การปรับสภาพผักตบชวาและการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอล

PRETREATMENT AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WATER HYACINTH (*Eichhornia crassipes*) FOR BIOETHANOL PRODUCTION

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข
ATCHARAPORN JONGMEESUK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2558

KMITL-2015-SC-M-020-076

การปรับสภาพผักตบชวาและการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอล

PRETREATMENT AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WATER HYACINTH (*Eichhornia crassipes*) FOR BIOETHANOL PRODUCTION

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข
ATCHARAPORN JONGMEESUK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2558

KMITL-2015-SC-M-020-076

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRETREATMENT AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WATER HYACINTH (*Eichhornia crassipes*) FOR BIOETHANOL PRODUCTION

ATCHARAPORN JONGMEESUK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2015

KMITL-2015-SC-M-020-076

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2015
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ "การปรับสภาพผักตบชวาและการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอล"
"PRETREATMENT AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WATER HYACINTH (*EICHHORNIA CRASSIPES*) FOR BIOETHANOL PRODUCTION"

ชื่อนักศึกษา นางสาวอัจฉราภรณ์ จงมีสุข
รหัสประจำตัว 55651602
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา ชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์บัณฑิตประจำ (ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง)	
ผศ.ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกสถาบันฯ	
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	

วัน/ เดือน/ ปี ที่สอบ 16 ธันวาคม พ.ศ. 2558 เวลา 11.00 - 13.00 น.
สถานที่สอบ ณ ห้อง 439 ตึกจุฬาภรณ์ 1

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
วันที่ 23 **เดือน** ธ.ค. **พ.ศ.** 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การปรับสภาพผักตบชวาและการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอล
นักศึกษา	นางสาวอัจฉราภรณ์ จงมีสุข
รหัสประจำตัว	55651602
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์

บทคัดย่อ

ผักตบชวาเป็นวัชพืชน้ำที่เจริญเติบโตได้รวดเร็วและเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน สามารถนำมาย่อยเป็นน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อผลิตเป็นไบโอเอทานอลได้ โดยนำผักตบชวามาปั่นให้ละเอียดและอบแห้ง จากนั้นนำมาปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 0 2.0 2.5 และ 3.0 โดยปริมาตรและโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0 2.0 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่าการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.0 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 15.63 และ 2.35 กรัมต่อลิตรตามลำดับ นำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกมากำจัดความเป็นพิษโดยใช้เบสในการปรับพีเอช ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเพียงร้อยละ 6.55 ไฮโดรไลเซทส่วนกากนำมาวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส พบว่าการใช้กรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.0 ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดร้อยละ 15.36 และ 17.58 ตามลำดับ จากนั้นศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยโดยใช้เอนไซม์ ACCELLERASE 1500 พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 11.95 กรัมต่อลิตร จากนั้นทำการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 *Candida shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสมในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยใช้อาหาร 3 สูตร ดังนี้ สูตรที่ 1 ส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ สูตรที่ 2 ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วยเอนไซม์และสูตรที่ 3 ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ ทำการหมักในสภาวะให้อากาศใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก หลังจากนั้นหมักแบบไร้อากาศอีก 48 ชั่วโมง พบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้สูงสุดในอาหารไฮโดรไลเซทสูตรที่ 2 (ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วยเอนไซม์) มีปริมาณเอทานอล 3.82 กรัมต่อลิตร ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท ($Y_{P/S}$) 0.393 กรัมต่อกรัมและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล 0.304 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

คำสำคัญ : *Candida shehatae* ATCC 22984 *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ผักตบชวา ลิกโนเซลลูโลส เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for Bioethanol Production
Student Name	Atcharaporn Jongmeesuk
Student ID	55651602
Degree	Master of Science
Department	Biology
Year	2015
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul
Thesis Co-advisor	Dr. Vorapat Sanguanchaipaiwong

Abstract

Water hyacinth (WH) is a noxious aquatic weed which grows fast and is a lignocellulosic material containing cellulose, hemicellulose and lignin. This research focused on the utilization of WH to produce reducing sugars for bioethanol production. The WH was milled and dried, followed by pretreatment with 0, 2.0, 2.5 and 3.0 % v/v sulfuric acid and 0, 2.0, 2.5 and 3.0 % w/v sodium hydroxide. After heating in an autoclave 121°C 15 minutes, it was found that using 2.0 % v/v sulfuric acid and 2.0 % w/v sodium hydroxide provided the highest reducing sugar concentrations of 15.63 and 2.35 g/L, respectively. The acid WH hydrolysate (liquid) was detoxified with $Ca(OH)_2$, the results showed that the loss of reducing sugar was only 6.55 %. The WH hydrolysate (precipitate) was analyzed for lignocelluloses. Pretreatment with 2.0 % sulfuric acid and sodium hydroxide provided the highest cellulose component of 15.36 and 17.58 %, respectively. In addition, enzyme loading and time were studied for the optimization of reducing sugar production. The WH hydrolysate (precipitate) hydrolyzed with ACCELLERASE 1500, enzyme loading at 0.30 ml/g WH and incubated at 50°C for 48 h produced the highest reducing sugar of 11.95 g/L. The ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017, *Candida shehatae* ATCC 22984 and co-culture (ratio 1:1) was studied using 3 different medium formular; (1) The hydrolysated (liquid) pretreated with acid and detoxified, (2) The hydrolysated (precipitate) pretreated with acid and enzyme hydrolyzed and (3) The hydrolysated (precipitate) pretreated with sodium hydroxide and enzyme hydrolyzed. Aerobic fermentation was carried on for 24 h., followed by the anaerobic fermentation for 48 h. The result showed that fermentation in medium formular (2), *S. cerevisiae* YRK 017 produced the highest ethanol concentration 3.82 g/L, $Y_{P/S}$ (0.393 g/g) and $P_{ethanol}$ (0.304 g/L/h).

Keywords : *Candida shehatae* ATCC 22984, *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017, water hyacinth, lignocellulose, ethanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งวิทยานิพนธ์นี้สามารถประสบความสำเร็จได้เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ ข้อเสนอแนะตลอดจนแนวทางในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ พร้อมทั้งอำนวยความสะดวกและคอยสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์นี้และขอขอบพระคุณ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาเสียสละเวลาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการสอบและขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกสถาบัน จากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่กรุณาเสียสละเวลาให้คำปรึกษาและแนวทางการปฏิบัติงาน ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัยรวมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดทำวิทยานิพนธ์นี้ได้เป็นอย่างดีและขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนด้านงบประมาณ อุปกรณ์และห้องปฏิบัติการที่ใช้ทำการทดลอง ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยเป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆ สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดามารดาและครอบครัวที่ให้การสนับสนุนอีกทั้งเป็นกำลังใจที่สำคัญตลอดมา ตลอดจนผู้ที่มิได้กล่าวมา ณ ที่นี้ที่ได้มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี ซึ่งข้าพเจ้าเชื่อมั่นว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์อย่างมากในอนาคต จึงขออุทิศวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เป็นแหล่งค้นคว้าอ้างอิงความรู้เกี่ยวกับการผลิตไบโอเอทานอลและอาจนำไปประยุกต์หรือพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อเป็นพลังงานทดแทนในอนาคตต่อไป

อัจฉราภรณ์ จงมีสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 เอทานอล (Ethanol)	4
2.1.1 คุณสมบัติของเอทานอล	5
2.1.2 ประเภทของเอทานอล	5
2.1.3 การใช้ประโยชน์ของเอทานอล	6
2.1.4 แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล	6
2.2 ผักตบชวา (Water Hyacinth)	9
2.2.1 ถิ่นกำเนิดและการแพร่กระจายของผักตบชวา	9
2.2.2 ลักษณะทั่วไปของผักตบชวา	10
2.2.3 ส่วนประกอบของผักตบชวา	10
2.3 เซลลูโลส	11
2.4 เฮมิเซลลูโลส	12
2.4.1 ประโยชน์ของเฮมิเซลลูโลส	12
2.5 ลิกนิน	13
2.5.1 ประโยชน์ของลิกนิน	13
2.6 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่เป็นเซลลูโลส	14
2.6.1 การปรับสภาพวัตถุดิบ	14
2.6.2 การย่อยหรือไฮโดรไลซิส	16
2.6.2.1 การย่อยด้วยสารเคมี	16
2.6.2.2 การย่อยด้วยเอนไซม์	19
2.6.2.3 เอนไซม์ ACCELLERASE 1500	21
2.6.3 การหมักเพื่อผลิตเอทานอล	22
2.6.3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล	22
2.7 ลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.8 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	27
2.9 เชื้อยีสต์ *Candida shehatae*	28
2.10 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเฮกโซสโดยเชื้อยีสต์	29
2.11 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเพนโตสโดยเชื้อยีสต์	30
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	31
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	34
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	34
3.2 สารเคมี	34
3.3 อุปกรณ์	35
3.4 ขั้นตอนการดำเนินการ	36
3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง	36
3.4.2 การปรับสภาพผักตบชวา	36
3.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ในส่วนของกากผักตบชวาภายหลังการปรับสภาพด้วยกรดและเบส	37
3.4.4 การกำจัดความเป็นพิษจากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริก	40
3.4.5 การศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	41
3.4.6 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอล	41
3.4.7 การวิเคราะห์ผล	43
3.4.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ	43
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	44
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	66
บรรณานุกรม	68
ภาคผนวก	74
ภาคผนวก ก	74
ภาคผนวก ข	75
ภาคผนวก ค	79
ภาคผนวก ง	83
ภาคผนวก จ	127
ประวัติผู้เขียน	164

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	22
ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาโดยการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ	44
ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาโดยการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ	45
ตารางที่ 4.3 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ	46
ตารางที่ 4.4 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ	48
ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ก่อนและหลังการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2	49
ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	50
ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	51
ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	52
ตารางที่ 4.9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	54
ตารางที่ 4.10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	55
ตารางที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวและส่วนกากผักตบชวาที่ผ่านกระบวนการต่างๆ	56
ตารางที่ 4.12 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสมในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่ 1)	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.13 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกาก ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 2)	59
ตารางที่ 4.14 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C.shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกาก ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 3)	62
ตารางที่ 4.15 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลในอาหาร 3 สูตร หมักโดยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC22984 และเชื้อผสม	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 การเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลโดยการหมักของยีสต์	4
2.2 โครงสร้างของเอทานอล	5
2.3 การหมักเอทานอลจากน้ำตาลซูโครส	7
2.4 การหมักเอทานอลจากแป้ง	7
2.5 โครงสร้างในเซลล์พืชซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน	8
2.6 การผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบทางการเกษตร	8
2.7 (ก) ลักษณะลำต้นของผักตบชวา (ข) ลักษณะของผักตบชวาในแหล่งน้ำธรรมชาติ	9
2.8 (ก) ลักษณะลำต้นของผักตบชวา (ข)ลักษณะใบของผักตบชวา (ค)ลักษณะดอกของผักตบชวา	10
2.9 ลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลกลูโคสในเซลลูโลส	12
2.10 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส	13
2.11 โครงสร้างของวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลส	13
2.12 การปรับสภาพตัวอย่างในการเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ	14
2.13 กระบวนการย่อยเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส	19
2.14 กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส	20
2.15 เซลล์ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*	27
2.16 เซลล์ของเชื้อ *Candida shehatae*	28
2.17 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเฮกโซสและน้ำตาลเพนโตส	31
4.1 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก ความเข้มข้นต่างๆ	47
4.2 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นต่างๆ	48
4.3 ปริมาณเอทานอลในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 และผ่านการกำจัดความเป็นพิษ (สูตรที่ 1) ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	58
4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 2) ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	59
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 2) ด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	60
4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 2) ด้วยเชื้อผสมเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	61
4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 3) ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	62
4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 3) ด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	63
4.9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 3) ด้วยเชื้อผสมเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากการที่ทรัพยากรด้านปิโตรเลียมได้ลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ราคาน้ำมันในตลาดโลกมีความผันผวนและปรับตัวสูงขึ้น ประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่ได้รับผลกระทบจากสภาวะน้ำมันแพงเพราะต้องสูญเสียเงินจำนวนมากในการนำเข้าเชื้อเพลิงจากต่างประเทศ จึงทำให้มีการส่งเสริมหาพลังงานทดแทนมาใช้โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากพลังงานหมุนเวียน (Renewable energy) ที่สามารถหาได้จากในท้องถิ่นซึ่งหนึ่งในนั้นก็คือ พลังงานชีวมวล (Bio-energy) ซึ่งเป็นพลังงานที่ได้จากอินทรีย์สารของพืชและสัตว์ต่างๆ ได้แก่ พืชเกษตรกรรม วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม เศษไม้ ขยะมูลฝอย เป็นต้น โดยใช้กระบวนการแปรรูปชีวมวลไปเป็นพลังงานรูปแบบต่างๆ อีกทั้งประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมดังนั้นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจึงมีจำนวนมากและราคาถูก โดยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ส่วนใหญ่จัดเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว กากชานอ้อย ซังข้าวโพด เป็นต้น

เอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน ซึ่งผลิตได้จากการหมักน้ำตาลหรือแป้ง (Fermentations) และสามารถสังเคราะห์ได้จากอนุพันธ์ของสารปิโตรเลียม (Synthesis) โดยพบว่าร้อยละ 90 ได้มาจากกระบวนการหมัก ขั้นตอนหลักในการผลิตเอทานอลจะประกอบด้วย 4 ขั้นตอนคือ 1 การเตรียมวัตถุดิบ 2 การย่อยแป้ง 3 การเตรียมหัวเชื้อและการหมัก 4 การกลั่นเอทานอล สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งออกได้ 3 ประเภท คือ วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ อ้อย บีทรูท กากน้ำตาลและผลไม้ ซึ่งวัตถุดิบประเภทนี้สามารถเข้าสู่กระบวนการผลิตเอทานอลได้โดยตรง วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลีและมันสำปะหลัง ซึ่งจะต้องถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลก่อนจะเข้าสู่กระบวนการผลิตเอทานอลและวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด ไม้เนื้ออ่อน หญ้าแฝก ผักตบชวา เป็นต้น การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ที่มีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินเป็นองค์ประกอบจะต้องผ่านการย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ให้เป็นน้ำตาลก่อนแล้วจึงนำมาหมักด้วยจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล โดยทั่วไปเอทานอลจะผลิตจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลและแป้ง แต่เนื่องจากต้นทุนที่มีราคาสูงและวัตถุดิบเหล่านี้สามารถนำไปผลิตเป็นสินค้าอื่นได้ เช่น นำไปเป็นอาหารซึ่งถือว่ามีประโยชน์มากกว่า นอกจากนี้การที่วัตถุดิบเหล่านี้มีปริมาณมาก มีราคาถูกและส่วนใหญ่เป็นของเหลือทิ้งซึ่งถ้าปล่อยไปตามธรรมชาติจะก่อให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดล้อมจึงมีความสนใจที่จะผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส

ผักตบชวา (Water Hyacinth) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms อยู่ในวงศ์ (Family) *Pontederiaceae* เป็นวัชพืชที่มีถิ่นกำเนิดในแถบลุ่มน้ำอะเมซอนประเทศบราซิล สำหรับประเทศไทยผักตบชวาได้แพร่ระบาดอย่างรุนแรงในแถบที่ราบลุ่มภาคกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเฉพาะในที่ราบลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีน ผักตบชวาเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และเป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดปัญหาต่างๆที่เกี่ยวข้องกับแหล่งน้ำ เนื่องจากผักตบชวาเป็นพืชที่สามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็วจึงทำให้กำจัดได้ยากเป็นสาเหตุให้การไหลถ่ายเทของน้ำช้าลงและยังกีดขวางการคมนาคมทางน้ำอีกด้วย ปัญหาจากผักตบชวาต่อด้านต่างๆ เช่น ปัญหาต่อการชลประทาน การไฟฟ้าพลังงานน้ำ การประมง การกสิกรรมและการสาธารณสุข เป็นต้น สำหรับประเทศไทยได้มีการเริ่มกำจัดผักตบชวามาตั้งแต่สมัยรัชกาลที่ 6 โดยมีการออกพระราชบัญญัติสำหรับกำจัดผักตบชวา พ.ศ. 2456 จากเหตุผลดังกล่าวที่ผักตบชวาส่งผลเสียหลายด้านและก่อให้เกิดปัญหากับประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่องจึงมีแนวคิดที่จะนำผักตบชวามาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์เพื่อเป็นการลดต้นทุนและก่อให้เกิดผลดีต่อสิ่งแวดล้อมเป็นการกำจัดผักตบชวาได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยการนำมาผลิตเป็นไบโอเอทานอลซึ่งเป็นแหล่งพลังงานทดแทนทางเลือกหนึ่งสอดคล้องกับแนวพระราชดำริในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ ด้านการพัฒนาพลังงานทดแทนเพื่อลดการนำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงจากต่างประเทศ ผักตบชวามีองค์ประกอบของเซลลูโลสร้อยละ 60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 8 และลิกนินร้อยละ 17 ซึ่งพืชชนิดนี้เป็นแหล่งลิกโนเซลลูโลส สามารถนำมาผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อหมักเอทานอล น้ำตาลไซลิทอล กรดอินทรีย์และสารเคมีชนิดต่างๆได้ (Xia และ Sheng, 2004 ; Chen และคณะ, 2008) ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตไบโอเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส คือ ระหว่างกระบวนการย่อยสลายเพื่อให้ได้น้ำตาล เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบของวัตถุดิบประเภทนี้มีความสามารถในการละลายได้ต่ำ เนื่องจากโครงสร้างของสารเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน เชื่อมต่อกันด้วยพันธะที่แข็งแรงซึ่งยากต่อการย่อยสลาย (Boudet และคณะ, 2003) ดังนั้นการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทนี้จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อที่จะให้โครงสร้างเหล่านี้ถูกย่อยสลายได้ง่ายขึ้น การปรับสภาพชีวมวลสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ ทางเคมีและทางชีวภาพร่วมกับทางเคมี (Silverstein และคณะ, 2007) การปรับสภาพทางกายภาพเป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารชีวมวลโดยใช้วิธีทางกล ซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวและขนาดรูพรุนในการทำปฏิกิริยาของสารชีวมวลให้เพิ่มขึ้น (Souda และคณะ, 2009) ส่วนการปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับทางเคมีเพื่อลดดีกรีของการเกิดผลึก (Degree of crystallinity) และการพอลีเมอร์ไรเซชัน (Polymerization) ของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (Binod และคณะ, 2010)

