้ำหมักในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีระดับพีเอชเริ่มต้น คือ 4.77 ± 0.02 และพบว่าในช่วง 12 ชั่วโมงแรก ระดับพีเอชมีการลดลงอยู่ที่ 3.65 ± 0.01 หลังจากนั้นจึงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงพีเอช 3.98 ± 0.01 ในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก ซึ่งการลดลงของพีเอชในช่วง 12 ชั่วโมงแรก เนื่องมาจากกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ จะมีกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติค กรดโพรพิโอนิค กรดซิตริก กรดซัคซินิค และกลีเซอรอลเกิดขึ้น ส่งผลให้พีเอชของน้ำหมักลดลง โดยที่กรดอ่อนทั้งหมดที่กล่าวมา มีคุณสมบัติในการละลายในไขมันและสามารถแพร่ผ่านพลาสมาเมมเบรนเข้าสู่ไซโตพลาสซึมได้ (Fan และคณะ, 2014) จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้พีเอชของน้ำหมักเพิ่มขึ้นในช่วงภายหลังชั่วโมงที่ 12 จนกระทั่งถึงชั่วโมงสุดท้ายของกระบวนการหมัก

4.5.2 การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทชนิดเดียวกัน โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ในสภาวะการหมักแบบเดียวกัน พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล น้ำหนักเซลล์แห้ง และระดับพีเอช มีการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในรูปที่ 4.3 โดยน้ำหมักเริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 46.23 ± 0.35 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อมีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์อย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีการลดลงอย่างรวดเร็ว และที่ชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก (48 ชั่วโมง) มีน้ำตาลรีดิวซ์ 1.39 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง เอทานอล และระดับพีเอชในน้ำหมักที่เวลาต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017

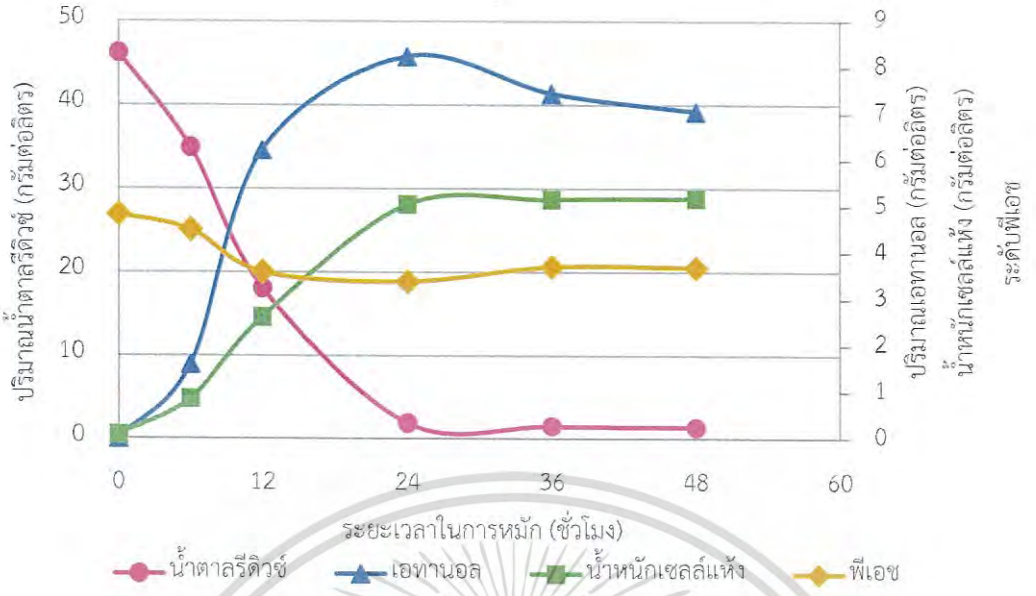
เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	$46.23^{a} \pm 0.35$	$0.09^{d} \pm 0.04$	$0.00^{f} \pm 0.00$	$4.84^{a} \pm 0.02$
6	$34.93^{b} \pm 0.62$	$0.87^{c} \pm 0.04$	$1.61^{e} \pm 0.03$	$4.51^{b} \pm 0.01$
12	$18.06^{c} \pm 1.34$	$2.62^{b} \pm 0.25$	$6.22^{d} \pm 0.14$	$3.59^{d} \pm 0.01$
24	$1.88^{d} \pm 0.06$	$5.05^{a} \pm 0.07$	$8.24^{a} \pm 0.18$	$3.38^{e} \pm 0.00$
36	$1.51^{d} \pm 0.04$	$5.16^{a} \pm 0.08$	$7.45^{b} \pm 0.04$	$3.71^{c} \pm 0.01$
48	$1.39^{d} \pm 0.03$	$5.19^{a} \pm 0.06$	$7.05^{c} \pm 0.04$	$3.70^{c} \pm 0.01$

หมายเหตุ: เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) เอทานอล (กรัมต่อลิตร) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และระดับพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สำหรับน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 พบว่ามีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 6 ชั่วโมงแรก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 12 ถึง 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงเริ่มคงที่ ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงเวลาเดียวกับระยะเวลาที่น้ำตาลรีดิวซ์ถูกใช้ไปเกือบหมด โดยมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 0 6 12 24 36 และ 48 คือ 0.09 ± 0.04, 0.87 ± 0.04, 2.62 ± 0.25, 5.05 ± 0.07, 5.16 ± 0.08 และ 5.19 ± 0.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ด้านความสามารถในการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 พบว่ามีเอทานอลเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วง 6 ชั่วโมงแรก จากนั้นชั่วโมงที่ 12 ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 คือ 8.24 ± 0.18 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลในน้ำหมักมีการลดลงในชั่วโมงที่ 36 และ 48 เช่นเดียวกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 อาจเนื่องมาจากมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำหมักเหลือน้อยมากในชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไป ส่งผลให้เชื้อผลิตเอทานอลได้น้อยลง

เมื่อพิจารณาระดับพีเอชของน้ำหมักในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอล พบว่าน้ำหมักที่ใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีพีเอชเริ่มต้น คือ 4.84 ± 0.02 โดยช่วง 12 ชั่วโมงแรก มีการลดลงของพีเอชใกล้เคียงกับน้ำหมักที่ใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และมีการลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 24 คือ 3.38 ± 0.00 หลังจากนั้นระดับพีเอชมีการเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึง 3.70 ± 0.01 ในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 พบว่าเชื้อทั้งสองชนิด ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่เวลาเดียวกัน คือ ชั่วโมงที่ 24 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Izmirlioglu และคณะ (2016) ที่ได้ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากไฮโดรไลเซทของน้ำเสียจากโรงงานมันฝรั่ง โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* พบว่าได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่เวลาเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ คือ ชั่วโมงที่ 24 (37.05 กรัมต่อลิตร) อย่างไรก็ตาม *S. cerevisiae* TISTR 5088 สามารถให้ผลผลิตเอทานอลในปริมาณสูงกว่า *S. cerevisiae* YRK 017 เล็กน้อย คือ 8.51 ± 0.18 และ 8.24 ± 0.18 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักไฮโดรไลเซทชนิดนี้ ระหว่างเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 กับ *S. cerevisiae* YRK 017 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.7 โดยปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการศึกษาในครั้งนี้สูงกว่าการทดลองของ Asakawa และคณะ (2016) ซึ่งผลิตเอทานอลจากชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยโคลีนอะซิเตด (Choline acetate) ร่วมกับไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide) และหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* BA11 พบว่าได้เอทานอลสูงสุด 3.7 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง นอกจากนี้การทดลองของ Singh และคณะ (2013) ซึ่งผลิตเอทานอลจากชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้กำลังไฟ 500 วัตต์ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจาก *Aspergillus flavus* และหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ตรึงด้วยวิธี Agar-agar immobilization พบว่าได้ปริมาณเอทานอล 9.4 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้เล็กน้อย