จุลินทรีย์ที่นำมาใช้หมักจะต้องมีคุณสมบัติในการหมักน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) และสารยับยั้งที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ จุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในการหมักเอทานอล คือ *Saccharomyces cerevisiae* แต่เนื่องจาก *S. cerevisiae* ไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโตสซึ่งมีอยู่ในวัตถุดิบประเภทนี้ประมาณร้อยละ 45 จุลินทรีย์ที่สามารถหมักน้ำตาลไซโลสได้ได้แก่ *Candida shehatae Pichia stipitis* และ *Pachysolen tannophilus* (Kumar และคณะ, 2009 ; Ganguly และคณะ, 2012) โดยมีการทดลองของ Chartchalerm และคณะ (2007) ซึ่งได้ศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาโดยใช้ *Candida shehatae* จากการทดลองพบว่า เมื่อนำผักตบชวาที่ผ่านการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกมาหมักเอทานอลได้ผลผลิตของเอทานอลเท่ากับ 0.19 กรัมของผลิตภัณฑ์ต่อกรัมของสับสเตรทและประสิทธิภาพการผลิตเท่ากับ 0.008 กรัมของผลิตภัณฑ์ต่อลิตรต่อชั่วโมง

ในการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1500 และทำการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 และ *Candida shehatae* ATCC 22984 เพื่อผลิตเอทานอล รวมทั้งศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ (Kinetic) ของกระบวนการหมักเอทานอล

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการปรับสภาพ (Pretreatment) ผักตบชวาโดยการใช้กรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อให้ผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูง
2. เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500
3. เพื่อนำผักตบชวาซึ่งเป็นวัชพืชทางน้ำมาใช้ในการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 *Candida shehatae* ATCC 22984 และการใช้เชื้อผสมทั้ง 2 ชนิด

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกและความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมในการปรับสภาพผักตบชวาเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง
2. ศึกษาระยะเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่เหมาะสมในการย่อยผักตบชวาเพื่อให้ผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูง
3. นำผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดและเบสและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มาหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 เชื้อ *Candida shehatae* ATCC 22984 และการใช้เชื้อผสมทั้ง 2 ชนิด เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้รวมทั้งทำการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถหาวิธีการที่เหมาะสมในการปรับสภาพผักตบชวา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากสารพวกลิกโนเซลลูโลส โดยใช้วิธีการที่สามารถลดปริมาณลิกนิน เนื่องจากลิกนินเป็นตัวขัดขวางการย่อยทำให้การหมักเอทานอลมีประสิทธิภาพลดลง จากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาล ซึ่งเชื้อยีสต์จะนำน้ำตาลเหล่านี้ไปใช้เป็นสับสเตรทในกระบวนการหมักเอทานอลต่อไป
2. สามารถนำผักตบชวาซึ่งเป็นวัชพืชน้ำมาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักเอทานอล เนื่องจากผักตบชวาเป็นวัชพืชที่เพิ่มปริมาณได้รวดเร็วมาก ทำให้ได้ไบโอเอทานอลซึ่งเป็นพลังงานสะอาดที่ได้จากชีวมวล เป็นการช่วยลดมลภาวะทางน้ำและลดต้นทุนในการผลิตเอทานอล
3. สามารถผลิตไบโอเอทานอลเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนการใช้น้ำมัน ที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและลดปัญหามลภาวะทางสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้น้ำมันลงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอทานอล (Ethanol)

เอทานอล (Ethanol) หรือที่เรียกว่าเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) หรือเกรนแอลกอฮอล์ (Grain alcohol) หรือแอลกอฮอล์ เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี จุดติดไฟและระเหยง่าย สามารถละลายได้ในน้ำและสารละลายอื่นๆ สูตรทางเคมี คือ C_2H_5OH

เอทานอลสามารถผลิตได้ 2 วิธี คือ การสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical synthesis) และการหมักโดยจุลินทรีย์ (Yeast fermentation) ปัจจุบันเอทานอลที่ผลิตส่วนใหญ่จะได้จากกระบวนการทางชีวภาพที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์โดยคิดเป็นร้อยละ 95 ของปริมาณเอทานอลทั้งหมด ส่วนปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีมีปริมาณน้อยมากโดยคิดเป็นร้อยละ 5 ของปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ทั้งหมดในโลก (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2549)

เอทานอลที่ผลิตจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี เป็นการผลิตจากอนุพันธ์สารปิโตรเลียม เช่น เอทิลีน เป็นต้น เริ่มผลิตครั้งแรกในปี พ.ศ. 2404 โดยในระยะแรกเป็นการผลิตจากปฏิกิริยาทางอ้อมของเอทิลีน ซึ่งทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกได้เอทิลซัลเฟต จากนั้นจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้เอทานอล ซึ่งเทคโนโลยีการหมักเอทานอลได้รับการพัฒนาขึ้นประกอบกับกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีมีราคาต้นทุนวัตถุดิบที่สูงและกระบวนการผลิตค่อนข้างยุ่งยาก ทำให้ในปัจจุบันปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีมีปริมาณน้อยมาก

เอทานอลที่ผลิตจากกระบวนการหมัก เป็นการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลโดยกระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลเป็นอาหารและเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล โดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) ในสภาวะไม่มีออกซิเจน ซึ่งตามทฤษฎีแล้วในกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคสของยีสต์นั้น น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 100 จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.89 และเอทานอลร้อยละ 51.11 โดยน้ำหนัก นอกจากนั้นยังมีพลังงานความร้อนเกิดขึ้นอีก 28.7 กิโลแคลอรี่ ดังแสดงในสมการ

$$\underset{\text{(กลูโคส)}}{C_6H_{12}O_6} + \text{ยีสต์} \longrightarrow \underset{\text{(เอทานอล)}}{2C_2H_5OH} + \underset{\text{(คาร์บอนไดออกไซด์)}}{2CO_2} + 28.7\ \text{Kcal}$$

รูปที่ 2.1 การเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลโดยการหมักของยีสต์
ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2549)

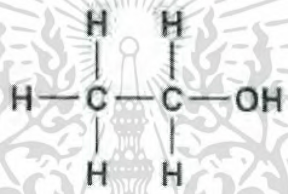
แต่ในทางปฏิบัติจะเกิดการสูญเสียได้เป็นสารประกอบอื่นๆ หรือใช้ในการสร้างเซลล์ของยีสต์มีน้ำตาลเพียงร้อยละ 95 เท่านั้นที่จะสามารถถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ส่วนที่เหลือยีสต์จะใช้สำหรับการเจริญเติบโตและเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการหมักน้ำตาลด้วยเชื้อยีสต์แล้ว น้ำหมักที่ได้จะผ่านเข้าสู่กระบวนการกลั่นเพื่อทำให้เอทานอลมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น ในระหว่างการกลั่นนี้ผลิตภัณฑ์อื่นที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักจะถูกแยกออกไป เอทานอลที่เข้มข้นขึ้นนี้จะถูกส่งต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังกระบวนการกำจัดน้ำ เพื่อทำให้ได้เอทานอลบริสุทธิ์ที่ไร้น้ำ (Anhydrous ethanol) ที่เข้มข้นมากกว่าร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร (กล้าณรงค์ และคณะ, 2544)

2.1.1 คุณสมบัติของเอทานอล (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2529)

1) มีเนื้อแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 99.8 โดยทั่วไปมีน้ำเจือปนไม่เกินร้อยละ 5
2) เป็นสารละลายไม่มีสี ระเหยง่าย
3) จุดเดือด 78.32 องศาเซลเซียส
4) ความถ่วงจำเพาะ 1.794 ที่ 60 องศาเซลเซียส
5) จุดเยือกแข็ง -117.3 องศาเซลเซียส
6) ให้พลังงานความร้อน (Calorific Value) 12,800 Btu/lb
7) สามารถละลายในน้ำและสารอินทรีย์ได้ดี เช่น เมทานอล คลอโรฟอร์ม เป็นต้น



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเอทานอล
ที่มา : มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2529)

2.1.2 ประเภทของเอทานอล

เอทานอลที่ใช้อุปโภคบริโภคกันอยู่ทุกวันนี้ มีอยู่หลายประเภท เช่น ใช้เป็นเครื่องดื่ม ใช้ในด้านการแพทย์และอื่นๆ อีกมากมาย ซึ่งสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ได้จัดแบ่งประเภทของเอทานอลเป็น 4 ประเภท คือ

1. Denature alcohol (88.0 °GL) เป็นเอทานอลที่ใช้สำหรับการให้ความร้อนและแสงสว่าง
2. Fine alcohol (96.0-96.5 °GL) เป็นเอทานอลที่ใช้ในด้านการแพทย์ เภสัชกรรม การผลิตเครื่องสำอางและเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม
3. Industrial alcohol (96.5 °GL) เป็นเอทานอลที่ใช้สำหรับในทางอุตสาหกรรม ใช้เป็นสารรีเอเจนต์ในห้องปฏิบัติการ
4. Absolute alcohol หรือ Anhydrous alcohol (99.7-99.8 °GL) เป็นเอทานอลที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงในการเผาไหม้ในเครื่องยนต์

ซึ่ง °GL หมายถึง The degree Gay-Lussac ซึ่งสามารถวัดค่านี้ได้โดยใช้เครื่องไฮโดรมิเตอร์ ซึ่งจะอ่านเป็นร้อยละโดยปริมาตรของเอทิลแอลกอฮอล์ในส่วนผสมของเอทิลแอลกอฮอล์ต่อน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 การใช้ประโยชน์ของเอทานอล

เอทานอลเป็นสารเคมีที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น

1. ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารอินทรีย์หลายชนิด เช่น เอทิลอีเทอร์ เอทิลเอสเทอร์ เอทิลีน อะซิทัลดีไฮด์

2. ใช้เป็นสารละลายหรือสารสกัดในการผลิตแลกเกอร์ อีนาเมล วานิช และเครื่องสำอาง

3. ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหาร ยา เครื่องดื่ม เช่น ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อโรคในทางการแพทย์ ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารและเครื่องดื่มที่นิยมกันทั่วไป คือ สุรา เบียร์และไวน์ เป็นต้น (เทพปัญญา, 2545)

4. ใช้เป็นแหล่งเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมได้ มี 2 ชนิด คือ เมทานอลและเอทานอล ส่วนแอลกอฮอล์อื่น เช่น บิวทานอล ก็สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ ซึ่งให้ค่าความร้อนสูงกว่าเอทานอลและเมทานอลแต่มีต้นทุนในการผลิตสูงกว่า

เอทานอลมีสมบัติเป็นเชื้อเพลิงโดยสามารถใช้ทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมหรือใช้ผสมในน้ำมันเบนซินหรือน้ำมันดีเซล เอทานอลร้อยละ 99.9 ใช้ผสมในน้ำมันเบนซินได้ถึงร้อยละ 20 โดยไม่ต้องมีการปรับแต่งเครื่องยนต์ ซึ่งจะให้คุณสมบัติเป็นสารเพิ่มปริมาณออกซิเจนและเพิ่มค่าออกเทน รวมทั้งสามารถทดแทนน้ำมันเบนซินได้บางส่วน น้ำมันเบนซินที่ผสมเอทานอล เรียกว่า ก๊าซโซฮอล์ ส่วนน้ำมันดีเซลสามารถใช้เอทานอลร้อยละ 95 ผสมในอัตราส่วนร้อยละ 15 แต่ต้องมีการปรับแต่งเครื่องยนต์ น้ำมันดีเซลที่ผสมเอทานอล เรียกว่า ดีโซฮอล์ ข้อดีของเอทานอล คือ มีส่วนผสมของออกซิเจน ซึ่งในน้ำมันปิโตรเลียมไม่มี ดังนั้นเมื่อผสมเอทานอลในน้ำมันปิโตรเลียมเพื่อใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง นอกจากจะใช้เป็นสารทดแทนปิโตรเลียมบางส่วนแล้ว ยังมีสมบัติเป็นสารเติมออกซิเจนและเพิ่มค่าออกเทนด้วย นอกจากนี้ส่วนที่เหลือจากการเผาไหม้เมื่อออกสู่บรรยากาศจะมีปริมาณออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น ส่วนมลพิษจากไฮโดรคาร์บอน คาร์บอนมอนอกไซด์ ปริมาณฝุ่นและควันดำจะลดลง จึงจัดเป็นเชื้อเพลิงสะอาดอย่างหนึ่ง ในสภาวะที่น้ำมันปิโตรเลียมขาดแคลนและมีราคาแพงนี้ เอทานอลจึงสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงทดแทนได้เป็นอย่างดี

2.1.4 แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

เอทานอลสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบทางการเกษตรหลายชนิดแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่

1. วัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Saccharide material)

วัตถุดิบประเภทน้ำตาลที่ใช้ผลิตเอทานอล ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาลและบีทน้ำตาล ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลซูโครสที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ชนิดคือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโทส ในการหมักเอทานอลจากน้ำตาลซูโครสนั้นมีขั้นตอนดังนี้ คือ ขั้นแรกน้ำตาลซูโครสจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ได้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสอย่างละโมเลกุล จากนั้นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสจะถูกยีสต์เปลี่ยนไปเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์อย่างละ 4 โมเลกุล ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \xrightarrow{\text{ยีสต์}} C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 4C_2H_5OH + 4CO_2$$

(ซูโครส) (น้ำ) (กลูโคส) (ฟรุกโทส)

รูปที่ 2.3 การหมักเอทานอลจากน้ำตาลซูโครส
ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2549)

2. วัตถุดิบประเภทแป้ง (Starchy material)

วัตถุดิบประเภทแป้งที่ใช้ในการผลิตเอทานอลได้แก่ มันสำปะหลัง (ทั้งหัวมันสดและมันเส้น) ข้าวโพด ข้าวและเมล็ดข้าวฟ่าง เป็นต้น โดยแป้งเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสเมื่อนำแป้งมาผ่านกระบวนการย่อย (Hydrolysis) ด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสที่สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักเอทานอลได้ ปัจจุบันจะนิยมย่อยแป้งด้วยเอนไซม์มากกว่ากรด เนื่องจากสามารถควบคุมการย่อยได้ง่ายกว่าและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์มีความบริสุทธิ์มากกว่า การย่อยแป้งด้วยเอนไซม์จะประกอบด้วยการย่อย 2 ครั้ง คือ

การย่อยแป้งครั้งแรกหรือการทำให้แป้งเหลว (Liquefaction) ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) ย่อยแป้งที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า เด็กทรินซ์ (Dextrin)

การย่อยแป้งครั้งสุดท้ายหรือการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (Saccharification) ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) ย่อยเด็กทรินซ์ที่อุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส ให้ได้น้ำตาลกลูโคส ซึ่งยีสต์สามารถใช้หมักเป็นเอทานอลได้

$$(C_6H_{10}O_5)n + nH_2O \rightarrow nC_6H_{12}O_6$$

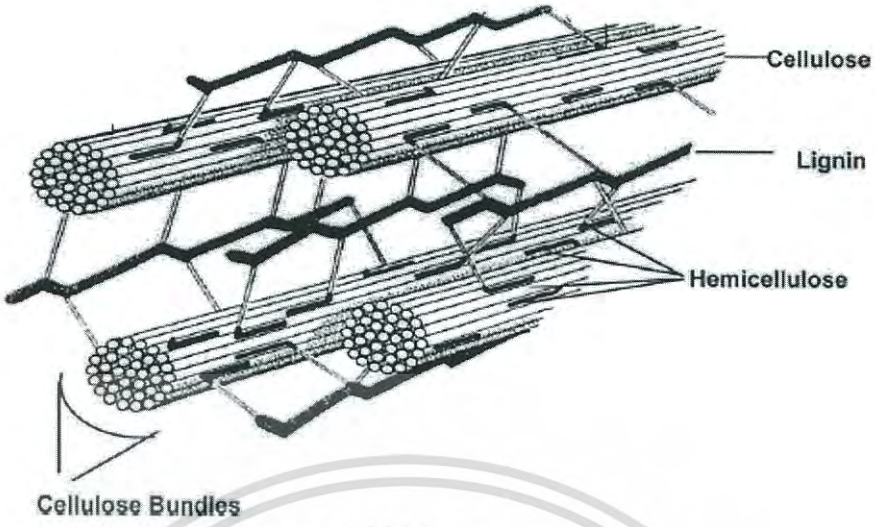
$$nC_6H_{12}O_6 \rightarrow 2nCH_3CH_2OH + 2nCO_2$$

รูปที่ 2.4 การหมักเอทานอลจากแป้ง
ที่มา : Evangelos และ Costas (2009)

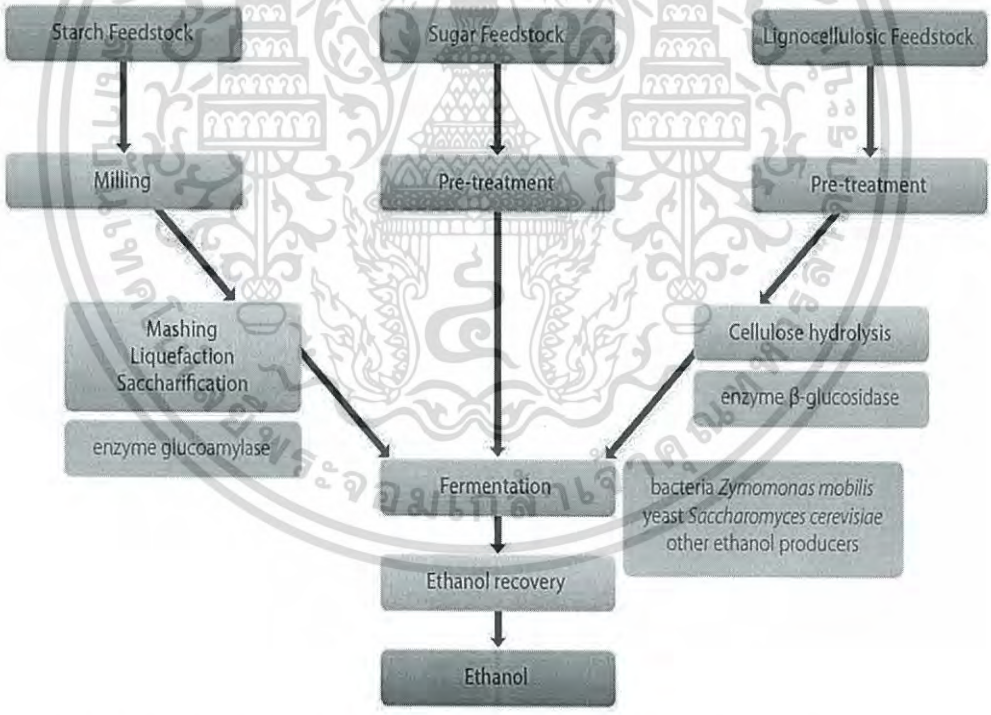
3. วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Linocellulosic material)

วัตถุดิบประเภทนี้มีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักและมีองค์ประกอบอื่นๆ คือ ลิกนิน โปรตีน เถ้าและสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ (Murphy, 2005) ส่วนมากเป็นผลพลอยได้จากเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร เช่น ฟางข้าว กากอ้อย ซังข้าวโพด ผักตบชวา หญ้าแฝกหรือเยื่อใยจากพืชชนิดต่างๆ (ธีรภัทร, 2543., อำนวย, 2548) วัสดุเหลือทิ้งจากโรงเลื่อย โรงงานทำกระดาษ กระดาษหนังสือพิมพ์ (เทพปัญญา, 2545) ส่วนใหญ่วัตถุดิบในกลุ่มนี้จะทนต่อการย่อยสลายอย่างมาก ลักษณะโครงสร้างของวัตถุดิบประเภทนี้แสดงดังรูปที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 โครงสร้างในเซลล์พืชซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน
ที่มา : Sun และ Cheng (2002)



รูปที่ 2.6 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบทางการเกษตรโดยกระบวนการหมัก
ที่มา : http://www.lentikats.eu/en/product-lines สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ผักตบชวา (Water Hyacinth)

(ก) (ข)

รูปที่ 2.7 (ก) ลักษณะลำต้นของผักตบชวา (ข) ลักษณะของผักตบชวาในแหล่งน้ำธรรมชาติ

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solm
ชื่อวงศ์ (Family)	Pontederiaceae
ชื่อสกุล	Eichhornia
ชื่อสามัญ	Water hyacinth
ชื่อไทย	ผักตบชวา ผักปอด สาระ ผักโรค ผักยะวา ผักอีโยก เป็นต้น

2.2.1 ถิ่นกำเนิดและการแพร่กระจายของผักตบชวา

ผักตบชวาเป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกาใต้ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศบราซิล ถึงแม้ว่าในปัจจุบันผักตบชวาจะเป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายทั่วโลกแต่ไม่เคยมีเอกสารทางพฤกศาสตร์เรื่องผักตบชวาปรากฏอยู่เลย จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2367 นักพฤกษศาสตร์และนายแพทย์ชาวเยอรมันชื่อ Karlvon Martius ได้ไปพบผักตบชวาขณะสำรวจพันธุ์พืชในประเทศบราซิล ในประเทศต่างๆแถบทวีปอเมริกาใต้ ผักตบชวาไม่ได้ก่อให้เกิดปัญหาใดๆ เนื่องจากมีแมลงศัตรูพืชและโรคต่างๆตามธรรมชาติคอยควบคุมการระบาด แต่เมื่อผักตบชวาถูกนำออกไปจากถิ่นกำเนิดจึงมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและก่อให้เกิดปัญหาต่างๆตามมา ประวัติการแพร่กระจายของผักตบชวาตามที่มีการบันทึกไว้ในปี พ.ศ. 2427 ได้ถูกนักธุรกิจชาวญี่ปุ่นนำไปแสดงในงานนิทรรศการฝ้ายที่เมืองนิวออร์ลีนส์ รัฐหลุยเซียนา สหรัฐอเมริกา โดยเก็บมาจากแม่น้ำโอริโนโก ในประเทศเวนีซูเอลา แล้วแจกเป็นของที่ระลึกแก่บุคคลสำคัญที่มาเที่ยวชมงาน หลังจากนั้น 11 ปี แม่น้ำเซนต์จอห์น ในรัฐฟลอริดาซึ่งอยู่ห่างจากเมืองนิวออร์ลีนส์ไปทางใต้ถึง 600 ไมล์ เกิดแพผักตบชวาขึ้นซึ่งเป็นอุปสรรคต่อโรงเลื่อย เนื่องจากกีดขวางการลอยของซุงที่จะเข้าสู่โรงเลื่อย จนในที่สุดรัฐฟลอริดาได้ร้องเรียนต่อรัฐสภาให้มีการป้องกันและกำจัดผักตบชวา สำหรับในทวีปเอเชียได้มีการนำผักตบชวาเข้ามาในประเทศอินโดนีเซียเมื่อปี พ.ศ. 2424 โดยชาวดัทช์ที่ปกครองประเทศอินโดนีเซีย เนื่องจากผักตบชวามีดอกสีฟ้าเป็นช่อสวยงามคล้ายคลึงกับดอก Hyacinth ซึ่งเป็นไม้ประดับของประเทศเขตอบอุ่น ดังนั้นชื่อสามัญของผักตบชวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือ Water hyacinth จึงถือกำเนิดขึ้น เมื่อเริ่มนำเข้ามาได้มีการนำมาปลูกไว้ในสวนพฤกษชาติที่เมืองโบกอร์แต่หลังจากนั้นไม่นานได้มีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วไปตามลำน้ำต่างๆ สำหรับประเทศไทยเริ่มนำผักตบชวาเข้ามาตั้งแต่สมัยรัชกาลที่ 5 ในปี พ.ศ. 2444 โดยนำมาจากประเทศอินโดนีเซียมาปลูกไว้ในวังสระปทุม ภายหลังเกิดน้ำท่วมวังสระปทุมทำให้ผักตบชวาแพร่กระจายไปตามแหล่งน้ำต่างๆ เป็นต้นมา

2.2.2 ลักษณะทั่วไปของผักตบชวา

ผักตบชวาเป็นพืชน้ำลักษณะใบเป็นประเภทใบเดี่ยว แผ่นใบกว้างมนโค้ง ก้านใบยาวอวบน้ำ ดอกมีลักษณะเป็นช่อ กลีบดอกสีม่วง เจริญเติบโตได้ง่ายทั้งในที่น้ำตื้น น้ำขังหรือน้ำมีการไหลถ่ายเท เช่น แม่น้ำ ลำคลอง บึงต่างๆ ผักตบชวาเป็นพืชที่สามารถขยายหรือแพร่พันธุ์ได้รวดเร็วมากโดยใช้ Stolon การกำจัดหรือปราบจึงทำได้ยาก ทำให้เป็นสาเหตุให้น้ำไหลถ่ายเทได้ช้าทั้งยังเป็นการกีดขวางการจราจรทางน้ำอีกด้วย ผักตบชวาประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 8 และลิกนินร้อยละ 17 ดังนั้นจึงจัดเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ดีในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ สามารถใช้ผลิตเอทานอล ไซลิทอล กรดอินทรีย์และสารเคมีอื่นๆได้ (Abdel-Fattah และ Abdel-Naby, 2012)

2.2.3 ส่วนประกอบของผักตบชวา

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 2.8 (ก) ลักษณะลำต้นของผักตบชวา (ข) ลักษณะใบของผักตบชวา (ค) ลักษณะดอกของผักตบชวา

ที่มา : (ก) http://www.wattano.ac.th/wattano/Web_saunpluak/Pic_Fol001-250 up 2550/146-ผักตบชวา/02ลำต้น.JPG สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556

(ข) http://www.wattano.ac.th/wattano/Web_saunpluak/Pic_Fol001-250 up 2550/146-ผักตบชวา/03ใบ.JPG สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ค) http://www.wattano.ac.th/wattano/Web_saunpluak/Pic_Fol001-250 up 2550/146-ผักตบชวา/04ดอก.JPG สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556

1. ลำต้น (Culm) เป็นเหง้าสั้นๆ และเป็นไหล มีรากงอกออกตามข้อ ถ้าน้ำตื้นก็จะหยั่งรากลงดิน มีสีเขียวอ่อนถึงเขียวอมน้ำตาล

2. ใบ (Leaf) เป็นใบเดี่ยว แตกจากลำต้นโดยรอบเป็นกอ ก้านใบมีลักษณะกลม อาจยาวหรือสั้น อวบพอง แผ่นใบรูปไข่หรือเกือบกลม กว้าง 5-15 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตรและมีสีเขียวสดเป็นมัน

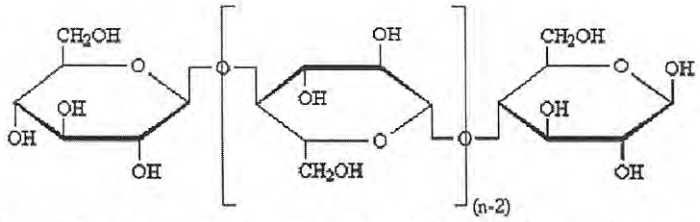
3. ดอก (Flower) เป็นช่อดอกแบบสไปค์ มีก้านช่อดอกยาวอวบแทงขึ้นมาจากกลางกอช่อหนึ่งช่อหนึ่งมีดอกย่อยประมาณ 6-30 ดอก ดอกย่อยมีกลีบรวม 6 กลีบ สีน้ำเงินม่วง โคนกลีบด้านในเป็นสีเหลืองมีเกสรตัวผู้ 6 อัน ยาว 3 อัน สั้น 3 อัน ติดกลีบดอก

2.3 เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดในเซลล์พืชพบตามผนังเซลล์ของพืชทุกชนิด มีหน้าที่ช่วยทำให้พืชมีโครงสร้างแข็งแรง ในธรรมชาติจะไม่พบเซลลูโลสในรูปอิสระแต่มักจะพบรวมกับลิกนิน เฮมิเซลลูโลส กัม เพนโตแซน แทนนิน ไขมันและสารสี เป็นต้น เซลลูโลสเป็นโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เซลลูโลสเมื่อถูกย่อยจะแตกตัวออกให้น้ำตาลกลูโคสจำนวนมาก เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของเซลล์ (Structural Carbohydrate) ประกอบด้วยหน่วยย่อย คือ โมเลกุลของกลูโคส 1,000 ถึง 10,000 โมเลกุล มีน้ำหนักโมเลกุล 200,000 ถึง 2,000,000 หน่วยย่อยพื้นฐาน (Basic Subunit) คือ เซลโลไบโอส (Cellobiose) ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 2 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะ เบตา-1,4 ไกลโคซิดิก โดยที่ไม่มีการแตกแขนง เซลลูโลสในผนังเซลล์ชั้นแรกประกอบด้วยกลูโคสยาวประมาณ 2,000 โมเลกุลและอย่างน้อย 14,000 โมเลกุลในผนังเซลล์ชั้นที่สอง โดยโมเลกุลของกลูโคสจะเกาะกันเป็นคู่ตามยาวและเรียงขนานกันเป็นกลุ่ม 40 คู่ เรียกว่า ไมโครไฟบริล เซลลูโลสไม่เกิดปฏิกิริยากับสารละลายเบเนดิกต์ แต่ถ้าย่อยเซลลูโลสโดยการต้มกับสารละลายกรด เซลลูโลสจะถูกย่อยได้เป็นกลูโคส ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับสารละลายเบเนดิกต์

โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสแสดงดังรูปที่ 2.9 การจัดเรียงตัวของกลูโคสอยู่ในลักษณะรูปเก้าอี้ แต่ละโมเลกุลจับกันด้วยพันธะไกลโคสิดิกระหว่างคาร์บอนตัวที่หนึ่งของกลูโคสกับคาร์บอนตัวที่สี่ของกลูโคสตัวถัดไป เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนตัวที่หนึ่งอยู่ในตำแหน่งเบต้าจึงเรียกพันธะนี้ว่าเบต้า-1-4-ไกลโคสิดิก (β-1,4-glycosidic) การเรียงตัวของโมเลกุลเซลลูโลสมีลักษณะเป็นเส้นตรงไม่มีแขนงย่อยมีสูตรเคมีทั่วไปคือ - $(C_6H_{10}O_5)n$- เมื่อ n คือ จำนวนหน่วยกลูโคสทั้งหมดที่ประกอบกันเป็นโครงสร้าง จำนวนกลูโคสในสายเซลลูโลสไม่สามารถทราบจำนวนที่แท้จริงได้เนื่องจากระหว่างสายเซลลูโลสจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนซึ่งเรียงแน่นเป็นมัดไมโครไฟบริลจึงมีความแข็งแรงและไม่ละลายน้ำหรือสารอินทรีย์ใดๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 ลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลกลูโคสในเซลลูโลส
ที่มา : Ballesteros และ Oliva (2004)

เซลลูโลสที่พบในมวลชีวภาพประกอบด้วยส่วนที่เรียงตัวเป็นระเบียบ (Crystalline) และส่วนที่เรียงตัวไม่เป็นระเบียบหรือมีรูปร่างไม่แน่นอน (Amorphous) ซึ่งในธรรมชาติจะพบแบบ Crystalline ได้มากกว่าแบบ Amorphous นอกจากนี้ยังพบว่าแบบ Amorphous ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่ายกว่าแบบ Crystalline (Kumar และคณะ, 2009)

2.4 เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสพบในเนื้อเยื่อของพืชโดยรวมอยู่กับสารอื่นๆ เช่น ลิกนิน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลหลายชนิด ทั้งน้ำตาลเพนโตส (น้ำตาลไซโลส แรมโนสและอะราบิโนส) และน้ำตาลเฮกโซส (น้ำตาลกลูโคส แมนโนสและกาแลคโตส) แต่ส่วนมากเป็นดี-ไซแลนที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสหลายๆโมเลกุลต่อกันด้วยพันธะเบต้า- 1-4-ไกลโคสิดิก

ความแตกต่างที่สำคัญระหว่างเซลลูโลสกับเฮมิเซลลูโลส คือ เฮมิเซลลูโลสมีการแตกกิ่งก้านเป็นสายสั้นๆ จึงทำให้เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยได้ง่ายกว่าเซลลูโลส (Kumar และคณะ, 2009)

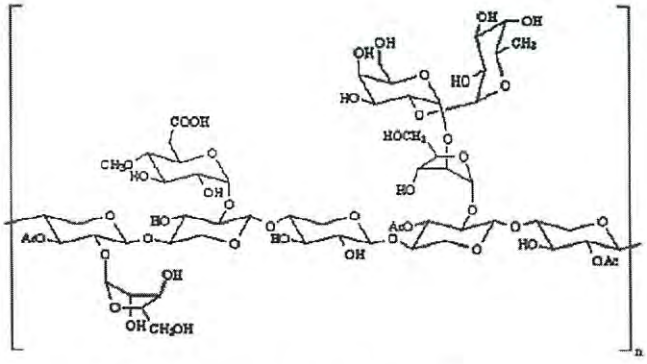
2.4.1 ประโยชน์ของเฮมิเซลลูโลส

1. ในรูปมอนอเมอร์ สามารถผลิตน้ำตาลโดยวิธีไฮโดรไลซีส คือ การสลายโดยใช้น้ำเป็นตัวย่อยทำให้โมเลกุลของสารและคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไป วิธีนี้เรียกว่า Wood hydrolysis

2. ในรูปพอลิเมอร์ ทำให้เยื่อและกระดาษมีความแข็งแรงมากขึ้นเนื่องจากมีโครงสร้างเป็นอสัณฐาน (อยู่รวมกันแบบหลวมๆ) น้ำจึงเข้าไปได้ง่าย เกิดการพองตัว อุ้มน้ำได้ดี มีประโยชน์ใช้ในการตีเยื่อ คือ ทำให้ผิวของเส้นใยแตกออก เกิดการประสานตัวด้วยพันธะไฮโดรเจน

3. สามารถนำไปทำการผลิตสารเติมแต่งสำหรับอาหาร ทำให้อาหารข้นขึ้น ใช้ในเครื่องสำอางเป็นสารดูดน้ำและใช้เป็นกาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



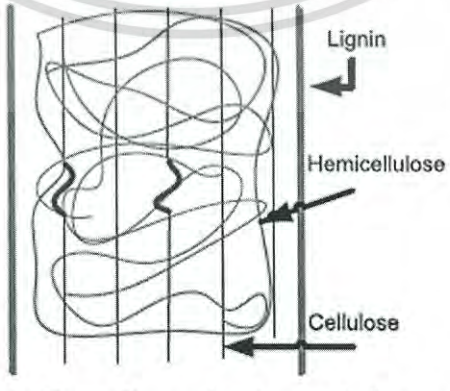
รูปที่ 2.10 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส
ที่มา : Ballesteros และ Oliva (2004)

2.5 ลิกนิน

ลิกนินเป็นสารประกอบที่ซับซ้อน ประกอบด้วยพอลีเมอร์ของสารประกอบอะโรมาติก โดยมีหน่วยฟีนิลโพรเพนเชื่อมต่อกันด้วยพันธะหลายชนิดสานต่อกันอย่างไม่เป็นระเบียบ ทำให้มีโครงสร้างที่ซับซ้อนแทรกอยู่ที่ผนังเซลล์ของพืช ลิกนินมีโครงสร้างที่แข็งแรงไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น ละลายได้ในเอทานอลหรือเมทานอลที่ร้อนและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปกติลิกนินจะอยู่ในโครงสร้างของเซลล์พืชบริเวณรอบๆเซลลูโลสโดยเป็นตัวป้องกันเซลลูโลสจากการย่อยอีกด้วย

2.5.1 ประโยชน์ของลิกนิน

1. ลิกนินที่ได้จากการต้มเยื่อกระดาษสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้
2. ลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เมื่อนำมาสังเคราะห์จะได้สารเคมีอินทรีย์ เช่น วานิลลิน (vanillin) ไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (DMSO)
3. ลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มักใช้ในรูปของลิกนินที่ได้มาโดยตรง เช่น ลิกนินซัลโฟเนตหรือคราฟลิกนินและใช้กันมากในอุตสาหกรรมการขุดเจาะน้ำมัน ทำสี ทำยาฆ่าแมลง ทำซีเมนต์ ทำยาง เป็นต้น