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเอทานอลจากกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่เวลา 24 ชั่วโมง

จุลินทรีย์	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)
S. cerevisiae TISTR 5088	$8.51^{a} \pm 0.18$
S. cerevisiae YRK 017	$8.24^{a} \pm 0.18$

หมายเหตุ: เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017

จากการศึกษากระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอลและน้ำหนักเซลล์แห้ง สามารถคำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักได้ดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่าการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท 0.1879 กรัมต่อกรัม สูงกว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และสัมพันธ์กับค่าประสิทธิภาพการผลิตผลิตภัณฑ์ของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีค่า 0.3546 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีค่าประสิทธิภาพการผลิตผลิตภัณฑ์ 0.3433 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังนั้นเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้สูงกว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เล็กน้อย โดยค่าประสิทธิภาพการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ใกล้เคียงกับการทดลองของ Neves และคณะ (2016) ที่ศึกษาการผลิตเอทานอลจากชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริก และหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* พบว่าได้ค่าประสิทธิภาพการผลิตผลิตภัณฑ์ 0.29 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017

ค่าจลนพลศาสตร์	ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวจากการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับ	
	S. cerevisiae TISTR 5088	*S. cerevisiae* YRK 017
$Y_{x/s}$	0.1406	0.1118
$Y_{p/s}$	0.1879	0.1858
P_x	0.4208	0.2067
P_p	0.3546	0.3433

หมายเหตุ: $Y_{x/s}$ คือ ค่าผลได้ของมวลเซลล์ต่อซับสเตรท (กรัมต่อกรัม)

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

P_x คือ ค่าประสิทธิภาพการผลิตของมวลเซลล์ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

P_p คือ ค่าประสิทธิภาพการผลิตของผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 80, 240 และ 400 วัตต์ ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 2 นาที เพื่อคัดเลือกสารเคมีและกำลังไฟของคลื่นไมโครเวฟที่เหมาะสมต่อการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อย โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว พบว่าการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 400 วัตต์ ร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้นข้นร้อยละ 1 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 51.29 ± 3.26 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดซัลฟูริกต่อไป โดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 400 วัตต์ ซึ่งจากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยปริมาตร โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณสารพิษที่เกิดขึ้น พบว่าสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ก่อให้เกิดสารพิษน้อยที่สุด และทั้งสามความเข้มข้นให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นจึงเลือกใช้การพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อใช้ผลิตน้ำตาลสำหรับศึกษากระบวนการหมักเอทานอลต่อไป

อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการศึกษาชนิดของน้ำตาลในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 400 วัตต์ ร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เครื่อง HPLC พบว่าน้ำตาลส่วนใหญ่ คือ น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส ที่ได้จากการสลายตัวของน้ำตาลซูโครส ซึ่งเหลืออยู่ในชานอ้อย และไม่พบน้ำตาลไซโลส

เมื่อทำการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 400 วัตต์ ร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 คือ 8.51 ± 0.18 และ 8.24 ± 0.18 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อทำการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเพื่อพิจารณาความสามารถในการผลิตเอทานอลของทั้งสองเชื้อ พบว่าการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท 0.1879 กรัมต่อกรัม และมีค่าประสิทธิภาพการผลิตของผลิตภัณฑ์ 0.3546 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

การเก็บตัวอย่างชานอ้อย ควรเก็บครั้งเดียวในปริมาณมากให้เพียงพอต่อการใช้ในการศึกษา และควรเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริก เนื่องจากการใช้เวลา 2 นาที อาจไม่เพียงพอต่อการทำให้เกิดการย่อยสลายของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในชานอ้อย อีกทั้งควรศึกษากระบวนการหมักเอทานอลแบบสภาวะนิ่งกับสภาวะเขย่า เพื่อเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลระหว่างกระบวนการหมักทั้งสองสภาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2554 . **คู่มือการพัฒนาและการลงทุนผลิตพลังงานทดแทน ชุดที่ 7.** กรุงเทพฯ : เอเบิล คอนซัลแตนท์.

กรมวิชาการเกษตร. ม.ป.ป. **อ้อย.** กรุงเทพ. : งานทะเบียนและประมวลสถิติ กองแผนงาน. หน้า 11-21, 242

กล้าณรงค์ ศรีรอด, ศิริพล โกสินทรเสนีย์, เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, ปฐมา อาตกานนท์ และสิทธิโชค วัลลภาทิตย์. 2548. **การพัฒนาการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรดพื่อลดต้นทุนการผลิตและปลอดภัยจากผลกระทบทางสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.** หน้า 7-9

เกษม สุขสถาน. 2519. **คำบรรยายอ้อย.** คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 26-39

เดือนรุ่ง เบญจมาศ, ถาวร ฉิมเลี้ยง, นิพนธ์ วุฒิชัย และจิราพร สวัสดิการ. 2549. "การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรคุณภาพต่ำในจังหวัดจันทบุรี." มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี. สำนักงานคระกรรมการอุดมศึกษา. หน้า 8-9.

พรเทพ ถนนแก้ว และประสิทธ์ ใจศิล. 2554. "การประยุกต์ใช้ยีสต์ทนร้อน *Saccharomyces cerevisiae* DBKKUY-53 ในการผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลจากข้างฟ่างหวาน." สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 11,16

สาวิตรี ลิ่มทอง. ม.ป.ป. **ยีสต์ : ความหลากหลายทางชีวภาพ.** กรุงเทพ. : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 276

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา. 2553. "รายงานสถานภาพของงานวิจัยและผลิตเอทานอล ไบโอดีเซล ไบโอแก๊ส และน้ำมันชีวภาพในประเทศไทย." กรุงเทพ. : สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. หน้า 13-14

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย กระทรวงอุตสาหกรรม. ม.ป.ท. **9 บทบันทึกแห่งอ้อยและน้ำตาลทรายไทย.** กรุงเทพ. : สันติภาพ แพ็คพริ้นท์. หน้า 92-98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรรถพล นุ่มหอม และฤทธิชัย อัศวราชันย์. 2553. "แนวคิดพื้นฐานการออกแบบให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ". *Food Focus Thailand*. 5(52) : 50-51.

ฤทธิชัย อัศวราชันย์. 2553. "7 คำถามน่ารู้เกี่ยวกับเรื่องไมโครเวฟ." *Food Focus Thailand*. 5(56): 43-45

Asakawa, A., Oka, T., Sasaki, C., Asada, C., Nakamura, Y., 2016. "Cholinium ionic liquid/cosolvent pretreatment for enhancing enzymatic saccharification of sugarcane bagasse." *Industrial Crops and Products* 86, 113-119.