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลส
ที่มา : Mejia และคณะ (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่เป็นเซลลูโลส (Cellulosic biomass)

กระบวนการผลิตเอทานอลที่สำคัญแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

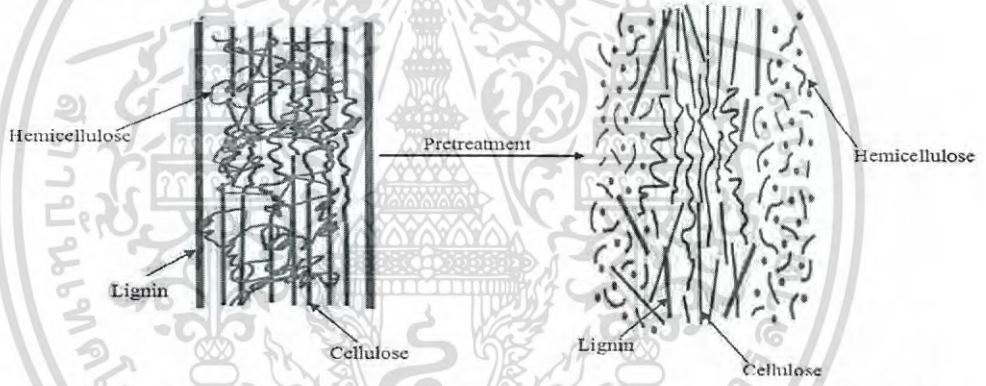
2.6.1 การปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment)

2.6.2 การย่อยหรือไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

2.6.3 การหมัก (Fermentation)

2.6.1 การปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment)

การนำวัสดุเหลือใช้หรือกากมวลชีวภาพมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบราคาถูกในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยกระบวนการหมักทางชีวภาพ ขั้นตอนแรกต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบก่อน เพราะส่วนประกอบของวัตถุดิบเหล่านี้เป็นพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งจะสลายไปเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักได้ยาก เนื่องจากเซลลูโลสที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลอยู่ในรูปที่เป็นสารผลึกของสารประกอบเชิงซ้อนกับลิกนินและเฮมิเซลลูโลส วัตถุประสงค์ของการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนการผลิตเอทานอลเพื่อแยกลิกนินออกและเป็นการปรับโครงสร้างของเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาการย่อย



รูปที่ 2.12 การปรับสภาพตัวอย่าง (Pretreatment) เพื่อเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพเป็นผลิตภัณฑ์
ที่มา : Kumar และคณะ (2009)

วิธีการปรับสภาพแบ่งได้เป็น 4 วิธีใหญ่ๆ คือ

1. การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)

เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบ ลดส่วนที่เป็นโครงสร้างผลึกและทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออก เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เช่น การตัด การบด การใช้ความร้อน การระเบิดด้วยไอน้ำความดันสูง เป็นต้น

2. การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (Chemical pretreatment)

เป็นการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้สารละลายกรด สารละลายด่าง โอโซน ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือสารออกซิแดนท์ ในกรณีการใช้กรดพบว่า เป็นการเพิ่มความสามารถในการย่อยเฮมิเซลลูโลส เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสย่อยได้ในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลสและยังทำให้เกิดการบวมของโครงสร้างซึ่งจะช่วยเพิ่มอัตราการย่อยเนื่องจากเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้มากขึ้น

การปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดเพื่อผลิตน้ำตาลไซโลส อะราบิโนส กลูโคสและกรดอะซิติก โดยการทำลายพันธะเบต้า 1-4 ของกลูโคสหรือไซโลส การปรับสภาพด้วยกรดอ่อนสามารถทำได้โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้อุณหภูมิ 120 – 200 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 103 kPa (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ถึง 517 kPa (75 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 30 นาทีถึง 2 ชั่วโมง (Badger, 2002 ; Kim และคณะ, 2002) ข้อดีของการปรับสภาพด้วยกรด คือ ให้ผลได้ของน้ำตาลสูง โดยพบว่ามากกว่าร้อยละ 90 เป็นน้ำตาลไซโลสและกลูโคส ใช้อุณหภูมิและความดันต่ำ นอกจากนั้นกรดที่ใช้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้หลังจากการย่อยสลายโดยการระเหยซ้ำหลายๆ ครั้ง (Badger, 2002) ส่วนข้อเสียของการปรับสภาพด้วยกรด ได้แก่ ก่อให้เกิดสารพิษ เช่น เฟอฟูรอล ไฮดรอกซิลเมทิลเฟอฟูรอล กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก กรดลีวูลินิก เป็นต้น ซึ่งสารพิษเหล่านี้จะยับยั้งกระบวนการหมัก ดังนั้นก่อนนำไปหมักจะต้องนำไปกำจัดสารพิษโดยการใช้เบสปรับพีเอช แต่การปรับพีเอชด้วยเบสมีข้อเสียคือ ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำตาล (Ganguly และคณะ, 2012)

การปรับสภาพด้วยเบสโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางจะทำให้วัตถุดิบเกิดการบวมซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิว ลดระดับการเกิดพอลิเมอร์ ลดความเป็นผลึก แยกโครงสร้างที่เชื่อมกันระหว่างลิกนินและคาร์โบไฮเดรตและเป็นการทำลายโครงสร้างของลิกนิน (Ganguly และคณะ, 2012)

3. การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์ (Physico-chemical pretreatment)

เป็นวิธีที่ใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี เช่น การระเบิดด้วยไอน้ำความดันสูงซึ่งมีการเติมสารเคมีลงไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ เช่น การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และความร้อนในสภาวะความดันสูงของการปรับสภาพฟางข้าวในกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าประสิทธิภาพการย่อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และความร้อนที่เพิ่มขึ้นแต่เมื่อใช้ความร้อนภายใต้สภาวะความดันสูงเพียงอย่างเดียวพบว่า การย่อยสลายลดลงเมื่อความร้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการแตกตัวของน้ำตาลที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นสารประเภทเฟอฟูรัล (Furfural) สารฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde) หรือกรดฟอร์มิก (Formic acid) ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์

4. การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ

เป็นการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสให้อยู่ในรูปโซ่ตรงและช่วยลดความเป็นผลึก เอนไซม์ที่นิยมใช้ คือ เซลลูเลสซึ่งเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเบตา 1-4 ไกลโคซิดิกและได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกลูโคส วัสดุเซลลูโลสตามธรรมชาติส่วนใหญ่เกิดการสลายตัวจากการย่อยของเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งพบทั่วไปในจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบมากในเชื้อรา เอนไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้น นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีความจำเพาะ (Specificity) ต่อสับสเทรตหนึ่งๆ เท่านั้นทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง การปรับสภาพทางชีวภาพมีการใช้จุลินทรีย์ เช่น Brown-rot fungi , White-rot fungi และ Soft-rot fungi เพื่อย่อยสลายลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในวัสดุเหลือใช้ต่างๆ โดย Brown-rot ย่อยเซลลูโลส ขณะที่ White-rot fungi และ Soft-rot fungi ย่อยทั้งเซลลูโลสและลิกนิน

white-rot fungi เป็นฟังไจในคลาส Basidiomycetes ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับกระบวนการเตรียมตัวอย่างทางชีวภาพของลิกโนเซลลูโลส ข้อดีของการปรับสภาพทางชีวภาพ ได้แก่ ใช้พลังงานต่ำ สภาวะไม่รุนแรง ส่วนข้อเสีย คือ ใช้เวลานาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 การย่อยหรือไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

การย่อยเป็นกระบวนการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การย่อยด้วยสารเคมีและการย่อยด้วยเอนไซม์

2.6.2.1 การย่อยด้วยสารเคมี

การย่อยด้วยสารละลายกรดหรือเบสซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาการทำลายพันธะไกลโคสิดิกระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 กับออกซิเจน ถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส (เกื้อกูล, 2547) การย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสด้วยกรด วัสดุกลุ่มลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ดังนั้นการเปลี่ยนองค์ประกอบเหล่านี้ให้อยู่ในรูปน้ำตาลจึงสามารถทำได้โดยการย่อยสลายด้วยกรดภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ซึ่งการย่อยสลายด้วยกรดจะทำให้ระดับการเกิดเป็นพอลิเมอร์นั้นลดลง

การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรดจะทำให้พันธะเบตา (1,4) ของกลูโคสในโครงสร้างแตกออกเกิดเป็นน้ำตาลโดยเกิดเป็นสายโซ่สั้นๆที่มีโครงสร้างพื้นฐานเหมือนเดิมแต่ปลายของสายโซ่เซลลูโลสจะเป็นหมู่อัลดีไฮด์ที่มีสมบัติรีดิวซิ่ง (Reducing) ซึ่งพันธะของเซลลูโลสนี้จะไวต่อกรดและมีการตัดแบบสุ่ม ในภาวะของการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรดเจือจางที่ร้อนจะทำให้เซลลูโลสที่อยู่ในลักษณะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (Hydrocellulose) กลายเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ และจะถูกย่อยสลายต่อไปเป็นน้ำตาลที่มีโมเลกุลไม่ซับซ้อนซึ่งในที่นี้ก็คือกลูโคส กรดทุกชนิดสามารถนำมาใช้ได้แต่กรดที่นิยมใช้ทั่วๆไป ได้แก่ กรดซัลฟูริกหรือกรดกำมะถันเพราะมีราคาถูก

การย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเจือจาง

การย่อยสลายวัสดุกลุ่มลิกโนเซลลูโลสด้วยกรดเจือจาง นิยมใช้กรดซัลฟูริกแต่ทั้งนี้มีผลเสีย คือ ผลผลิตน้ำตาลจากการย่อยสลายที่ได้มีปริมาณต่ำ อย่างไรก็ตามการเพิ่มอุณหภูมิและความดันสามารถเพิ่มอัตราการย่อยสลายให้ได้ปริมาณกลูโคสเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มความเข้มข้นของกรดสามารถเพิ่มผลผลิตน้ำตาลให้สูงขึ้นได้แต่ควรคำนึงถึงจุดที่เหมาะสมที่สุดของความเข้มข้นของกรดที่ใช้และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย

การย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น

โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในธรรมชาติจะถูกย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิห้องเมื่อใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 70 แต่วิธีการนี้ทำได้ยากในทางการค้าเพราะกรดซัลฟูริกเข้มข้นมีราคาสูงและจำเป็นต้องมีขั้นตอนของการหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่

การย่อยสลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก

การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรดไฮโดรคลอริกเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง เพราะสามารถระเหยได้ง่าย ทำให้สามารถกู้คืน (Recover) ได้โดยใช้ปั๊มสุญญากาศแต่การย่อยสลายด้วยกรดชนิดนี้ยังมีผลเสีย คือ ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ต้องมีขนาดใหญ่เพื่อผลิตน้ำตาลให้ได้ปริมาณสูงและเนื่องจากลักษณะเฉพาะของกรดที่ระเหยได้ง่าย ทำให้เป็นปัญหาต่อการเลือกวัสดุอุปกรณ์และการดูแลรักษา รวมถึงการควบคุมในขั้นตอนของการย่อยสลาย เพื่อไม่ให้ปริมาณกรดสูญเสียไปในระหว่างการย่อยสลาย

1. สารพิษที่เกิดจากการย่อยสลายด้วยกรด

การปรับสภาพด้วยสารเคมีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิก (ลิกนิน) และน้ำตาล เกิดเป็นสารประกอบที่ยับยั้งกระบวนการหมัก (Talebnia และคณะ, 2010) ซึ่งความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารยับยั้งที่เกิดขึ้นขึ้นอยู่กับประเภทของวัตถุดิบ วิธีการปรับสภาพ สภาวะที่ใช้ เช่น อุณหภูมิ เวลา ความดัน พีเอช เป็นต้น (Cardona และคณะ, 2010 ; Radding และคณะ, 2011) การย่อยสลายวัสดุกลุ่มลิกโนเซลลูโลสด้วยกรด นอกจากได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลแล้วยังพบสารพิษที่เกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลาย ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักเกิดจากการย่อยสลายของเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสและเฮมิเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิด เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิและความดันสูง กลูโคสและไซโลสจะถูกย่อยสลายเป็นอนุพันธ์ฟูแรน เช่น เฟอฟูรัล (Furfural) และไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรัล (Hydroxymethylfurfural, HMF) ที่สามารถย่อยสลายได้เป็นกรดฟอร์มิก (Formic acid) และในกรณีของ HMF เมื่อย่อยสลายแล้วจะได้กรดลีวูลินิก (Levulinic acid) สำหรับลิกนินเมื่อเกิดการย่อยสลายแล้วจะเกิดสารประกอบฟีนอลิกและกรดอื่นๆ ขึ้นซึ่งสารเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการลดสารพิษก่อนการหมักเพื่อช่วยให้จุลินทรีย์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

สารพิษที่เกิดจากการย่อยสลายด้วยกรด สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของน้ำตาล ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของลิกนิน อนุพันธ์ที่ได้จากองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสและไอออนของโลหะหนัก

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของน้ำตาล (อนุพันธ์ฟูแรน)

ในระหว่างการย่อยสลายด้วยกรด น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอมจะสลายตัวเป็นเฟอฟูรัลและละลายอยู่ในน้ำหมัก ซึ่งความเป็นพิษมักแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอฟูรัลและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตมวลเซลล์ได้ สำหรับ HMF ซึ่งเป็นสารพิษที่ได้จากการย่อยสลายน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมและให้ผลเหมือนกับเฟอฟูรัล คือ ทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตในระยะปรับตัว (Lag phase) เป็นเวลานาน อย่างไรก็ตาม HMF มีพิษต่อเซลล์น้อยกว่าเฟอฟูรัลและมักพบ HMF ในสารละลายจากการย่อยสลายด้วยกรดในปริมาณที่ต่ำกว่าด้วย

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของลิกนิน (อนุพันธ์ฟีนอลิก)

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยกรดในกลุ่มนี้มีหลายชนิดโดยสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารพิษที่มีผลต่อการหมักมากที่สุด เนื่องจากมีมวลโมเลกุลขนาดเล็กและเป็นพิษต่อเซลล์ซึ่งมีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ขาดความแข็งแรงและประสิทธิภาพในการเลือกสารผ่านเข้าออกลดลง ส่งผลให้การเคลื่อนที่เข้าออกของเอนไซม์หรือสารจำเป็นอื่นๆ เข้าสู่เซลล์ได้น้อยลงจนทำให้มีความผิดปกติในการใช้น้ำตาลของเซลล์เพื่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายลิกนินยังมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์รุนแรงกว่าอนุพันธ์ฟูแรนถึงแม้ว่ามีความเข้มข้นต่ำกว่าก็ตาม สารประกอบฟีนอลิกได้แก่ Syringaldehyde และ Vanillic acid มีผลต่อการเจริญของเซลล์ (Cortez และ Roberto, 2010) และมีผลต่อการหมักเอทานอลของเชื้อหลายชนิด เช่น *Pichia stipitis Candida shehatae* และ *Saccharomyces cerevisiae* (Chandel และคณะ, 2011)

อนุพันธ์ที่ได้จากองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส (กรดคาร์บอกซิลิก)

สารพิษที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิกและกรดลีวูลินิก ซึ่งมักเกิดขึ้นเมื่อย่อยสลายด้วยกรด โดยสารที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ภายในเซลล์ที่มีค่าพีเอชประมาณ 7.4 กรดอะซิติกจะแตกตัวและสะสมอยู่ภายในไซโตพลาสซึมในรูปของโปรตอนทำให้ค่าพีเอชภายในเซลล์ต่ำลงและเกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ภายในเซลล์ตลอดจนเป็นสาเหตุให้เซลล์ตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอออนของโลหะหนัก

ไอออนของโลหะหนัก เช่น เหล็ก โครเมียม นิกเกิลและทองแดงที่เกิดจากการกัดกร่อนของอุปกรณ์และภาชนะจะมีพิษต่อเอนไซม์ในวิถีเมแทบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งไอออนของเหล็กมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในวิถีการใช้ไซโลส

2. ผลจากสารพิษ

ความสามารถของจุลินทรีย์ที่ทนทานต่อสารพิษไม่สามารถกำหนดเป็นความเข้มข้นที่แน่นอนได้ เนื่องจากผลของการยับยั้งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดของจุลินทรีย์ การปรับปรุงสภาวะของการเลี้ยงในอาหารหมัก ชนิดของการหมักและชนิดของสารพิษที่มีอยู่ในสารละลายนั้นเป็นต้น อย่างไรก็ตามการเกิดความเป็นพิษโดยรวมขององค์ประกอบต่างๆได้แก่ ผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของน้ำตาล ผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของลิกนิน อนุพันธ์ที่ได้จากวัสดุกลุ่มลิกโนเซลลูโลสและไอออนของโลหะหนัก ทำให้เกิดผลเสียต่อการเจริญเติบโต การผลิตมวลเซลล์และปริมาณการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ลดลงได้

3. วิธีลดปริมาณสารพิษจากการย่อยสลายด้วยกรด

ในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดมักพบสารพิษหลายชนิด ดังนั้นเพื่อลดผลเสียที่อาจเกิดขึ้นต่อการหมักจึงต้องลดปริมาณสารพิษจากการย่อยสลายด้วยกรด โดยใช้วิธีต่างๆ ได้แก่ วิธีทางชีวภาพ ทางกายภาพและทางเคมี ทั้งนี้สารละลายที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดแต่ละชนิดนั้นจะมีระดับของความเป็นพิษที่แตกต่างกัน ฉะนั้นการเลือกวิธีต่างๆ เพื่อลดปริมาณสารพิษจึงต้องคำนึงถึงองค์ประกอบของสารละลายที่ได้เพราะอาจแตกต่างกันตามประเภทของวัสดุที่นำมาใช้และสภาวะของการย่อยสลาย

วิธีทางชีวภาพ

วิธีทางชีวภาพส่วนใหญ่จะใช้เอนไซม์ที่มีความเฉพาะเจาะจงหรือใช้จุลินทรีย์มาแก้ไขลักษณะของสารพิษที่มีอยู่ในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรด ซึ่งนิยมใช้เอนไซม์ Laccase และ Peroxidase ที่ได้จากเชื้อรา เช่น *Trametes versicolor Aspergillus nidulas* และ *Trichoderma reseii* (Behera และคณะ, 2014) ในการลดปริมาณสารพิษโดยทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดทีฟพอลิเมอไรเซชัน (Oxidative polymerization) กับสารประกอบฟีนอลิกที่มีมวลโมเลกุลต่ำ สำหรับการใช้จุลินทรีย์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยลดปริมาณสารพิษโดยสามารถลดความเข้มข้นของกรดอะซิติกในอาหารหมักลงได้

วิธีทางกายภาพ

การระเหยแบบสุญญากาศ (Evaporation) เป็นวิธีทางกายภาพที่สามารถลดสารประกอบที่ระเหย เช่น กรดอะซิติก เฟอฟูรัลและวานิลลิน (Mussatto และ Roberto, 2004) แต่วิธีนี้จะทำให้สารประกอบที่ระเหยไม่ได้ เช่น สารประกอบฟีนอลิกมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการยับยั้งการหมักได้ เพราะสารที่สกัดได้จากลิกนินมีความเข้มข้นสูงขึ้นและพบว่ามีการลดลงของ HMF ร้อยละ 4 และการเพิ่มขึ้นของสารประกอบที่ไม่ระเหยก็ยังคงเป็นพิษต่อจุลินทรีย์และมีผลเสียต่อการหมัก

วิธีทางเคมี

วิธีทางเคมีที่นิยม ได้แก่ การตกตะกอนสารพิษและการทำให้สารพิษเปลี่ยนสภาพ เช่น เกิดการแตกตัวโดยการปรับค่าพีเอช ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชนี้สามารถลดความเป็นพิษได้ด้วย นอกจากนี้

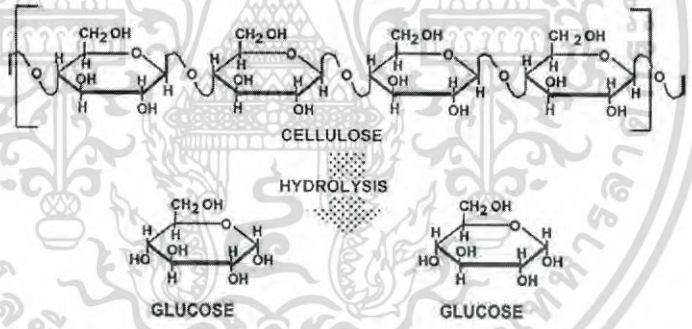
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังลดการเกิดสารพิษได้โดยการใช้ผงถ่านกัมมันต์ดูดซับ (Activated charcoal adsorption) หรือดินไดอะตอมมาเชียส (Diatomaceous earth) และเรซินแลกเปลี่ยนประจุลบ (Anion-exchange resin)

การปรับค่าพีเอชด้วยกรดและเบสเป็นอีกวิธีที่มีค่าใช้จ่ายต่ำและได้ผลดี ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ทั้งนี้จะช่วยกำจัดสารประกอบฟีนอลิกและสารอื่นๆ โดยทำให้สารพิษตกตะกอนและพบว่าการใช้เบสในการปรับพีเอชให้เป็น 10 จะช่วยลดคีโตนได้ร้อยละ 22 และลดความเข้มข้นของเฟอฟูรัลและ HMF ได้ร้อยละ 20 แต่ไม่สามารถกำจัดกรดอะซิติกได้

2.6.2.2 การย่อยด้วยเอนไซม์

ใช้เอนไซม์เซลลูเลสเพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) พบทั่วไปในจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบมากในเชื้อรา เอนไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้นเพื่อทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาภายในเซลล์ เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพสูง ในสภาวะการทำงานที่เหมาะสมจะสามารถเร่งปฏิกิริยาได้เร็วถึง 10^8 ถึง 10^{11} เท่า เมื่อเทียบกับปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีความเฉพาะ (Specificity) ต่อปฏิกิริยาหนึ่งๆเท่านั้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง แม้ว่าเอนไซม์จะถูกสร้างอยู่ภายในเซลล์แต่สามารถสกัดออกมาใช้งานได้



รูปที่ 2.13 กระบวนการย่อยเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส
ที่มา : Sun และ Cheng (2002)

1. ชนิดและตำแหน่งทำงานของเอนไซม์

เอนไซม์ที่ย่อยสารประกอบเซลลูโลส คือ เซลลูเลส ปัจจุบันมีการวิจัยกันอย่างกว้างขวางโดยเน้นถึงการพัฒนากระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสในวัสดุเหลือทิ้งต่างๆให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย เอนไซม์เซลลูเลสนี้มีสมบัติเป็น Multicomponent enzyme โดยมีองค์ประกอบของเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิดทำงานร่วมกัน แสดงในรูปที่ 2.14 ดังนี้

1. เอ็นโดกลูคาเนส (Endoglucanase) หรือ Endo β-1, 4-glucan glucanohydrolase

ทำหน้าที่ย่อยสลายโอลิโกแซคคาไรด์และเซลลูโลสให้เปลี่ยนเป็นเซลโลไบโอส ตำแหน่งที่ทำงานเป็นแบบสุ่ม

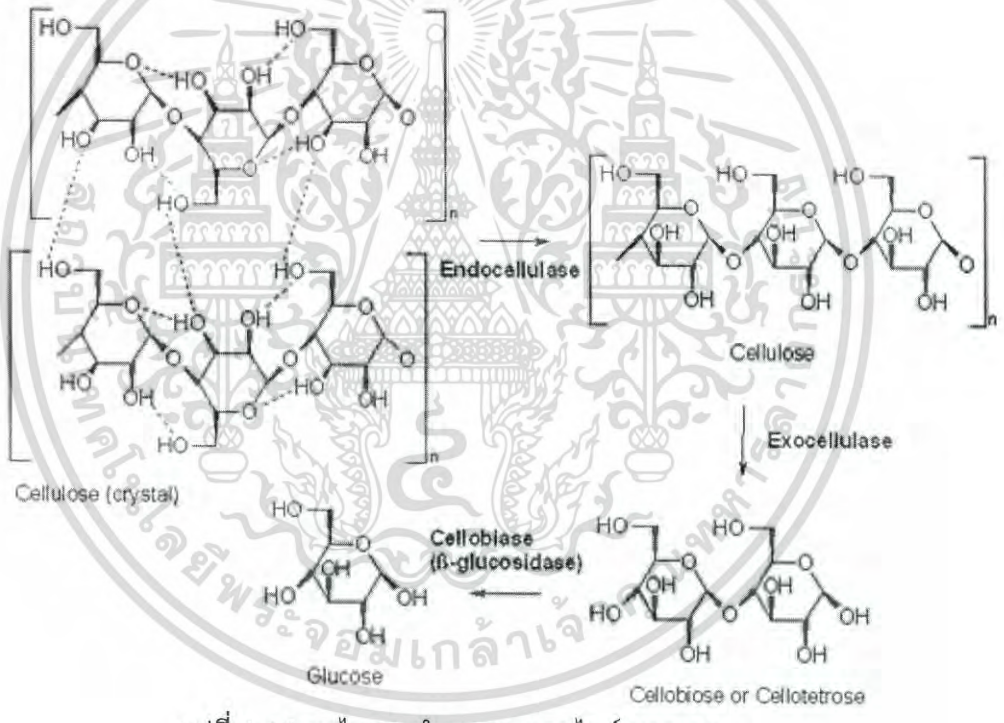
2. เอ็กโซกลูคาเนส (Exoglucanase) หรือ Exo β-1, 4-glucan cellobiohydrolase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำหน้าที่ย่อยสลายโอลิโกแซคคาไรด์และเซลลูโลสให้เปลี่ยนเป็นเซลโลไบโอส โดยจะย่อยสลายจากทางด้านปลายรีดิวซ์ (Reducing end) ของสายโซ่เซลลูโลส

3 เบต้า-กลูโคซิเดส (β-glucosidase) หรือ เซลโลไบเอส (Cellobiase)

ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสไปเป็นกลูโคส ซึ่งเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส จะเป็นตัวส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์เอ็นโดกลูคาเนสและเอนไซม์เอ็กโซกลูคาเนส ทำให้ย่อยสลายได้กลูโคสมากขึ้น การย่อยสลายเซลลูโลสจะได้ปริมาณกลูโคสมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับสัดส่วนของเบต้ากลูโคซิเดสในเซลลูเลสว่าจะมีมากหรือน้อย ดังนั้นเอนไซม์ตัวนี้จึงเป็นกุญแจสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสจะถูกยับยั้งด้วยปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ดังนี้ β-glucosidase จะถูกยับยั้งด้วยปริมาณกลูโคสที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีผลยับยั้งต่อเนื่อง คือ ทำให้มีการสะสมของเซลโลไบโอสเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Endoglucanase และ Exoglucannase ทำให้ปฏิกิริยาช้าลงและยุติในที่สุด เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ ต้องทำงานร่วมกันจึงจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดี แต่เมื่อแยกชนิดใดชนิดหนึ่งออกไปจะมีผลทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลง



รูปที่ 2.14 กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส
ที่มา : Nigam (1999)

2. ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

อุณหภูมิ (Temperature)

อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิหนึ่ง เรียกว่า ค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (Optimum temperature) เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าจุดนี้อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะช้าลง เพราะเอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (Denaturation) หรืออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาโดยเอนไซม์เซลลูเลสจะเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอชค่าหนึ่งเรียกว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมในการทำงาน ณ จุดที่พีเอชมีค่าสูงหรือต่ำกว่าค่านี้ กิจกรรม (Activity) ของเอนไซม์จะลดลง เอนไซม์เซลลูเลสจะทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอชระหว่าง 5.0 - 9.0

ความเข้มข้นของซับสเตรท (Substrate)

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซับสเตรท อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะมีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกและลดช้าลงเมื่อความเข้มข้นของซับสเตรทสูงขึ้น จนในที่สุดอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้นอีก

ปริมาณเอนไซม์

เมื่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาดำเนินไปจนถึงจุดสูงสุดพบว่า อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะมีค่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของเอนไซม์

ผลของสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibitor)

สารบางชนิดเมื่อรวมตัวกับเอนไซม์จะทำให้เอนไซม์ทำงานช้าลงหรือหยุดทำงานได้

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการเสียสภาพของเอนไซม์

เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง ปัจจัยที่มีผลต่อการเสียสภาพของโปรตีนจึงมีผลต่อการเสียสภาพของเอนไซม์ด้วย เช่น สภาพความเป็นกรด-ด่าง ตัวทำละลายอินทรีย์ ยูเรีย ความร้อนหรือรังสีอัลตราไวโอเลต เป็นต้น

2.6.2.3 **เอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (เอนไซม์รวมสำหรับย่อยลิกโนเซลลูโลส)**

เซลลูเลสเป็น Complex enzyme ผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* ใช้สำหรับย่อยลิกโนเซลลูโลสในอุตสาหกรรม ทั้งอุตสาหกรรมพลังงานทางเลือกและอุตสาหกรรมเคมี จัดเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมและช่วยพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลให้สะดวกยิ่งขึ้น ข้อดีของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เมื่อเทียบกับเอนไซม์เซลลูเลสทั่วไป ได้แก่ สามารถย่อยสับสเทรตได้หลายชนิด ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยเพิ่มขึ้น มีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสสูง ซึ่งจะช่วยลดปริมาณของเซลโลไบโอสได้ เนื่องจากเกิดการย่อยเซลโลไบโอสไปเป็นกลูโคส ทำให้อัตราการย่อยสูงขึ้นและหมักเอทานอลได้เร็วขึ้น รวมทั้งผลได้เอทานอลเพิ่มขึ้น

ACCELLERASE 1500 เป็นเอนไซม์รวมที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน ได้แก่ Exoglucanase Endoglucanase Hemi-cellulase Beta-glucosidase และอื่นๆ ที่สามารถย่อยลิกโนเซลลูโลสได้เป็นอย่างดี ประสิทธิภาพในการย่อยเป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ ซึ่งการย่อยจะไม่สมบูรณ์ถ้าเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งถูกแยกออกไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

Endoglucanase Activity	2200-2800 CMC U/g
Beta-glucosidase Activity	450-775 pNPG U/g
ลักษณะ	ของเหลว สีน้ำตาล
พีเอช	4.6-5.0
ปริมาณที่ใช้	0.1-0.5 มิลลิลิตรต่อกรัมเซลลูโลส 0.05-0.25 มิลลิลิตรต่อกรัม
ทำงานได้ดีที่	อุณหภูมิ 50-65 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0-5.0
เสื่อมสภาพที่	อุณหภูมิมากกว่า 70 องศาเซลเซียส พีเอชมากกว่า 7.0 หรือน้อยกว่า 3.9
การเก็บรักษา	เก็บในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส หลีกเลี่ยงจากแสงแดด

ที่มา: http://accellerase.dupont.com/fileadmin/user_upload/live/accellerase/documents/DUP-00413_ProdSheet_1500_web.pdf
สืบค้นวันที่ 13 ต.ค. 2558

2.6.3 การหมักเพื่อผลิตเอทานอล (Fermentation)

การหมักเพื่อผลิตเอทานอล คือ กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลที่ได้จากการย่อยเซลลูโลสให้เป็นเอทานอลโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย โดยปกติจะเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic process) เรียกกระบวนการเปลี่ยนนี้ว่า กระบวนการหมัก การเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลจำเป็นต้องพิจารณาถึงปริมาณน้ำตาลที่สามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้ ปริมาณและความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ตัวยับยั้งปฏิกิริยาและสภาวะของกระบวนการ

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องและรู้จักกันดีซึ่งใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมในปัจจุบัน คือ เชื้อยีสต์พวก *Saccharomyces* sp. เช่น *S. cerevisiae, S. ellipsoideus, S. uvarum* แต่เนื่องจาก *S. cerevisiae* ไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโตสซึ่งมีอยู่ในวัตถุดิบประเภทนี้ประมาณร้อยละ 45 จุลินทรีย์ที่สามารถหมักน้ำตาลไซโลสได้ คือ *Candida shehatae* ซึ่งเชื้อชนิดนี้เหมาะที่จะนำมาใช้ผลิตเอทานอล เนื่องจากสามารถหมักน้ำตาลไซโลสได้อย่างรวดเร็ว โดยมีการทดลองของ Chartchalerm และคณะ (2007) ได้ศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการเปลี่ยนแปลงผักตบชวาไปเป็นเอทานอลโดยใช้ *Candida shehatae* จากการทดลองพบว่า เมื่อนำผักตบชวาที่ผ่านการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกมาหมักเอทานอลได้ผลผลิตของเอทานอลเท่ากับ 0.19 กรัมของผลิตภัณฑ์ต่อกรัมของสับสเตรทและประสิทธิภาพการผลิตเท่ากับ 0.008 กรัมของผลิตภัณฑ์ต่อลิตรต่อชั่วโมง

2.6.3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล

ปัจจัยที่สำคัญในการหมักเอทานอล ได้แก่ ธาตุอาหาร ความเข้มข้นของน้ำตาล ความเข้มข้นของเอทานอล ปริมาณของเชื้อยีสต์ อุณหภูมิ และความเป็นกรดด่าง ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลเกี่ยวเนื่องกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการหมักให้มีประสิทธิภาพนั้นจำเป็นต้องจัดการสภาวะในการหมักให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณของเอทานอลสูงสุด

1. แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักเอทานอล คือ น้ำตาลที่ได้จากวัตถุดิบต่าง ๆ เช่น กากน้ำตาล น้ำอ้อย ข้าวฟ่างหวาน หัวบีท (Sugar beet) เวย์และสารคาร์โบไฮเดรตที่เป็นวัตถุดิบจำพวกแป้งต่างๆ เช่น แป้งข้าวโพด มันฝรั่ง มันสำปะหลัง ธัญพืชต่าง ๆ รวมทั้งวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร นอกจากนี้วัตถุดิบเหลือใช้หลายอย่างก็สามารถนำมาใช้ได้ เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ซึ่งมีส่วนประกอบของเซลลูโลสและอาจใช้กากไม้ ขี้เลื่อยที่เหลือจากโรงงาน นำมาย่อยเพื่อให้เกิดน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักต่อไป

น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอมหรือน้ำตาลเฮกโซส ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ ซึ่งสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนที่ยีสต์สามารถนำมาใช้ในการเจริญได้ ส่วนมากน้ำตาลที่ยีสต์นำมาใช้ในการเจริญเติบโต คือ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นสารอาหารที่ยีสต์ใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด นอกจากนี้เมื่อมีการหมักกลูโคสร่วมกับน้ำตาลชนิดอื่น กลูโคสยังเป็นตัวยับยั้งการใช้น้ำตาลตัวอื่น นอกจากกลูโคสแล้วยีสต์สามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสชนิดอื่นได้ เช่น น้ำตาลฟรุกโตส แมนโนส กาแลกโตส เป็นต้น โดยเชื้อ Baker's yeast และ Brewer's yeast สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสเพื่อผลิตเอทานอลได้เร็วเท่ากัน เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสอยู่ระหว่างร้อยละ 1-10 และเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลฟรุกโตสอยู่ระหว่างร้อยละ 2-8 โดยทั้งน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสเป็นน้ำตาลที่ยีสต์สามารถใช้ในกระบวนการหมักได้ (Fermentable sugar) ส่วนน้ำตาลที่อยู่ในไอโซเมอร์แอล (L-isomer) ทั้งหมดเป็นน้ำตาลที่ยีสต์ไม่สามารถใช้ในกระบวนการหมักได้ (Unfermentable sugar)

น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมหรือน้ำตาลเพนโตส ยีสต์ที่สามารถหมักน้ำตาลเพนโตส เช่น น้ำตาลไซโลสและไซลูโลสให้เป็นเอทานอลได้ ได้แก่ *Pachysolen tannophilus Pichia stipitis* และ *Candida shehatae*