Binod, P., Satyanagalakshmi, K., Sindhu, R., Janu, K.U., Sukumaran, R.K., Pandey A., 2012. "Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse." *Renewable Energy* 37, 109-116.

Cardona, C.A., Sanchez, O.J., Gutierrez, L.F., 2010. **Process Synthesis for Fuel Ethanol Production.** United States: acid free-paper.

Chen, W.H., Tu, Y.J., Sheen, H.K., 2011. "Disruption of sugarcane bagasse lignocellulosic structure by means of dilute sulfuric acid pretreatment with microwave-assisted heating." *Applied Energy* 88, 2726-2734.

Fan, S., Xiao, Z., Tang, X., Chen, C., Zhang, Y., Deng, Q., Yao, P., Li, W., 2014. "Inhibition effect of secondary metabolites accumulated in a pevaporation membrane bioreactor on ethanol fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*." *Bioresource Technology* 162, 8-13.

Gitifar, V., Eslamloueyan, R., Sarshar, M., 2013. "Experimental study and neural network modeling of sugarcane bagasse pretreatment with H2SO4 and O3 for cellulosic material conversion to sugar." *Bioresource Technology* 148, 47-52.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Izmirlioglu, G., Demirci, A., 2016. "Ethanol production in biofilm reactors from potato wase hydrolysate and optimization of growth parameters for *Saccharomyces cerevisiae*." *Elsevier* 181, 643-651.

Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., Kong, H., 2012. "Factors affection ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742." *SciVerse ScienceDirect* 47, 395-401.

Lu, X., Xi, B., Zhang, Y., Angelidaki, I., 2011. "Microwave pretreatment of rape straw for bioethanol preduction: Focus on energy efficiency." *Bioresource Technology* 102, 7937-7940.

Marx, S., Ndaba, B., Chiyanzu, I., Schabort, C., 2014. "Fuel ethanol production from sweet sorghum bagasse using microwave irradiation." *Elsevier* 65, 145-150.

Miller, G. L., 1959. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugars." *Analytical Chemistry* 31, 426-428

Moretti, M.M.S., Bocchini-Martins, D.A., Nunes, C.C.C., Villena, M.A., Perrone, O.M., Silva, R., Boscolo, M., Gomes, E., 2014. "Pretreatment of sugarcane bagasse with microwave irradiation and its effects on the structure and on enzymatic hydrolysis." *Applied Energy* 122, 189-195.

Neves, P.V., Pitarelo, A.P., Ramos, L.P., 2016. "Production of cellulosic ethanol from sugarcane bagasse by steam explosion: Effect of extractive content, acid catalysis and different fermentation technologies." *Bioresource Technology* 208, 184-194.

Ramadoss, G., Muthukumar, K., 2016. "Mechanistic study on ultrasound assisted pretreatment of sugarcane bagasse using metal sale with hydrogen peroxide for bioethanol production." *Ultrasonics Sonochemistry* 28, 207-217.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sims, R.E.H., Mabee, W., Saddler, J.N., Taylor, M., 2010. "An overview of second generation biofuel technologies." *Bioresour Technol* 101, 1570–1580.

Singh, A., Sharma, P., Saran, K.A., Singh, N., Bishnoi, R.N., 2013 "Comparative study on ethanol production from pretreated sugarcane bagasse using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on various matrices" *Renewable Energy* 50, 488-493.

Webner, C., Farwick, A., Benish, F., Brat, D., Dietz, H., Subtil, T., Boles, E., 2010. "Trends and challenges in the microbial production of lignocellulosic bioalcohol fuels." *Appl Microbiol Biotechnol* 87, 1303–1315.

Yadav, K. S., Naseeruddin, S., Prashanthi, S. G., Sateesh, L., Rao, V.L., 2011. "Bioethanol Fermentation of Concentrated Rice Straw Hydrolysate using Co-cuture of *Saccharomyces cerevisiae* and *pichai stipites*." *Bioresource Technology* 102, 6473-6478

Yang, X., Zhang, S., Zuo, Z., Men, X., Tian, S., 2011. "Ethanol production from the enzymatic hydrolysis of non-detoxified steam-exploded corn stalk." *Bioresource Technology* 102, 7840-7844.

[Online]. Available : http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/contact.html. (สืบค้นข้อมูลวันที่ 29 มีนาคม 2559)

[Online]. Available : http://www2 . electron.frba.utn.edu.ar/~jcecconi/Bibliografia/Ocultos/Libros/Microwave_Engineering_David_M_Pozar_4ed_Wiley_2012.pdf. (สืบค้นข้อมูลวันที่ 5 เมษายน 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร Yeast-Extract-Peptone-Dextrose Agar (YEPD agar) พีเอช 5.0
   - ยิสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร
   - เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร
   - กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร
   - ผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร

<u>วิธีการเตรียม</u>

1. ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธีดีเอ็นเอส (DNS Method) (Miller, 1959)

สารเคมี

1. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1
2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1
   - ชั่งสาร 3,5-dinitrosalicylic (DNS) 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร
   - เติมสารละลายด่างทีละน้อย (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร)
   - คนให้สารละลายเข้ากัน
   - เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรตลงไปทีละน้อยพร้อมกับคนให้ละลายเข้ากัน จนกระทั่งครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน
   - อบกลูโคสที่ตู้อบ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์เป็นเวลา 30 นาที
   - ชั่งน้ำหนักกลูโคสที่ผ่านการอบและทิ้งให้เย็นมา 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
   - ทำการเจือจางสารละลายกลูโคสที่ได้โดยใช้น้ำกลั่น ดังนี้

ความเข้มข้นกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณกลูโคส (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	-	5
100	0.5	4.5
200	1	4
400	2	3
600	3	2
800	4	1
1000	5	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส โดยนำสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส
- สร้างกราฟมาตรฐานกลูโคสระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรกับความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน และคำนวณสมการ

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

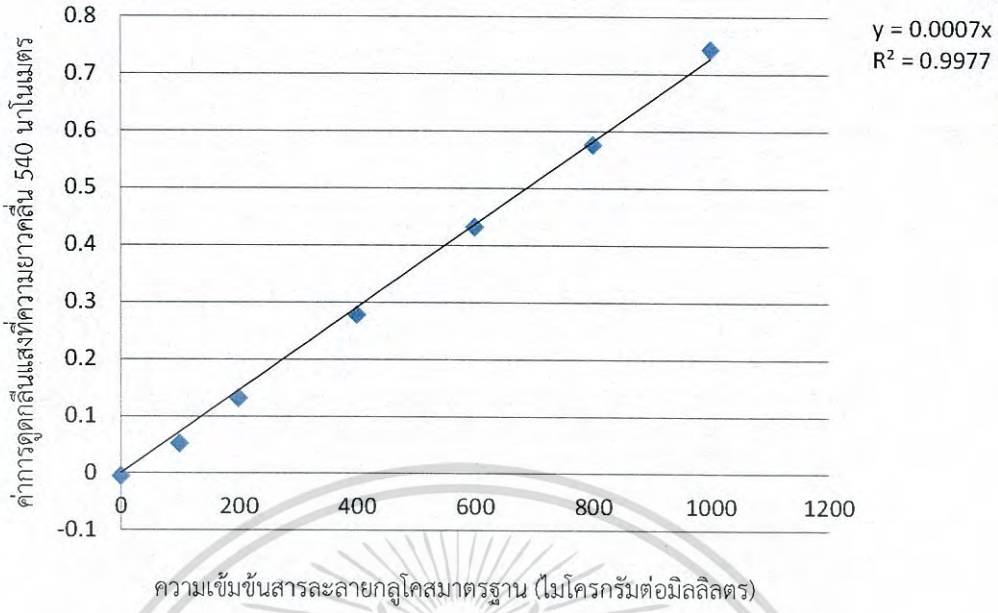
1. ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้สารเข้ากัน
2. นำไปให้ความร้อนด้วยน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำให้เย็นทันที
3. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าให้สารเข้ากัน
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณได้จากสูตร

$$\text{น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง (A540)} \times \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน} \times 1000}$$