2. แหล่งไนโตรเจน

ยีสต์ใช้ไนโตรเจนในรูปเกลืออินทรีย์ซึ่งมักจะอยู่ในรูปแอมโมเนียมซัลเฟต นอกจากนี้ยังสามารถใช้สารอื่นเป็นแหล่งไนโตรเจนได้อีก เช่น Mono และ Triammonium sulfate จะช่วยในการเจริญของยีสต์ที่ดีขึ้น สำหรับไนเตรทและไนไตร์ท ยีสต์ไม่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ (Rose และ Harrison, 1970)

3. แหล่งซัลเฟอร์

ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 0.4 ของน้ำหนักแห้ง โดยซัลเฟอร์จะอยู่ในรูปเมทไธโอนีนและกรดอะมิโน (Amino acid) แต่เนื่องจากเมทไธโอนีนที่ใส่ลงไปในอาหารเสริมมีราคาแพง ดังนั้นในอุตสาหกรรมจึงใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตแทน เช่น ในการหมักกากน้ำตาล (Black strap molass) มักเติมแอมโมเนียมซัลเฟต

4. แหล่งฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นในการสร้างพลังงาน สังเคราะห์นิวคลีโอโปรตีน (Nucleoprotein) และสารอื่น ๆ ภายในเซลล์ และยังช่วยเป็นบัฟเฟอร์รักษาค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ การเติมแหล่งฟอสฟอรัสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะใช้ในรูปของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) แอมโมเนียมฟอสเฟต(NH_4PO_4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และแคลเซียมซุปเปอร์ฟอสเฟต ในการเลี้ยงเชื้อควรมีการทดสอบดูว่าปริมาณฟอสฟอรัสพอหรือไม่ เพราะถ้าไม่เพียงพอจะทำให้เซลล์อ่อนแอได้ (Rosen, 1968)

5. ความเข้มข้นของน้ำตาล

การหมักเอทานอลในสภาพที่มีความเข้มข้นน้ำตาลสูงเป็นการลดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นลงได้ อย่างไรก็ตามถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสภายในถังหมักมีมากกว่าร้อยละ 10 จะเริ่มมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของยีสต์ (Ciftci, 1983) ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการหมักเอทานอลด้วยยีสต์จะอยู่ในช่วงร้อยละ 10-18 ถ้าสูงไปกว่านี้จะเกิดการยับยั้งการเจริญและการผลิตเอทานอลของยีสต์อย่างมาก นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลเหลือทิ้งโดยเปล่าประโยชน์และเป็นปัญหาต่อการกำจัดน้ำเสียอีกด้วยแต่ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำเกินไปจะทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมักต่ำตามไปด้วย ทำให้ค่าใช้จ่ายในการผลิตสูงและต้องเติมสารอาหารเสริมมากขึ้นด้วย (Ghose และ Tyagi, 1979 ; Converti และคณะ, 1985)

6. ความเข้มข้นของเอทานอล

เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 7 โดยน้ำหนักขึ้นไปจะมีผลต่อการเจริญของยีสต์ ยีสต์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่ยังคงสามารถหมักต่อได้จนถึงร้อยละ 14 ซึ่งขึ้นอยู่กับวิธีการหมักและสภาพแวดล้อมอื่นๆ การที่ยีสต์ไม่สามารถเจริญต่อได้จะเป็นผลให้อัตราการหมักลดลงไปด้วย เนื่องจากเอทานอลจะส่งผลต่อเอนไซม์และสรีรวิทยาของเซลล์ ผลต่อสรีรวิทยาพบว่าเอทานอลจะไปมีผลต่อเนื้อเยื่อของยีสต์ คือ จะเกิดการทำลายเนื้อเยื่อและคุณสมบัติในการแตกหน่อ (Budding Cell) เปลี่ยนแปลงไป ปริมาณเอทานอลที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการผลิตเอทานอล คือ ปริมาณเอทานอลที่สูงกว่าร้อยละ 12 โดยจะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ถูกใช้ไม่สมบูรณ์

7. ความเข้มข้นของยีสต์

Ciftci และคณะ (1983) รายงานว่าการหมักเอทานอลโดยใช้ยีสต์ที่มีความเข้มข้นสูงและมีสารอาหารเพียงพอจะทำให้มีประสิทธิภาพการหมักสูง แต่มีผลทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและอัตราการผลิตเอทานอลลดลง จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของยีสต์มากกว่า 40 กรัมต่อลิตรทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอล โดยที่ความเข้มข้นยีสต์สูงสุดที่ทำให้ยีสต์หยุดการเจริญเติบโตและหยุดผลิตเอทานอลมีค่าเท่ากับ 225 และ 640 กรัมต่อลิตรตามลำดับ อย่างไรก็ตามในขณะที่มีจำนวนเซลล์อยู่มากจะทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลเกิดขึ้นได้สูง

8. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ ที่อุณหภูมิสูงยีสต์จะเจริญเติบโตช้าและหมักเอทานอลได้ต่ำ ดังนั้นในการหมักควรควบคุมอุณหภูมิการหมักไว้ไม่ให้เกิน 37 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 40 และ 43 องศาเซลเซียส ปริมาณเอทานอลที่หมักได้จะลดลงอย่างมาก นอกจากอุณหภูมิจะมีผลต่อการหมักแล้ว ยังมีผลทำให้จำนวนเซลล์ต่ำลง โดยปกติแล้วในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลใช้อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก (Hugles และคณะ, 1984)

9. ความเป็นกรดด่าง (pH)

โดยทั่วไปยีสต์เจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพในการหมักได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีช่วงความเป็นกรดด่างระหว่าง 3.5-6.0 ดังนั้นการหมักเอทานอลจึงต้องปรับอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยกรดซัลฟูริกหรือกรดแลคติกให้มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 4.0-5.0 เพื่อให้ยีสต์อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนมากับอาหารด้วย เพราะแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชอบเจริญเติบโตในสภาพที่มีความเป็นกรดด่างที่เป็นกลาง นอกจากนี้กรดแลกติกยังมีประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพวก Butyric acid bacteria และอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 5.0 จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Lactic acid bacteria ในการดำเนินการหมัก โดยทั่วไปที่ค่าความเป็นกรดด่างต่ำ ความเข้มข้นน้ำตาลสูง และไม่มีออกซิเจน เอทานอลที่เกิดขึ้นจากการหมักจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ที่อาจปนเปื้อนเข้ามาในถังหมักด้วย ค่าความเป็นกรดด่างที่ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถเจริญได้ดี คือ ค่าความเป็นกรดด่างในช่วง 2.4-8.6 โดยมีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม คือ 4

10. ออกซิเจน

หน้าที่หลักของออกซิเจน คือ เป็นตัวรับอิเลคตรอนขั้นสุดท้ายในลูกโซ่การหายใจ นอกจากนี้ออกซิเจนยังทำหน้าที่เป็น Growth factor ของยีสต์โดยเกี่ยวข้องในการสังเคราะห์กรดไขมันที่มีพันธะคู่รวมทั้งกรดโอลิอิค (Oleic acid) กรดลิโนเลอิก (Linoleic) และเออเกอสเตอรอล (Ergosterol) ซึ่งนอกจากจะช่วยในการส่งเสริมการเจริญภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจนของยีสต์แล้ว ยังเพิ่มความสามารถในการทนเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงของยีสต์ด้วย เชื้อที่เลี้ยงในสภาวะที่มีออกซิเจน เซลล์จะสร้างกรดไขมันที่มีพันธะคู่และสเตอรอล ทำให้เกิดสภาพสามารถซึมผ่านเซลล์ต่อเอทานอลเพิ่มขึ้น สิ่งที่เกิดตามมาคือ ความสามารถของเซลล์ยอมให้มีการขนถ่ายเอทานอลออกไปจากเซลล์ ซึ่งหมายความว่า ถ้าความสามารถในการซึมผ่านเซลล์ของเยื่อหุ้มเซลล์สูงขึ้น ความเข้มข้นของเอทานอลจะต่ำลง แต่ถ้าเลี้ยงเซลล์ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ยีสต์จะไม่สร้างกรดไขมันที่มีพันธะคู่และสเตอรอลขึ้นมาเลย ดังนั้นสภาพที่ปราศจากออกซิเจนจำเป็นต้องเติมกรดไขมันที่มีพันธะคู่และสเตอรอลลงไปเพื่อยีสต์ยังคงสามารถเจริญอยู่ได้ ออกซิเจนมีความสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลในขั้นตอนของการเตรียมเชื้อเริ่มต้น โดยทั่วไปเชื้อเริ่มต้นที่ใช้สำหรับการหมักแบบเบ็ดเสร็จ (Batch fermentation) จะเป็นแบบ Aerobic starter ที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพที่มีออกซิเจนและกึ่งมีออกซิเจนซึ่งยีสต์จะให้เซลล์ปริมาณสูงและมีอัตราการหมักสูงด้วยเช่นกัน

2.7 ลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล (Panchal และ Tavares, 1990)

ยีสต์จัดเป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่มีการดำรงชีวิตแบบเซลล์เดี่ยว ลักษณะของยีสต์โดยทั่วไปจะมีโคโลนีทึบแสงเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นแต่มียีสต์บางพวกที่ขอบของโคโลนีและที่ใต้อาหารวุ้นมีการกระจายบางๆ ของเส้นใย ยีสต์สามารถพบทั่วไปในธรรมชาติโดยมักเจริญแบบ Saparophyte คืออาศัยอยู่กับพืชตามส่วนของใบ ดอก ผล ลำต้นและยางไม้ แหล่งที่พบยีสต์เป็นประจำมักเป็นแหล่งที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง จากคุณสมบัติของยีสต์ที่เป็น Facultative anaerobe ทำให้สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นสับสเตรทเพื่อผลิตพลังงานภายใต้สภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ โดยในสภาวะที่มีอากาศยีสต์จะใช้น้ำตาลที่ได้เป็นแหล่งพลังงานและให้คาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนในสภาวะที่ไม่มีอากาศยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลและพลังงาน สำหรับกระบวนการหมักเอทานอลได้มีการนำเชื้อยีสต์มาใช้ตั้งแต่สมัยกลางศตวรรษที่ 19 ลักษณะของยีสต์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลมีดังนี้

1. สามารถหมักเอทานอลได้อย่างรวดเร็วและปริมาณสูงเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในอุตสาหกรรม เนื่องจากการผลิตเอทานอลได้ปริมาณสูงภายในระยะเวลาอันสั้นจะช่วยลดต้นทุนในการผลิต ซึ่งปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ยีสต์หมักได้มีค่าประมาณร้อยละ 19 โดยปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สามารถหมักเอทานอลในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ลดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น แต่ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ทั่วไปจะอยู่ในช่วงร้อยละ 10-18 ซึ่งที่ความเข้มข้นสูงกว่านี้จะไปยับยั้งการเจริญและการหมักของเชื้อยีสต์ ทำให้ต้องมีการทิ้งน้ำตาลที่เหลือโดยเปล่าประโยชน์และยังเป็นปัญหาในการกำจัดของเสียที่ได้อีกด้วยแต่ถ้าในกรณีที่มีน้ำตาลในปริมาณที่ต่ำเกินไป ปริมาณเอทานอลที่ได้จะต่ำลงทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการกลั่นสูง ทั้งยังต้องมีการเติมสารอาหารเพิ่ม ซึ่งเป็นการสิ้นเปลือง

3. สามารถทนอุณหภูมิสูงโดยเฉพาะยีสต์ที่ใช้ผลิตเอทานอลในเขตร้อน เพื่อเป็นการลดพลังงานที่ใช้สำหรับระบบทำความเย็น ปกติยีสต์สามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิกว้างโดยเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 0-42 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่ยีสต์เจริญได้ดีที่สุด คือ 30-32 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก คือ 27-35 องศาเซลเซียส

4. สามารถทนต่อเอทานอลและสารต่างๆที่ยับยั้งการหมักและการเจริญของเชื้อยีสต์ เชื้อยีสต์มีความทนทานต่อเอทานอลได้ถึงร้อยละ 3-4 โดยน้ำหนัก ในขณะที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นทนไม่ได้ คาดว่าสาเหตุเนื่องจากการที่เซลล์เมมเบรนของยีสต์มีการสะสมพวกไขมัน สเตอรอล รวมทั้งคาร์โบไฮเดรตซึ่งช่วยป้องกันการผ่านเข้าออกของเอทานอล จากการทดลองเกี่ยวกับผลของเอทานอลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ พบว่าเอทานอลจะมีผลต่อยีสต์โดยที่เอทานอลสามารถทำให้อุณหภูมิสูงสุดสำหรับการเจริญของเชื้อยีสต์ลดลง เนื่องจากในสภาวะที่เอทานอลถูกผลิตขึ้นมากจะมีผลต่อการตายของเซลล์ยีสต์เนื่องจากแอลกอฮอล์ เช่น เอทานอล ไอโซโพรพานอล โพรพานอลและบิวทานอล ซึ่งจะทำให้องค์ประกอบของลิปิดและฟอสโฟลิปิดของเมมเบรนเปลี่ยนแปลง ทำให้ยีสต์ทนความร้อนได้ลดลง มีรายงานว่าเอทานอลที่เติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการตายของเซลล์น้อยกว่าเอทานอลที่เซลล์สร้างขึ้นมา แสดงว่าการดูดซึมเอทานอลจากภายนอกเข้าไปในเซลล์เกิดขึ้นได้ช้ามาก นอกจากเอทานอลแล้วยังมีกรดอะมิโนบางชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้เช่นกัน เช่น Histidine Lysine Proline และแร่ธาตุจำนวนมาก เช่น Ag , Co , Mg , Cu , Ni , Pb , Fe และ Zn ซึ่งที่ความเข้มข้นปกติจะมีประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นแร่ธาตุบางชนิดอาจเป็นพิษต่อยีสต์ได้ เช่น Ca และ SO_2 เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ ซึ่งการยับยั้งจะสูงขึ้นเมื่อพีเอชลดลง ถ้ายีสต์มีคุณสมบัติทนต่อเอทานอลและแร่ธาตุดังกล่าวทำให้การผลิตเอทานอลดำเนินต่อไปโดยไม่มีการหยุดชะงัก

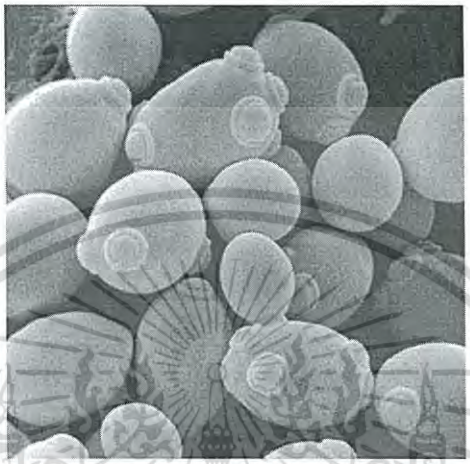
5. สามารถทนต่อความเป็นกรดได้ดี ได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลคติกและกรดโพรพิโอนิก ในยีสต์บางชนิดพบว่า กรดอะซิติกและกรดแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ใกล้เคียงกัน ส่วนกรดโพรพิโอนิกมีความสามารถในการยับยั้งมากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าใช้กรดความเข้มข้นต่ำประมาณร้อยละ 1 จะไปลดอัตราการเจริญแต่ไม่ได้ทำให้เซลล์ตายเพราะกรดเพียงแต่ยับยั้งการผ่านเข้าออกของโมเลกุลสับสเตรทเข้าสู่ภายในเซลล์ ดังนั้นเพื่อให้การหมักดำเนินไปด้วยดีไม่ถูกยับยั้ง ควรเลือกใช้ยีสต์ที่มีความทนทานต่อกรดในการหมัก

6. มีความคงทนทางพันธุกรรม ไม่กลายพันธุ์ง่ายภายใต้สภาวะต่างๆซึ่งในทางอุตสาหกรรมยีสต์ที่จะนำมาใช้ควรเป็นยีสต์ที่มีความคงทนต่อแรงกระตุ้นที่จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. มีความสามารถในการตกตะกอน เพื่อความสะดวกและประหยัดค่าใช้จ่ายในการแยกผลผลิต จึงควรใช้ยีสต์ชนิดที่ตกตะกอนได้ดี

2.8 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*



รูปที่ 2.15 เซลล์ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/uploaded/yeast.jpg สืบค้นวันที่ 13 ต.ค. 2558

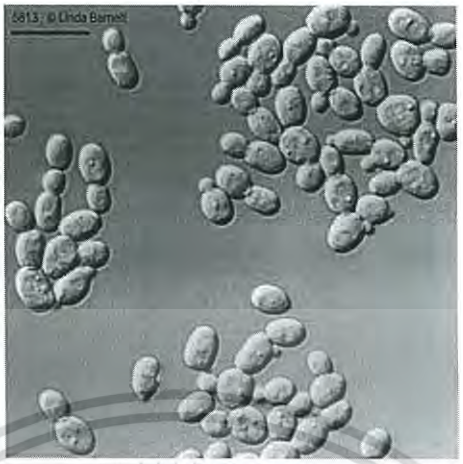
การจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ดังนี้

ไฟลัม	:	Ascomycota
ชั้น	:	Saccharomycetes
วงศ์	:	Saccharomycetaceae
สกุล	:	Saccharomyces
สปีชี่ส์	:	Cerevisiae

Saccharomyces cerevisiae เป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต ส่วนใหญ่มีรูปร่างกลมหรือรี การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ทั่วไปในการหมักเอทานอล (Yadav และคณะ, 2011) แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโตสซึ่งมีอยู่ในวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสประมาณร้อยละ 45 (Kumar และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 เชื้อยีสต์ *Candida shehatae* (Kreger-van Rij, 1984)



รูปที่ 2.16 เซลล์ของเชื้อ *Candida shehatae*
ที่มา : http://www.ncyc.co.uk/print-photo-ncyc-CBS5813.html สืบค้นวันที่ 5 ต.ค. 2556

การจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ของเชื้อยีสต์ *Candida shehatae* ดังนี้

ไฟลัม	:	Deuteromycotina (Imperfect fungi)
ชั้น	:	Blastomycetes
วงศ์	:	Cryptococcaceae
สกุล	:	*Candida*
สปีชี่ส์	:	*Candida shehatae*