ตารางที่ ข-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ 540 นาโนเมตร

ความเข้มข้นกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	-0.003	-0.006	-0.007	-0.005
100	0.052	0.052	0.052	0.052
200	0.132	0.132	0.132	0.132
400	0.278	0.279	0.279	0.279
600	0.432	0.433	0.433	0.433
800	0.576	0.576	0.578	0.577
1000	0.744	0.742	0.743	0.743

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

2. การวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Jekel, 2005)

2.1 กราฟมาตรฐานของเอทานอล

2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้โพรพานอล (n-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard)

2.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 8 12 16 20 และ 24 โดยปริมาตร

2.1.3 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-2014 Chromatograph, Shimadzu) สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอระเหยปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป

2.1.4 ใช้คอลัมน์ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์อยู่ที่ 60 องศาเซลเซียส และใช้ตัวตรวจวัด (Detecter) เป็นชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (injector) อยู่ที่ 150 องศาเซลเซียส และใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะ โดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa

2.1.5 สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 5.50 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์

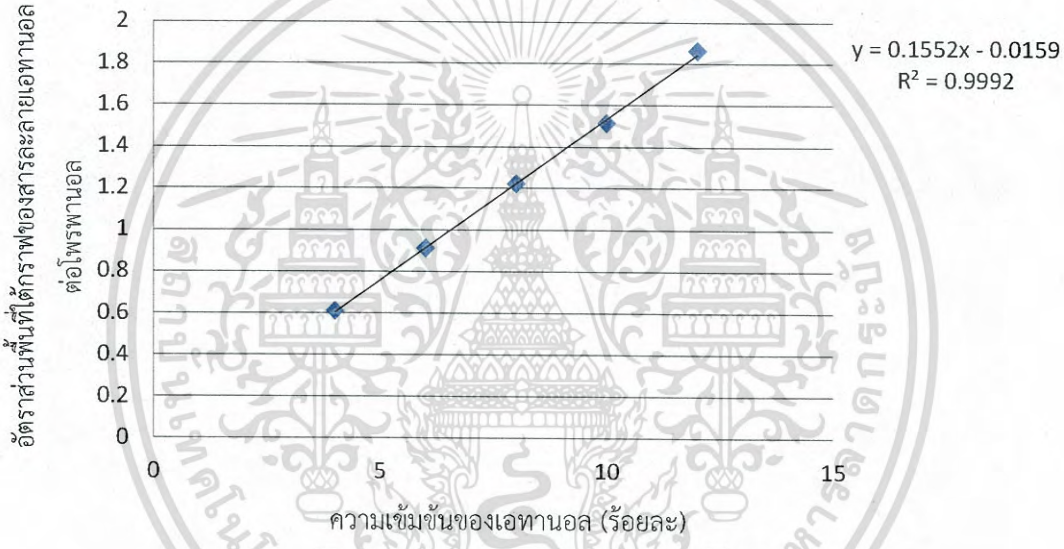
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยกำหนดให้แกน y คือ อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้น ส่วนแกน x คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล

2.2 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

2.2.1 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง โดยผสมสารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร

2.2.2 วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

<u>สูตรคำนวณปริมาณเอทานอล</u>

สมการ	y	=	0.1552x - 0.0159
ให้	y	=	ค่าอัตราส่วนระหว่างเอทานอลต่อโพรพานอล
ความหนาแน่นของเอทานอล		=	0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร
ดังนั้น ปริมาณเอทานอล		=	(x) (0.789) (10) กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

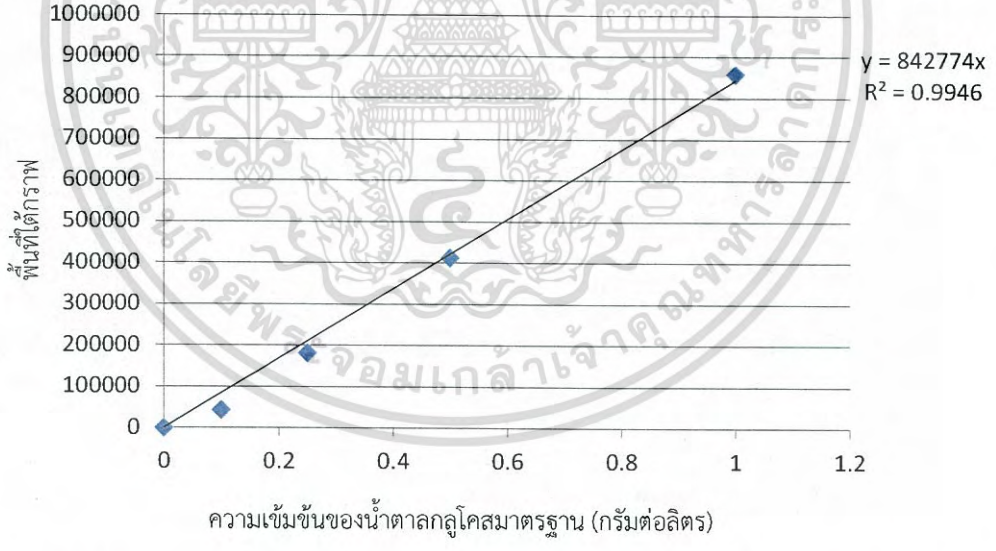
3. วิธีการวิเคราะห์น้ำตาลชนิดต่างๆ โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

3.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

ตารางที่ ข-2 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาลชนิดต่างๆ

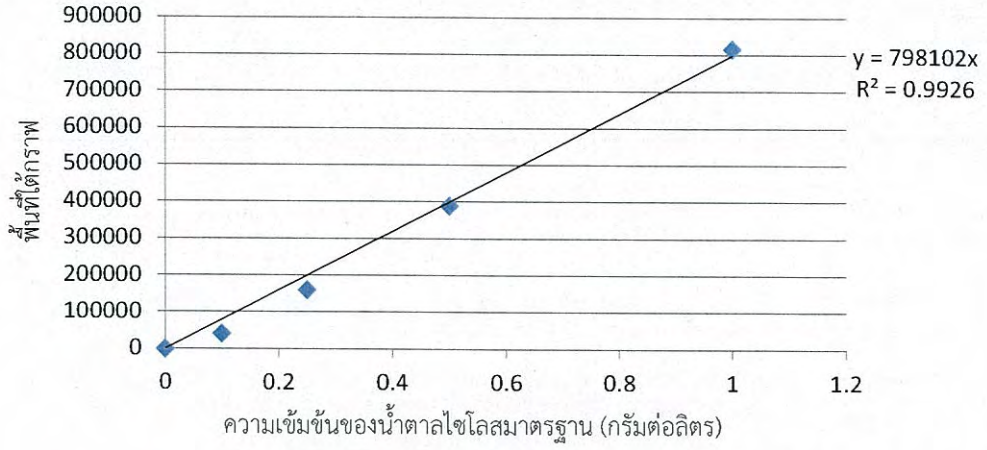
	ชนิดและสภาวะที่ใช้
คอลัมน์ (Column)	: BP-800 Ca^{++} (24267) ขนาด 300 x 7.8 mm
ตัวตรวจวัด (Detection)	: Refractive index detector (RID)
อุณหภูมิคอลัมน์	: 80 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิตัวตรวจวัด	: 40 องศาเซลเซียส
ตัวชะ (Eluent)	: น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)
อัตราการไหล (Flow rate)	: 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรที่ฉีดวิเคราะห์	: 20 ไมโครลิตร

3.2 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลชนิดต่างๆ

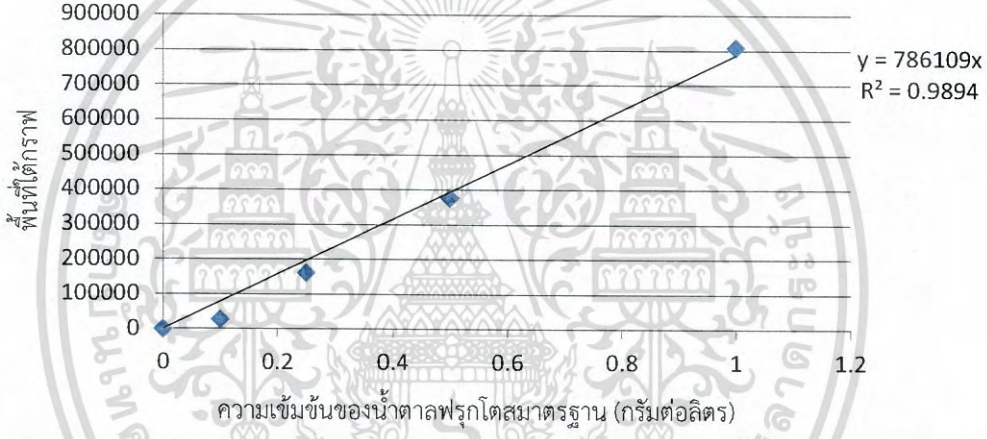


รูปที่ ข-3 กราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่วัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

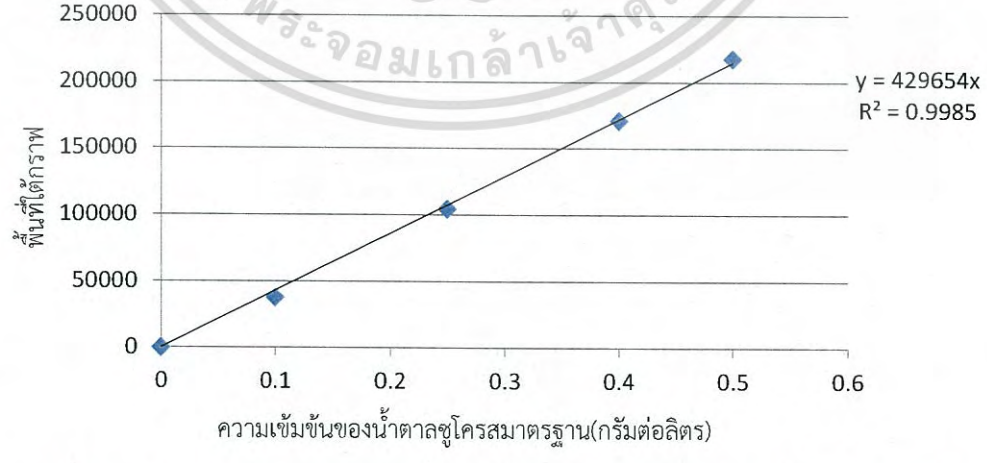
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-4 กราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลไซโลสที่วัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



รูปที่ ข-5 กราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตสที่วัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



รูปที่ ข-6 กราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลซูโครสที่วัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

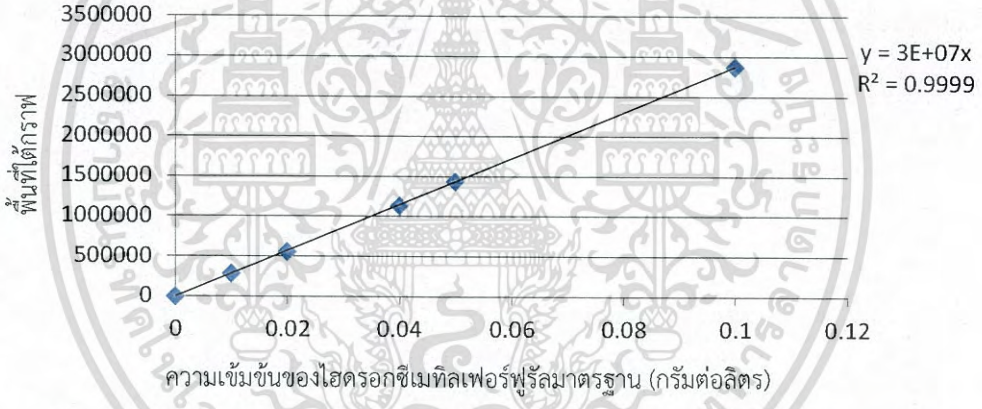
4. วิธีการวิเคราะห์สารพิษ โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

4.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

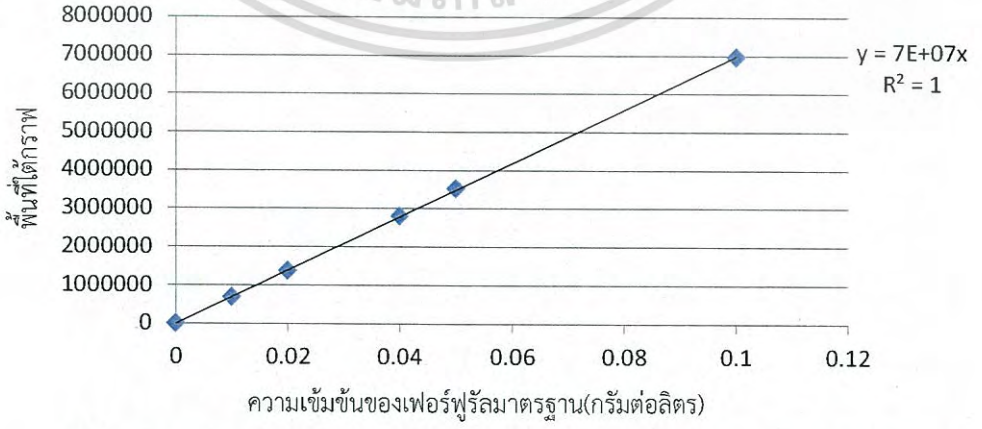
ตารางที่ ข-3 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์สารพิษ

	ชนิด/สภาวะที่ใช้
คอลัมน์ (Column)	: YMC-Pack ODS-AQ
ตัวตรวจวัด (Detection)	: Diode array Detector (ที่ 280 นาโนเมตร)
อุณหภูมิคอลัมน์	: 30 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิตัวตรวจวัด	: -
ตัวชะ (Eluent)	: น้ำปราศจากไอออน : Acetonitrile (97:3)
อัตราการไหล (Flow rate)	: 1 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรที่ฉีดวิเคราะห์	: 20 ไมโครลิตร