เชื้อ *Candida shehatae* เป็นหนึ่งในจำนวนเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาลไซโลส (Xylose-fermenting Yeast) เชื้อ *Candida shehatae* สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วบนแหล่งอาหารที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบภายใต้สภาวะที่มีอากาศ (Aerobic condition) หมักไซโลสภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ (Anaerobic condition) และผลิตไซลิทอล (Xylitol) ได้เล็กน้อย สามารถใช้ไซโลสได้ดีเท่าๆกับกลูโคส โดยสามารถใช้กลูโคสได้เร็วกว่าไซโลสเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ลักษณะที่ค่อนข้างทนต่อสภาวะความเข้มข้นเอทานอลสูง (Ethanol tolerance) มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นไซลิทอล โดยใช้เอนไซม์ไซโลสรีดักเทส ไซลิทอลจะถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลส และไซลูโลสที่เกิดขึ้นจะถูกเปลี่ยนต่อไปเพื่อสร้างไพรูเวท ซึ่งถ้ามีออกซิเจนไพรูเวทจะเข้าสู่วัฏจักรของกรดไตรคาร์บอกซิลิก (Tricarboxylic acid cycle) เพื่อสร้างพลังงานแต่ถ้ามีออกซิเจนน้อยไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล

มีรายงานว่าเชื้อ *Candida shehatae* ATCC 22984 เป็นยีสต์ที่สามารถผลิตเอทานอลจากไซโลสได้โดยเพาะเลี้ยง 2 สภาวะคือ เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศเพื่อเพิ่มชีวมวล จากนั้นจึงเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีอากาศเพื่อให้เซลล์ผลิตเอทานอล จึงทำให้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยรวมนานขึ้นนอกจากนี้ *Candida shehatae* ยังเป็นเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาลดี-ไซโลสได้อย่างรวดเร็ว อัตราการผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ดังกล่าวเท่ากับ 1.3 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและอัตราจำเพาะของการผลิตเอทานอลในช่วง 0.28 ถึง 0.343 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมงและค่าผลได้ในช่วง 0.40 ถึง 0.45 กรัมเอทานอลต่อกรัมไซโลส

2.10 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเฮกโซสโดยเชื้อยีสต์

ในสภาวะที่มีอากาศเชื้อยีสต์จะใช้น้ำตาลกลูโคสในการหายใจเพื่อการเจริญเติบโต เพิ่มจำนวนเซลล์ น้ำ คาร์บอนไดออกไซด์และพลังงานในรูป ATP การผลิตเอทานอลเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ โดยอาศัยเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นเอทานอลในสภาวะที่ไร้อากาศ ซึ่งเชื้อยีสต์ทำการหมักเอทานอลโดยผ่านวิถีไกลโคไลซีส ในการหมักน้ำตาลโดยเชื้อยีสต์จะได้เอทานอลตามทฤษฎี 0.51 กรัมต่อกรัมของน้ำตาลที่ใช้ นอกจากนี้ยังได้คาร์บอนไดออกไซด์และพลังงานในรูป ATP

วิถีไกลโคไลซีสเพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. การสลายกลูโคสให้เป็น 2 ไทรโอสฟอสเฟต (Triose Phosphate)

ขั้นตอนแรกประกอบด้วย 4 ปฏิกิริยา ได้แก่ ปฏิกิริยาของ Hexokinase หรือ Glucokinase ใช้ ATP เพื่อเปลี่ยนกลูโคสให้เป็น Glucose-6-Phosphate (G6P) ซึ่งเปลี่ยนเป็น Fructose-6-Phosphate (F6P) ด้วย Phosphohexoisomerase จากนั้น Phosphofructokinase จะเปลี่ยน F6P ให้เป็น Fructose 1,6-Diphosphate (F1,6P) ซึ่งสลายตัวให้สารประกอบที่มี 3 คาร์บอน 2 ชนิด คือ Glyceraldehydes-3-Phosphate (G3P) และ Dihydroxyacetonephosphate (DHAP) โดยอาศัยการเร่งของเอนไซม์ Aldolase จากนั้น DHAP จะเปลี่ยนเป็น Glycerol phosphate และได้ Glycerol ในที่สุด

2. การเปลี่ยนไทรโอสฟอสเฟตให้เป็นไพรูเวท (Pyruvate)

ขั้นตอนที่สองมี 6 ปฏิกิริยา ได้แก่ DHAP เปลี่ยนเป็น G3P โดยเอนไซม์ Triose phosphate isomerase ต่อจากนั้น G3P จะทำปฏิกิริยากับฟอสเฟตได้ 1,3-Diphosphoglycerate (DPG) ขณะเดียวกันก็ปล่อยอิเล็กตรอนให้ NAD^+ ปฏิกิริยานี้ถูกเร่งด้วย Glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase ซึ่ง DPG จะทำปฏิกิริยากับ ADP ได้ 3-Phosphoglycerate (3PG) และ ATP ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ Phosphoglycerate kinase ปฏิกิริยานี้สร้าง ATP โดยวิธี Substate level phosphorylation โดย 3PG จะเปลี่ยนเป็น Phosphoenol-pyruvate (PEP) ซึ่งจะให้ ATP อีกหนึ่งโดยวิธี Substate level phosphorylation เช่นเดียวกัน รวมทั้งให้ไพรูเวทด้วย ปฏิกิริยานี้ถูกเร่งโดย Pyruvate kinase

3. การเปลี่ยนไพรูเวทเป็นเอทานอล

ขั้นตอนที่สามจะเป็นการเปลี่ยนไพรูเวทให้เป็นสารประกอบที่มี 2 คาร์บอน ทั้งนี้ขึ้นกับเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงนั้นๆ ในกรณีขาดออกซิเจนหรือไม่สามารถใช้ออกซิเจนไพรูเวทจะเปลี่ยนเป็นแลกเตท (Lactate) โดยใช้ NADH เป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาของ Lactate dehydrogenase เมื่อมีออกซิเจนไพรูเวทจะเปลี่ยนเป็น Acetyl CoA โดยเอนไซม์ Pyruvate dehydrogenase complex ซึ่ง Acetyl CoA จะเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ต่อไป เอนไซม์นี้อยู่ในไมโตคอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดรียและเป็น Enzyme complex ในสิ่งมีชีวิตบางชนิด ไพรูเวทอาจสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์กลายเป็น Acetaldehyde โดยการเร่งของ Pyruvate decaboxylase ต่อจากนั้น Acetaldehyde จะถูกออกซิไดส์ด้วย NAD^+ กลายเป็นอะซิเตทหรือถูกรีดิวซ์ด้วย NADH โดยเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase ได้เป็นเอทานอล

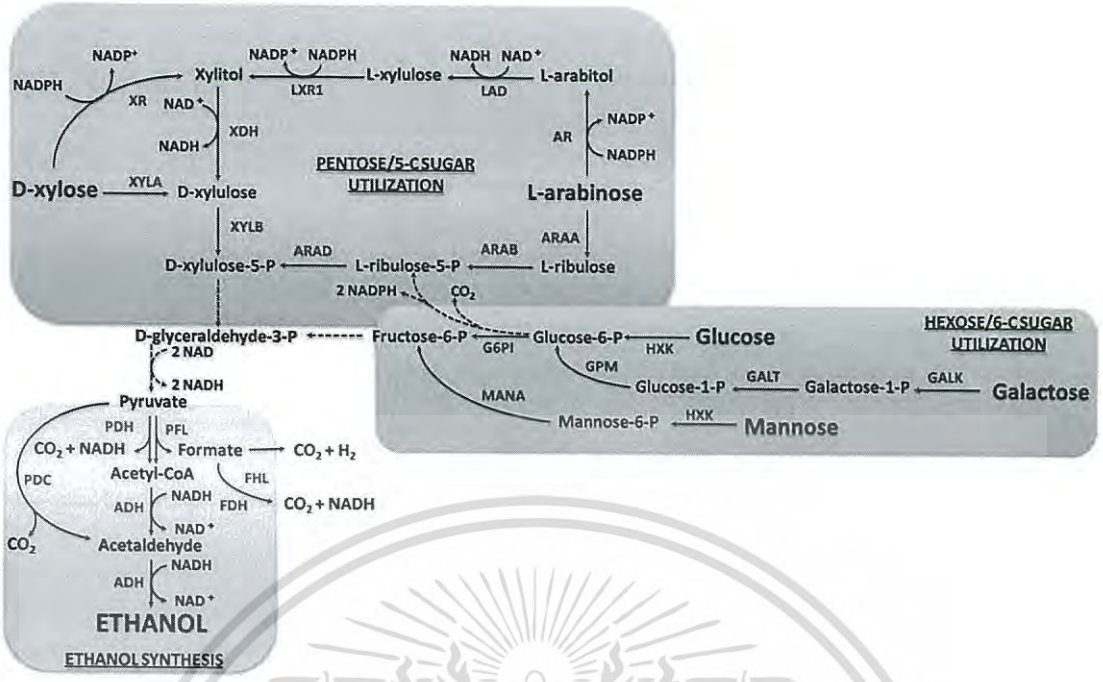
2.11 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเพนโตสโดยเชื้อยีสต์

น้ำตาลเพนโตสที่ยีสต์สามารถนำมาใช้ในการผลิตเอทานอล คือ น้ำตาลไซโลส ซึ่งน้ำตาลชนิดนี้เป็นน้ำตาลที่ประกอบอยู่ในเฮมิเซลลูโลส การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลไซโลสโดยเชื้อยีสต์เริ่มต้นเมื่อน้ำตาลไซโลสเข้าสู่เซลล์ยีสต์ ไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นไซลิทอลด้วยเอนไซม์ Xylose reductase จากนั้นไซลิทอลจะถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลสด้วยเอนไซม์ Xylitol dehydrogenase จากนั้นไซลูโลสจะเกิดปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันได้เป็น Xylulose-5-phosphate (X5P) ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในวิถี Pentose เป็นกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลอีกวิธีหนึ่งซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน

ขั้นตอนแรกเป็นการออกซิไดส์ G6P ให้เป็น 6-phosphogluconolactone โดยเอนไซม์ Glucose-6-phosphate dehydrogenase ซึ่งจะให้ NADPH ต่อมา 6-phosphogluconolactone จะเปลี่ยนเป็น 6-phosphogluconate (6PG) โดย Lactonase แล้ว 6PG ถูกออกซิไดส์เป็น Ribulose-5-phosphate (RL5P) กับคาร์บอนไดออกไซด์พร้อมกับให้ NADPH อีกปฏิกิริยานี้ถูกเร่งโดย 6-Phosphogluconate dehydrogenase ในขั้นตอนแรกจึงเรียกว่า Oxidative pentose phosphate pathway ซึ่งจะให้ 2NADPH

ขั้นตอนที่สองเป็นการเปลี่ยน RL5P เป็นเพนโตสรูปอื่นๆ ได้แก่ Ribose-5-phosphate (R5P) และ Xylose-5-phosphate (X5P) R5P จะเป็นสารตั้งต้นในการสร้าง DNA , RNA , nucleotide และกรดอะมิโนบางชนิด นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเพนโตสให้เป็นน้ำตาลอื่นๆ และในที่สุดจะเป็น F6P กระบวนการนี้อาศัยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ Transketolase ซึ่งใช้ Thiamine pyrophosphate หรือ TPP เป็นโคเอนไซม์ในการย้ายหมู่คีโตและ Transaldolase เร่งปฏิกิริยาระหว่าง R5P กับ X5P ได้ Sedoheptulo-7-phosphate (S7P) และ G3P และ Transaldolase เร่งปฏิกิริยาระหว่าง S7P กับ G3P ได้ F6P กับ Erythose-4-phosphate (E4P) ในปฏิกิริยาต่อไปซึ่งถูกเร่งโดย Transketolase อีกเช่นกันจะรวม E4P กับ X5P ได้เป็น F6P กับ G3P ซึ่งจะนำเข้าไปใช้ในวิถีไกลโคไลซีสจนในที่สุดจะผลิตเป็นเอทานอลออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.17 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลเฮกโซสและน้ำตาลเพนโตส
ที่มา : http://www.microbialcellfactories.com/content/figures/1475-2859-9-3-2-l.jpg สืบค้นวันที่ 13 ต.ค. 2558

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Aswathy และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาซึ่งเป็นมวลชีวภาพที่พบได้ทั่วไป เพื่อนำมาผลิตเอทานอลโดยไม่ต้องใช้พืชที่สามารถเป็นอาหารได้ งานวิจัยนี้ได้พิสูจน์ให้เห็นว่าผักตบชวาเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส สำหรับการปรับสภาพโดยใช้กรดและเบสพบว่า การปรับสภาพด้วยเบสมีประสิทธิภาพดีกว่าเนื่องจากทำให้ตัวอย่างทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้มากขึ้นและได้ศึกษาผลของการเติมเอนไซม์เซลลูเลสและเบต้ากลูโคซิเดสรวมทั้งหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพจากร้อยละ 57 เป็นร้อยละ 71 จากนั้นนำมาหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า ผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 4.4 กรัมต่อลิตร

Eshtiaghi และคณะ (2012) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของผักตบชวาเป็นเอทานอลโดยการใช้วิธีทางกายภาพ (Subcritical water) และการใช้สารเคมี (กรดและเบส) ในการปรับสภาพเพื่อเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลส (เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส) ในผักตบชวาพบว่า ปริมาณน้ำตาลสูงสุดร้อยละ 18.16 ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 3 ส่วนการปรับสภาพด้วยเบสไม่สามารถเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสในผักตบชวาให้กลายเป็นน้ำตาลได้ การปรับสภาพร่วมกันระหว่างกรดหรือเบสกับเอนไซม์สามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลได้ (ปริมาณน้ำตาลเท่ากับร้อยละ 31.2 และ 22.9 ตามลำดับ) นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จากร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก เป็นร้อยละ 4 สามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลได้ถึงร้อยละ 50.5 โดยน้ำหนัก ส่วนการใช้ Subcritical water ที่อุณหภูมิ 200 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลได้ถึงร้อยละ 17 ในระหว่างการหมักโดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ 30 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของไบโอเอทานอลจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ภายหลังจากหมัก 3 วัน ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 60 จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล

Harun และคณะ (2011) ศึกษาผลของการปรับสภาพผักตบชวาด้วยวิธีทางกายภาพที่แตกต่างกันและนำมาย่อยด้วยกรด (กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที) และเปรียบเทียบกับผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ พบว่าผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพให้ผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 24.69 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ส่วนผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไอน้ำเป็นเวลา 30 นาทีให้ผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพร้อยละ 35.9 และผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาทีให้ผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพร้อยละ 52.4 และพบว่าเวลาที่ใช้ในการย่อยจะลดลงเมื่อตัวอย่างผ่านการปรับสภาพด้วยการอบและการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

Juan และคณะ (2013) ศึกษาการย่อยผักตบชวาด้วยกรดเพื่อผลิตน้ำตาลที่สามารถนำมาหมักได้ โดยใช้ผักตบชวาซึ่งเป็นวัชพืชน้ำและเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสที่สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ โดยใช้ส่วนใบและลำต้นของผักตบชวา จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้ CCD ศึกษาผลของการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1-3 โดยปริมาตร ความเข้มข้นของตัวอย่างร้อยละ 10-25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเวลาในการย่อย 15-25 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือการใช้ตัวอย่างเข้มข้นร้อยละ 11.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตรและใช้เวลาในการย่อย 20 นาที ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 33.3 กรัมต่อลิตร

Kasthuri และคณะ (2012) ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาโดยใช้ *Zymomonas mobilis* CP4 ผลิตเอทานอลจากผักตบชวาซึ่งเป็นวัชพืชน้ำโดยการย่อยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ผักตบชวาถูกปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกที่มีความเข้นข้นที่ต่างกัน 2 ขั้นตอน จากนั้นปรับพีเอชด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไฮดรอกไซด์และนำมาหมักโดยใช้ *Zymomonas mobilis* CP4 ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลาย โดยใช้การหมักแบบครั้งคราวและการหมักพร้อมการย่อย (SSF) และวัดผลได้ของเอทานอลเพื่อนำมาเปรียบเทียบกัน โดยใช้ CCD เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม เช่น พีเอช อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเอนไซม์และความเข้มข้นของตัวอย่างที่ให้ผลได้ของเอทานอลที่สูงสุด เมื่อทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมพบว่า ผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 68.3 กรัมต่อลิตร

Kumar และคณะ (2009) ได้ศึกษาการหมักผักตบชวาที่ผ่านการย่อยด้วยกรด โดยนำผักตบชวาที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมาหมักกับ *Pichia stipitis* พบว่า สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นเอทานอลได้ร้อยละ 72.83 ผลได้เท่ากับ 0.425 กรัมต่อกรัมของผักตบชวาและประสิทธิภาพการหมักเท่ากับ 0.176 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รวมทั้งได้มีการพัฒนาสมการทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายทฤษฎีการย่อยด้วยกรดเพื่อเปลี่ยนเฮมิเซลลูโลสไปเป็น เอทานอลซึ่งได้มีการทดสอบทางสถิติแล้วว่ามีความถูกต้องและเหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ma และคณะ (2010) ศึกษาการปรับสภาพโดยใช้กรดอ่อนและการใช้กรดอ่อนร่วมกับการปรับสภาพทางชีวภาพโดยใช้เชื้อรา *Echinodontium taxodii* (White rot fungus) หรือ *Antrodia* sp 5898 (Brown rot fungus) พบว่าการปรับสภาพร่วมกันโดยใช้เชื้อ *E. taxodii* ร่วมกับกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ร้อยละ 0.25 เป็นเวลา 10 วันให้ผลดีกว่าการปรับสภาพด้วยกรดเพียงอย่างเดียว ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาด้วยเอนไซม์ที่ผ่านการปรับสภาพโดยการใช้จุลินทรีย์ร่วมกับการใช้กรดจะเพิ่มขึ้น 1.13 ถึง 2.11 เท่าของการใช้กรดปรับสภาพในสภาวะเดียวกัน จากการศึกษากระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมักโดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการปรับสภาพร่วมกันดังกล่าวเท่ากับ 0.192 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งเพิ่มขึ้น 1.34 เท่าของการใช้กรดปรับสภาพเพียงอย่างเดียว ซึ่งให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0.146 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จะเห็นได้ว่าการปรับสภาพโดยใช้วิธีทางชีวภาพร่วมกับการใช้กรดอ่อนสามารถนำมาปรับปรุงกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์และการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาที่มีปริมาณลิกนินต่ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