4.2 กราฟมาตรฐานของสารพิษชนิดต่างๆ



รูปที่ ข-7 กราฟสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลที่วัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



รูปที่ ข-8 กราฟสารละลายมาตรฐานเฟอร์ฟูรัลที่วัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารละลายความเข้มข้นต่างๆ

1. การเตรียมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยปริมาตร

1.1 กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร

เตรียมจาก H_2SO_4 ความเข้มข้นร้อยละ 98

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1 = 98\%$; $(98/100)V_1 = (1/100)(1{,}000\ ml)$

$$V_1 = \frac{(1/100)(1{,}000\ ml)}{(98/100)}$$

$V_1 = 10.20$ มิลลิลิตร

ดังนั้นการเตรียมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 98 มาปริมาตร 10.2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.2 กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร

เตรียมจาก H_2SO_4 ความเข้มข้นร้อยละ 98

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1 = 98\%$; $(98/100)\ V_1 = (2/100)(1{,}000\ ml)$

$$V_1 = \frac{(2/100)(1{,}000\ ml)}{(98/100)}$$

$V_1 = 20.41$ มิลลิลิตร

ดังนั้นการเตรียมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 98 มาปริมาตร 20.4 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.3 กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยปริมาตร

เตรียมจาก H_2SO_4 ความเข้มข้นร้อยละ 98

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1 = 98\%$; $(98/100)\ V_1 = (3/100)(1{,}000\ ml)$

$$V_1 = \frac{(3/100)(1{,}000\ ml)}{(98/100)}$$

$V_1 = 30.61$ มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นการเตรียมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยปริมาตร ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 98 มาปริมาตร 30.6 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1,2 และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

$$\text{จากสูตร} \quad \%\ (w/v) = \frac{\text{น้ำหนักของสารที่จะชั่ง(กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลาย(มิลลิลิตร)}}$$

$$1\% = \frac{\text{NaOH(กรัม)} \times 100}{1{,}000 \text{ มิลลิลิตร}}$$

$$1\% = 10 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นการเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

$$\text{จากสูตร} \quad \%\ (w/v) = \frac{\text{น้ำหนักของสารที่จะชั่ง(กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลาย(มิลลิลิตร)}}$$

$$2\% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1{,}000 \text{ มิลลิลิตร}}$$

$$2\% = 20 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นการเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

จากสูตร $\%\ (w/v) = \frac{\text{น้ำหนักของสารที่จะชั่ง(กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลาย(มิลลิลิตร)}}$

$3\% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1{,}000 \text{ มิลลิลิตร}}$

$3\% = 30$ กรัม

ดังนั้นการเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

3. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 และ 2 โมลาร์ สำหรับปรับพีเอชไฮโดรไลเซท

จากสูตร

$$g = \frac{CV \times Mw}{1000}$$

3.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

$$g = \frac{(0.5)(1000) \times 40}{1000} \text{ กรัม}$$

$$= 20 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นการเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

3.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์

$$g = \frac{(2)(1000) \times 40}{1000} \text{ กรัม}$$

$$= 80 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นการเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 80 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเตรียมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 และ 2 โมลาร์ สำหรับปรับพีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เตรียมจาก HCl ความเข้มข้นร้อยละ 37 คิดเป็น 11.97 โมลาร์

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1 = 11.97$ M ; $(11.97)V_1 = (0.5)(100\ ml)$

$$V_1 = \frac{(0.5)(100\ ml)}{(11.97)}$$

$V_1 = 4.18$ มิลลิลิตร

ดังนั้นการเตรียมกรดไฮโดรคลอริก 0.5 โมลาร์ ทำได้โดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 37 มาปริมาตร 4.2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4.2 กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เตรียมจาก HCl ความเข้มข้นร้อยละ 37 คิดเป็น 11.97 โมลาร์

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1 = 11.97$ M ; $(11.97)V_1 = (2)(100\ ml)$

$$V_1 = \frac{(2)(100\ ml)}{(11.97)}$$

$V_1 = 16.7$ มิลลิลิตร

ดังนั้นการเตรียมกรดไฮโดรคลอริก 2 โมลาร์ ทำได้โดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 37 มาปริมาตร 16.7 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ง-1 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยซานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับน้ำกลั่นที่กำลังวัตต์ต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที

กำลังไฟ (วัตต์)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	3	เฉลี่ย		
80	1	0.446	0.449	0.450	0.4483	6.4048	6.3937
	2	0.447	0.448	0.446	0.4470	6.3857	
	3	0.447	0.447	0.448	0.4473	6.3905	
240	1	0.430	0.427	0.427	0.4280	6.1143	6.1968
	2	0.441	0.441	0.442	0.4413	6.3048	
	3	0.432	0.430	0.434	0.4320	6.1714	
400	1	0.446	0.446	0.446	0.4460	6.3714	6.3508
	2	0.440	0.441	0.443	0.4413	6.3048	
	3	0.443	0.448	0.448	0.4463	6.3762	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่พรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังวัตต์ต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที

กำลังไฟ (วัตต์)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	3	เฉลี่ย		
80	1	0.394	0.396	0.395	0.3950	11.2857	11.4476
	2	0.415	0.416	0.419	0.4167	11.9048	
	3	0.388	0.390	0.393	0.3903	11.1524	
240	1	0.403	0.402	0.407	0.4040	28.8571	28.4365
	2	0.406	0.405	0.408	0.4063	29.0238	
	3	0.381	0.384	0.387	0.3840	27.4286	
400	1	0.730	0.733	0.734	0.7323	52.3095	51.2937
	2	0.751	0.756	0.758	0.7550	53.9286	
	3	0.665	0.666	0.670	0.6670	47.6429	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 20 เท่าในตัวอย่างที่พรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 80 วัตต์

อัตราการเจือจาง 50 เท่าในตัวอย่างที่พรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 240 และ 400 วัตต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังวัตต์ต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที

กำลังไฟ (วัตต์)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	3	เฉลี่ย		
80	1	0.374	0.372	0.372	0.3727	5.3238	5.2746
	2	0.373	0.373	0.375	0.3737	5.3381	
	3	0.360	0.362	0.362	0.3613	5.1619	
240	1	0.375	0.379	0.380	0.3780	5.4000	5.4000
	2	0.377	0.378	0.380	0.3783	5.4048	
	3	0.374	0.379	0.380	0.3777	5.3952	
400	1	0.277	0.278	0.278	0.2777	3.9667	3.9524
	2	0.278	0.279	0.276	0.2777	3.9667	
	3	0.275	0.274	0.275	0.2747	3.9238	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่พรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ความเข้มข้นกรดซัลฟูริก (ร้อยละ)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)				ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	3	เฉลี่ย		
1	1	0.600	0.599	0.601	0.6000	51.4286	53.1143
	2	0.643	0.642	0.645	0.6433	55.1429	
	3	0.614	0.616	0.617	0.6157	52.7714	
2	1	0.408	0.410	0.411	0.4097	58.5238	55.1746
	2	0.397	0.405	0.405	0.4023	57.4762	
	3	0.344	0.348	0.348	0.3467	49.5238	
3	1	0.417	0.423	0.421	0.4203	60.0476	57.5873
	2	0.391	0.392	0.393	0.3920	56.0000	
	3	0.395	0.396	0.400	0.3970	56.7143	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 60 เท่าในตัวอย่างที่พรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1
อัตราการเจือจาง 100 เท่าในตัวอย่างที่พรีทรีทเมนต์และย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3

ตารางที่ ง-5 ปริมาณสารพิษที่เกิดขึ้นจากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

สารพิษ	ความเข้มข้นกรดซัลฟูริก (ร้อยละ)	ซ้ำที่			เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	3	
เฟอร์ฟูรัล (กรัมต่อลิตร)	1	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	2	2.14×10^{-5}	2.81×10^{-5}	2.11×10^{-5}	2.35×10^{-5}
	3	7.06×10^{-4}	5.53×10^{-4}	5.86×10^{-4}	6.15×10^{-4}
ไฮดรอกซีเมทิล-เฟอร์ฟูรัล (กรัมต่อลิตร)	1	0.0132	0.0128	0.0136	0.0132
	2	0.0159	0.0160	0.0163	0.0161
	3	0.0249	0.0252	0.0252	0.0251

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว	น้ำตาลชนิดต่างๆ	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
จากการใช้น้ำกลั่น	ไซโลส	0.00	0.00	0.00	0.00
	ซูโครส	21.98	22.03	22.08	22.03
	กลูโคส	5.94	5.99	5.85	5.93
	ฟรุกโตส	5.53	5.67	5.56	5.59
จากการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ1	ไซโลส	0.00	0.00	0.00	0.00
	ซูโครส	0.00	0.00	0.00	0.00
	กลูโคส	21.62	21.71	21.59	21.64
	ฟรุกโตส	20.02	19.95	20.07	20.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-7 ตารางแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
			1	2	เฉลี่ย		
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.467	0.468	0.468	46.75	46.73
		2	0.471	0.471	0.471	47.10	
		3	0.462	0.465	0.464	46.35	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.458	0.459	0.459	45.85	46.23
		2	0.462	0.464	0.463	46.30	
		3	0.465	0.466	0.466	46.55	
6	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.560	0.561	0.561	40.04	40.20
		2	0.563	0.568	0.566	40.39	
		3	0.562	0.563	0.563	40.18	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.622	0.622	0.622	35.54	34.93
		2	0.610	0.613	0.612	34.94	
		3	0.596	0.605	0.601	34.31	
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.771	0.771	0.771	11.01	10.80
		2	0.744	0.746	0.745	10.64	
		3	0.753	0.753	0.753	10.76	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.793	0.800	0.797	19.34	18.06
		2	0.683	0.689	0.686	16.66	
		3	0.747	0.750	0.749	18.18	
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.520	0.527	0.524	1.50	1.44
		2	0.499	0.504	0.502	1.43	
		3	0.487	0.493	0.490	1.40	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.342	0.342	0.342	1.95	1.88
		2	0.324	0.326	0.325	1.86	
		3	0.319	0.320	0.320	1.83	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.467	0.470	0.469	1.34	1.36
		2	0.484	0.485	0.485	1.38	
		3	0.473	0.477	0.475	1.36	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.547	0.548	0.548	1.56	1.51
		2	0.517	0.518	0.518	1.48	
		3	0.524	0.525	0.525	1.50	
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.451	0.455	0.453	1.29	1.25
		2	0.438	0.440	0.439	1.25	
		3	0.424	0.426	0.425	1.21	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.483	0.484	0.484	1.38	1.39
		2	0.500	0.502	0.501	1.43	
		3	0.478	0.480	0.479	1.37	

หมายเหตุ: อัตราการเจือจาง 70 50 10 2 2 และ 2 เท่า ในตัวอย่างน้ำหมักที่ใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เวลา 0 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

อัตราการเจือจาง 70 40 17 4 2 และ 2 เท่า ในตัวอย่างน้ำหมักที่ใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่เวลา 0 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-8 ตารางแสดงปริมาณเอทานอลของกระบวนการหมักจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ชั่วโมงที่	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.00	0.00
		2	0.00	
		3	0.00	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.00	0.00
		2	0.00	
		3	0.00	
6	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	1.52	1.57
		2	1.56	
		3	1.64	
	S. cerevisiae YRK 017	1	1.59	1.61
		2	1.61	
		3	1.64	
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	6.52	6.51
		2	6.57	
		3	6.45	
	S. cerevisiae YRK 017	1	6.36	6.22
		2	6.21	
		3	6.08	
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	8.33	8.51
		2	8.69	
		3	8.51	
	S. cerevisiae YRK 017	1	8.38	8.24
		2	8.04	
		3	8.29	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	8.09	8.15
		2	8.12	
		3	8.24	
	S. cerevisiae YRK 017	1	7.41	7.45
		2	7.46	
		3	7.48	
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	7.40	7.57
		2	7.52	
		3	7.79	
	S. cerevisiae YRK 017	1	7.05	7.05
		2	7.01	
		3	7.09	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-9 ตารางแสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ชั่วโมงที่	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	0.11	0.10
		2	0.07	
		3	0.13	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.08	0.09
		2	0.13	
		3	0.06	
6	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	1.17	1.13
		2	1.01	
		3	1.21	
	S. cerevisiae YRK 017	1	0.91	0.87
		2	0.83	
		3	0.89	
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	5.23	5.15
		2	5.05	
		3	5.17	
	S. cerevisiae YRK 017	1	2.69	2.62
		2	2.83	
		3	2.35	
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	5.41	5.31
		2	5.23	
		3	5.29	
	S. cerevisiae YRK 017	1	4.97	5.05
		2	5.11	
		3	5.07	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	5.45	5.42
		2	5.31	
		3	5.51	
	S. cerevisiae YRK 017	1	5.07	5.16
		2	5.23	
		3	5.19	
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	5.26	5.39
		2	5.48	
		3	5.43	
	S. cerevisiae YRK 017	1	5.23	5.19
		2	5.12	
		3	5.21	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-10 ระดับพีเอชของน้ำหมักที่ช่วงเวลาต่างๆ ระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ชั่วโมงที่	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	ระดับพีเอช	เฉลี่ย
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	4.75	4.77
		2	4.77	
		3	4.78	
	S. cerevisiae YRK 017	1	4.82	4.84
		2	4.85	
		3	4.86	
6	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	4.49	4.49
		2	4.49	
		3	4.48	
	S. cerevisiae YRK 017	1	4.50	4.51
		2	4.50	
		3	4.52	
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	3.66	3.65
		2	3.66	
		3	3.64	
	S. cerevisiae YRK 017	1	3.59	3.59
		2	3.58	
		3	3.59	
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	3.68	3.67
		2	3.66	
		3	3.67	
	S. cerevisiae YRK 017	1	3.38	3.38
		2	3.38	
		3	3.38	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่	จุลินทรีย์	ซ้ำที่	ระดับพีเอช	เฉลี่ย
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	3.85	3.85
		2	3.84	
		3	3.85	
	S. cerevisiae YRK 017	1	3.72	3.71
		2	3.71	
		3	3.70	
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1	3.99	3.98
		2	3.97	
		3	3.97	
	S. cerevisiae YRK 017	1	3.70	3.70
		2	3.70	
		3	3.69	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-11 การตรวจวิเคราะห์ค่า NDF, ADF และ ADL ของตัวอย่างชานอ้อยที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์และชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1

	ชานอ้อยที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์	ชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1
NDF (ร้อยละ)	40.84	81.48
ADF (ร้อยละ)	25.68	54.77
ADL (ร้อยละ)	4.09	7.78

หมายเหตุ: NDF คือ ค่าผลรวม (ร้อยละ) ของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในตัวอย่าง

ADF คือ ค่าผลรวม (ร้อยละ) ของเซลลูโลสและลิกนินในตัวอย่าง

ADL คือ ลิกนิน (ร้อยละ) ในตัวอย่าง

ตารางที่ ง-12 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในตัวอย่างชานอ้อยที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์และชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1

	ชานอ้อยที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์	ชานอ้อยที่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1
เซลลูโลส (ร้อยละ)	21.59	46.99
เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)	15.16	26.71
ลิกนิน (ร้อยละ)	4.09	7.78

หมายเหตุ: เมื่อค่า NDF, ADF และ ADL ที่ใช้ในการคำนวณมาจากตารางที่ ง-11

เมื่อเซลลูโลส (ร้อยละ) = ADF – ADL

เมื่อเฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ) = NDF – ADF

เมื่อลิกนิน (ร้อยละ) = ADL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์

ตารางที่ จ-1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับน้ำกลั่น สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังวัตต์ต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6101.619	8	762.702	591.602	0.000
Within Groups	23.206	18	1.289		
Total	6124.824	26			

Duncan[a]

สารเคมีและกำลังไฟ (วัตต์)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1% NaOH : 400 วัตต์	3	3.9524				
1% NaOH : 80 วัตต์	3	5.2746	5.2746			
1% NaOH : 240 วัตต์	3	5.4000	5.4000			
น้ำกลั่น : 240 วัตต์	3		6.1968			
น้ำกลั่น : 400 วัตต์	3		6.3508			
น้ำกลั่น : 80 วัตต์	3		6.3937			
1 % H_2SO_4 : 80 วัตต์	3			11.4476		
1 % H_2SO_4 : 240 วัตต์	3				28.4365	
1 % H_2SO_4 : 400 วัตต์	3					51.2937
Sig.		0.156	0.291	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.074	2	15.037	1.391	0.319
Within Groups	64.855	6	10.809		
Total	94.929	8			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ โดยปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	3	53.1143
2	3	55.1746
3	3	57.5873
Sig.		.158

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-3 ปริมาณสารพิษที่เกิดขึ้นจากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ANOVA

ปริมาณสารพิษ (กรัมต่อลิตร)

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
เฟอร์ฟูรัล	Between Groups	0.000	2	0.000	168.176	0.000
	Within Groups	0.000	6	0.000		
	Total	0.000	8			
ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล	Between Groups	0.000	2	0.000	1487.757	0.000
	Within Groups	0.000	6	0.000		
	Total	0.000	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณเฟอร์ฟูรัล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ โดยปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	3	0.000000000	
2	3	0.000023533	
3	3		0.000615000
Sig.		0.559	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ โดยปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	3	0.013200		
2	3		0.016067	
3	3			0.025100
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-4 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

Independent Samples Test (น้ำตาลซูโครส)

		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)	Lower	Upper
ปริมาณน้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	Equal variances assumed	4.000	0.116	763.142	4	0.000	21.94985	22.11015
	Equal variances not assumed			763.142	2.000	0.000	21.90579	22.15421

Independent Samples Test (น้ำตาลกลูโคส)

		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)	Lower	Upper
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	Equal variances assumed	0.034	0.863	-287.953	4	0.000	-15.86484	-15.56183
	Equal variances not assumed			-287.953	3.937	0.000	-15.86581	-15.56086

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test (น้ำตาลฟรุกโตส)

		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)	Lower	Upper
ปริมาณน้ำตาลฟรุกโตส (กรัมต่อลิตร)	Equal variances assumed	0.303	0.612	-262.424	4	0.000	-14.57930	-14.27403
	Equal variances not assumed			-262.424	3.848	0.000	-14.58170	-14.27163

ตารางที่ จ-5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่ถูกใช้โดย *S. cerevisiae* TISTR 5088

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6586.618	5	1317.324	37259.310	0.000
Within Groups	0.424	12	0.035		
Total	6587.042	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
48	3	1.2500			
36	3	1.3600			
24	3	1.4433			
12	3		10.8033		
6	3			40.2033	
0	3				46.7333
Sig.		0.254	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่ถูกใช้โดย *S. cerevisiae* YRK 017

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5665.627	5	1133.125	2934.038	0.000
Within Groups	4.634	12	0.386		
Total	5670.261	17			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
48	3	1.3933			
36	3	1.5133			
24	3	1.8800			
12	3		18.0600		
6	3			34.9300	
0	3				46.2333
Sig.		0.380	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-6 ปริมาณเอทานอลจากกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ที่ผลิตโดย *S. cerevisiae* TISTR 5088

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	200.956	5	40.191	2805.120	0.000
Within Groups	0.172	12	0.014		
Total	201.128	17			

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	0.0000					
6	3		1.5733				
12	3			6.5133			
48	3				7.5700		
36	3					8.1500	
24	3						8.5100
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ที่ผลิตโดย *S. cerevisiae* YRK 017

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	175.732	5	35.146	3890.742	0.000
Within Groups	0.108	12	0.009		
Total	175.840	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	0.0000					
6	3		1.6133				
12	3			6.2167			
48	3				7.0500		
36	3					7.4500	
24	3						8.2367
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-7 ปริมาณเอทานอลจากกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Independent Samples Test (T-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)	Lower	Upper
ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	Equal variances assumed	0.023	0.887	1.880	4	0.133	-0.1303931	0.6770598
	Equal variances not assumed			1.880	3.998	0.133	-0.1304671	0.6771337

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-8 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* YRK 017 ในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	90.137	5	18.027	2049.872	0.000
Within Groups	0.106	12	.009		
Total	90.243	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.1033			
6	3		1.1300		
12	3			5.1500	
24	3			5.3100	5.3100
48	3				5.3900
36	3				5.4233
Sig.		1.000	1.000	0.059	0.184

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	79.858	5	15.972	1204.892	0.000
Within Groups	0.159	12	0.013		
Total	80.017	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.0900			
6	3		0.8767		
12	3			2.6233	
24	3				5.0500
36	3				5.1633
48	3				5.1867
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.191

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-9 ตารางแสดงระดับพีเอชของน้ำหมักที่ช่วงเวลาต่างๆ ระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการพรีทรีทเมนต์และย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

พีเอชของน้ำหมักที่ใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.153	5	0.631	5675.880	0.000
Within Groups	0.001	12	0.000		
Total	3.155	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พีเอชของน้ำหมัก

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
12	3	3.6533				
24	3	3.6700				
36	3		3.8467			
48	3			3.9767		
6	3				4.4867	
0	3					4.7667
Sig.		0.077	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

พีเอชของน้ำหมักที่ใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.060	5	1.012	8279.282	0.000
Within Groups	0.001	12	0.000		
Total	5.061	17			

พีเอชของน้ำหมัก

Duncan[a]

ชั่วโมง	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
24	3	3.3800				
12	3		3.5867			
48	3			3.6967		
36	3			3.7100		
6	3				4.5067	
0	3					4.8433
Sig.		1.000	1.000	.165	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้