Saccharomyces cerevisiae YRK 017 ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าในประเทศไทย (วิมลักษณ์, 2549)

Candida shehatae ATCC 22984 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2 สารเคมี

3.2.1 Glucose หรือ Dextrose

3.2.2 D-Xylose

3.2.3 Agar

3.2.4 Yeast extract

3.2.5 Neo-peptone

3.2.6 Sulfuric acid (H_2SO_4) ร้อยละ 96

3.2.7 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)

3.2.8 Sodium hydroxide (NaOH)

3.2.9 Potassium sodium tartrate (K-Na tartrate)

3.2.10 Calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$)

3.2.11 Sodium sulfite

3.2.12 Sulfuric acid (H_2SO_4) 1 N

3.2.13 Absolute ethyl alcohol (C_2H_5OH)

3.2.14 Monobasic sodium phosphate (NaH_2PO_4. $2H_2O$)

3.2.15 Dibasic sodium phosphate (Na_2HPO_4)

3.2.16 เอนไซม์ ACCELLERASE1500

3.3.17 สารเคมีวิเคราะห์ Neutral Detergent Fiber หรือ NDF ประกอบด้วย

1) Decahydronapthalene (reagent grade)
2) Acetone (ใช้ชนิดไม่มีสีและระเหยได้หมดไม่มีสิ่งตกค้าง)
3) Sodium sulphite (anhydrous, reagent grade) มีส่วนประกอบดังนี้
   ก. น้ำกลั่น
   ข. Sodium lauryl sulphate (USP)
   ค. Disodium ethylene diaminetetraacetate (EDTA) (dehydrate crystal, reagent grade)
   ง. Sodium borate decahydrate(reagent grade) ($Na_2B_4O_7$.$10H_2O$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ. Disodium hydrogen phosphate (reagent grade)(Na_2HPO_4anhydrous)

ฉ. 2-ethaoxy ethanol (ethylene glyclomonoethylether)(purified grade)

3.3.18 สารเคมีวิเคราะห์ acid detergent fiber (ADF) ประกอบด้วย

1) กรดกำมะถัน (reagent grade) 1 N
2) Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB)

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) รุ่น GC 2014 ยี่ห้อ Shimadzu

3.3.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Clean Bench) รุ่น BVT123 ยี่ห้อ Issco

3.3.3 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) รุ่น Polar1000/Orbit1900 ยี่ห้อ Contherm/Labnet

3.3.4 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Centrifuge) รุ่น Z383K ยี่ห้อ Hermle

3.3.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Helios Gamma ยี่ห้อ Thermo Electron Corporation

3.3.6 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) รุ่น Starter 3000 ยี่ห้อ Ohaus

3.3.7 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น PG5002 ยี่ห้อ Mettler Toledo

3.3.8 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น SI-234 ยี่ห้อ Denver Instrument

3.3.9 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) รุ่น WNB 45 ยี่ห้อ Memmert

3.3.10 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) รุ่น ES-315 ยี่ห้อ Tomy

3.3.11 ตู้อบแห้ง (Hot Air Oven) รุ่น Modell 600 ยี่ห้อ Memmert

3.3.12 ตู้เย็น

3.3.13 โถดูดความชื้น (Desicator)

3.3.14 เครื่องแก้ว (ฟลาสก์ หลอดทดลอง กรวย บีกเกอร์ ฯลฯ)

3.3.15 อุปกรณ์วัดปริมาตร (ปิเปต ไมโครปิเปต กระบอกตวง ฯลฯ)

3.3.16 ลวดเขี่ยเชื้อ

3.3.17 จุกยางปิดฟลาสก์ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

3.3.18 แท่งแม่เหล็กสำหรับกวนสาร (Magnetic Bar)

3.3.19 อุปกรณ์ของการวิเคราะห์ NDF และ ADF

1) ชุดเครื่องย่อยพร้อมด้วยบีกเกอร์ทรงกระบอกสูงขนาด 600 มิลลิลิตร
2) เตาไฟฟ้า (Hot plate)
3) Fritted glass crucible ขนาด 50 มิลลิลิตรที่มี porosity ขนาด 40-90 microns (P2)
4) Funnel
5) เตาเผา (muffle Furnace)
6) Filtering device พร้อม filtering flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร
7) โถดูดความชื้นและตู้อบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ขั้นตอนการดำเนินการ

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างผักตบชวาจากคลองภาษีเจริญ อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร จากนั้นเตรียมตัวอย่างโดยนำมาล้างให้สะอาด ตัดเอาเฉพาะส่วนใบและลำต้น สับให้เป็นชิ้นเล็กประมาณ 2 ถึง 2.5 เซนติเมตรและนำมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมงและเก็บไว้ในถุงพลาสติกโดยเก็บที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะนำมาใช้ (Ganguly และคณะ, 2012)

3.4.2 การปรับสภาพผักตบชวา (Pretreatment)

3.4.2.1 การปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก

นำตัวอย่างผักตบชวา 10 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟูริกซึ่งทำการแปรผันความเข้มข้นของกรดดังนี้ 0 2 2.5 และ 3 (ร้อยละโดยปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (โดยใช้อัตราส่วนผักตบชวาต่อกรด 1:10) นำไปให้ความร้อนโดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง นำผักตบชวาที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกส่วนกากออก หลังจากกรองด้วยผ้าขาวบางจะได้ตัวอย่าง 2 ส่วน คือ ส่วนกากและส่วนของเหลว นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำกลั่นจนพีเอชของน้ำที่ล้างเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ส่วนของเหลวที่กรองได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คัดเลือกวิธีการปรับสภาพผักตบชวาที่เหมาะสม ส่วนของเหลวจะเลือกตัวอย่างที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป (ดัดแปลงจาก Eshtiaghi และคณะ, 2012)

3.4.2.2 การปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำตัวอย่างผักตบชวา 10 กรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งทำการแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ดังนี้ 0 2 2.5 และ 3 (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (โดยใช้อัตราส่วนผักตบชวาต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1:10) นำไปให้ความร้อนโดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง นำผักตบชวาที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกส่วนกากออก หลังจากกรองด้วยผ้าขาวบางจะได้ตัวอย่าง 2 ส่วน คือ ส่วนกากและส่วนของเหลว นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำกลั่นจนพีเอชของน้ำที่ล้างเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ส่วนของเหลวที่กรองได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คัดเลือกวิธีการปรับสภาพผักตบชวาที่เหมาะสม ส่วนของเหลวจะเลือกตัวอย่างที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป (ดัดแปลงจาก Eshtiaghi และคณะ, 2012)

จากขั้นตอนก่อนหน้านี้ทำให้ได้ตัวอย่างทั้งหมด 4 ส่วน คือ 1. ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก 2. ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก 3. ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และ 4. ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในส่วนของกากผักตบชวา (วรพงษ์, 2535) ภายหลังการปรับสภาพด้วยกรดและเบส

การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์

- การเตรียมสารเคมีวิเคราะห์ Neutral Detergent Fiber หรือ NDF

1. ชั่ง EDTA 37.22 กรัมและ $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 13.62 กรัมใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร คนให้ละลาย อาจใช้ความร้อนช่วยเพื่อให้ละลายเร็วขึ้น
3. ชั่ง Sodium lauryl sulphate 30 กรัม เทใส่บีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร และเติม 2-ethaoxy ethanol จำนวน 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร นำไปคนให้ละลายด้วยเครื่อง magnetic stirrer
4. ชั่ง Na_2HPO_4 9.12 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ใช้ความร้อนช่วยให้ละลาย
5. นำสารละลายที่เตรียมไว้ ผสมให้เข้ากันในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร
6. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

- การเตรียมสารเคมีวิเคราะห์ acid detergent fiber (ADF)

1. เตรียมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 1 N โดยปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 96 (AR grade) 13.9 มิลลิลิตร เติมลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร ซึ่งเติมน้ำกลั่นไว้บางส่วนแล้ว (อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส) ผสมให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ตรวจสอบ normality โดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH 1 N หรือจะใช้ Na_2CO_3 1 N ผลที่ได้ควรจะเป็น 1 N

2. ชั่ง Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) 20 กรัม นำสารละลายกรดซัลฟูริก 1 N ที่เตรียมไว้มา 1 ลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง magnetic stirrer

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณ neutral detergent fiber (ผนังเซลล์)

1. ชั่ง celite 1 กรัม ใส่ลงใน Fritted glass crucible ขนาด 50 มิลลิลิตรหลังจากนั้นนำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำ Fritted glass crucible ใส่ในโถดูดความชื้นรอเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง จากนั้นชั่งน้ำหนัก glass crucible

2. ชั่งตัวอย่างที่ตากแห้งและบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร (20-30 mesh) 0.5-1.0 กรัม ให้ทราบน้ำหนักแน่นอน แล้วใส่ลงในบีกเกอร์ทรงกระบอกสูงขนาด 600 มิลลิลิตร

3. เติมน้ำยาและสารเคมีตามลำดับ ดังนี้

- น้ำยา neutral detergent ประมาณ 22 องศาเซลเซียส	100	มิลลิลิตร
- Decahydronapthalene หรือ ใช้ 1-Octanol	2	มิลลิลิตร
- Sodium sulphite	0.5	กรัม

ต้มให้เดือดภายใน 5-10 นาที เมื่อเริ่มเดือดลดความร้อนเพื่อกันไม่ให้ฟองล้นจากนั้นรีฟลักค์นับแต่เริ่มเดือด 1 ชั่วโมง

4. กรองโดยใช้ Fritted glass crucible ที่แห้งและทราบน้ำหนักแน่นอน โดยนำ Fritted glass crucible ไปวางบน filtering flask ที่ต่อกับ suction pump เปิด suction pump เปิดวาล์วดูด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อากาศออกจากขวดกรองช้าๆ เพื่อให้เกิดสุญญากาศในขวดกรองขณะที่กรอง และรักษาสุญญากาศในขณะกรองให้พอสำหรับกรองเท่านั้น ไม่ควรให้เกินความต้องการ ล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) โดยใช้น้ำให้น้อยที่สุดเท่าที่จะใช้ได้

5. หยุดสุญญากาศการกรองชั่วคราว เขี่ยเยื่อใยที่เป็นแผ่นใน crucible ให้แตกและหลุดออกจากผนัง crucible ด้วยแท่งแก้ว ชะล้างแท่งแก้ว กรองน้ำออก แล้วล้างซ้ำด้วยน้ำกลั่นร้อนอีกครั้ง

6. ล้างกากใน glass crucible ด้วย acetone 2 ครั้ง ดูดให้ตะกอนใน glass crucible แห้งหมดกลิ่น acetone แล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ชั่วโมงหรือตลอดคืนและนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งหาน้ำหนักที่คงที่

7. คำนวณหาปริมาณ NDF (cell wall) , NDS (neutral detergent solubles)

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

NDF (cell content) = 100 – NDF (ร้อยละ)

เมื่อ A = น้ำหนัก crucible + NDF

B = น้ำหนัก crucible แห้ง

S = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง

8. นำ glass crucible พร้อมตัวอย่างส่วนที่เหลือ (NDF) ไปเผาในเตาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนัก crucible+ ash ซึ่งมีค่าเท่ากับ C

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

เมื่อ C = น้ำหนัก crucible+ ash

วิธีวิเคราะห์ Acid-Detergent Fiber (ADF)

การวิเคราะห์หา ADF เป็นวิธีวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในอาหารสัตว์อย่างรวดเร็ว ผลต่างระหว่าง NDF และ ADF ก็คือ ปริมาณเฮมิเซลลูโลสโดยประมาณ (รวมโปรตีนที่ติดอยู่ที่ผนังเซลล์บ้าง)

1. อบ Fritted glass crucible ขนาด 50 มิลลิลิตร ในเตาอบที่ 100 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำ Fritted glass crucible ใส่ในโถดูดความชื้นรอเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง จากนั้นชั่งน้ำหนัก glass crucible

2. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดและอบแห้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 65 องศาเซลเซียสประมาณ 1 กรัม โดยให้ทราบน้ำหนักแน่นอน แล้วใส่ลงในบีกเกอร์ทรงกระบอกสูงขนาด 600 มิลลิลิตร

3. เติมน้ำยา acid detergent 100 มิลลิลิตรและ Decahydronapthalene หรือใช้ (1-Octanol) 2 มิลลิลิตร

4. ต้มให้ร้อนในเครื่อง Reflux โดยให้เดือดภายใน 5-10 นาที ลดความร้อนเมื่อเริ่มเดือด เพื่อไม่ให้เป็นฟองล้น ปรับความร้อนให้พอเดือดแล้ว Reflux นาน 1 ชั่วโมง นับแต่เริ่มเดือด

5. กรองโดยใช้ Fritted glass crucible ที่แห้งและทราบน้ำหนักแน่นอน โดยนำ Fritted glass crucible ไปวางบน filtering flask ที่ต่อกับ suction pump เปิด suction pump ดูดสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกจาก clucible ในขณะกรองเขี่ยตะกอนให้แตกและหลุดจากผนัง crucible ล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) 2 ครั้งโดยใช้น้ำครั้งละประมาณ 60 มิลลิลิตร และให้ล้างข้างๆ crucible

6. ล้างกากใน glass crucible ด้วย acetone จนไม่มีสีออกมากับ acetone ที่ใช้ล้าง ในขณะล้างใช้แท่งแก้วเขี่ยให้ตะกอนแตกออกจากกันเพื่อจะได้ถูกล้างโดย acetone ทั่วถึง

7. ดูดให้ตะกอนใน glass crucible แห้ง หมดกลิ่น acetone แล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมง หรือตลอดคืน

8. นำ glass crucible ออกจากตู้อบ แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นนำ glass crucible มาชั่งภายใน 30 นาที อย่าทิ้งไว้ในโถดูดความชื้นนานกว่านั้น (ตัวอย่างนี้เก็บไว้วิเคราะห์ลิกนินต่อไป)

9. การคำนวณ

$$\text{ADF (ร้อยละ)} = \frac{D-B}{S} \times 100$$

เมื่อ D = น้ำหนัก crucible + ADF

B = น้ำหนัก crucible

S = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง

10. เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ) = NDF (ร้อยละ) – ADF (ร้อยละ)

การวิเคราะห์หาลิกนินโดยใช้กรดซัลฟูริก

วิธีการเตรียมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 72 จำนวน 1000 มิลลิลิตรโดยเตรียมจากกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 96 ความหนาแน่น 1.84 กรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการคำนวณหาปริมาณกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 96

$$\text{กรัมของกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 96} = \frac{100 \times 98.08 \times 12}{96}$$

$$= 1226.00 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ปริมาณกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 96 ที่จะนำมาใช้ในการเตรียม

$$= \frac{1226.00}{1.84}$$

$$= 666.30 \text{ มิลลิลิตร}$$

วิธีการเตรียม

เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 1000 มิลลิลิตรจากนั้นตวงกรดซัลฟูริก ความเข้มข้นร้อยละ 96 จำนวน 666.30 มิลลิลิตร ใส่ลงไป และเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตรแล้วรอให้สารละลายในขวดวัดปริมาตรเย็นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตรอีกครั้ง (ระหว่างรอให้เย็นปริมาตรจะลดลง) แล้วผสมให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิเคราะห์

1. ใช้กากที่เหลือจากการวิเคราะห์ ADF หรือดำเนินการวิเคราะห์ขั้นต้นเช่นเดียวกันกับการหา ADF
2. นำ crucible ที่มี ADF อยู่มาวางในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วนำบีกเกอร์ไปวางบนถาด
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 72 ที่เย็นประมาณ 15 องศาเซลเซียส ลงไปใน crucible ให้ท่วม ADF พร้อมกับคนด้วยแท่งแก้วเพื่อให้ตะกอนแตกและละเอียดนุ่มดี (แท่งแก้วจะต้องแช่ค้างอยู่ใน crucible ห้ามนำออก) แล้วเติมกรดซัลฟูริกลงไปอีกประมาณครึ่งหนึ่งของการเติมครั้งแรกพร้อมกับคนให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 20-23 องศาเซลเซียส (ในที่เย็น) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. นำ crucible มากรองตะกอน โดยนำ crucible ไปวางบน filtering flask ที่ต่อกับ suction pump เปิด suction pump ดูดกรดที่เหลือออก ในขณะกรองเขี่ยตะกอนให้แตกและหลุดจากผนัง crucible ล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน (90-100 องศาเซลเซียส) หลายๆครั้งจนหมดกรด (ใช้กระดาษลิตมัสสีน้ำเงินทดสอบน้ำล้างที่ก้น crucible ดูว่าหมดกรดหรือยัง) กระดาษลิตมัสสีน้ำเงินไม่เปลี่ยนสี
5. นำ crucible ไปอบในเตาอบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมงหรืออบค้างคืน จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้น เมื่อเย็นแล้วนำออกมาชั่งน้ำหนัก ซึ่งจะเรียกว่า W_1
6. นำ crucible ไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนกระทั่ง carbon free แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น เมื่อเย็นแล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักซึ่งจะเรียกว่า W_2
7. คำนวณปริมาณลิกนิน (ADL) และเซลลูโลส

$$\text{ลิกนิน (ร้อยละ)} = \frac{W1-W2\times100}{S}$$

เมื่อ S = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง

W_1 = crucible + กากหลังอบ

W_2 = crucible + เถ้าหลังอบ

เซลลูโลส (ร้อยละ) = ADF (ร้อยละ) – ADL (ร้อยละ)

3.4.4 การกำจัดความเป็นพิษจากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริก (Detoxification)

นำส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก (ส่วนที่ 1) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรให้ความร้อนและควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อลดความเข้มข้นของสารประกอบระเหยได้ เติมน้ำกลั่นร้อนเพื่อปรับปริมาตรให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตรเช่นเดิม หลังจากนั้นเติมสารแคลเซียมไฮดรอกไซด์ลงไปพร้อมกับเติมโซเดียมซัลไฟต์ 0.1 กรัมต่อลิตร คนให้เข้ากันจนค่าพีเอชของสารละลายเท่ากับ 10 จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองโดยใช้ suction pump แยกส่วนตะกอนทิ้ง ส่วนใสที่ได้จะนำไปปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6.0 โดยใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 นอร์มอล ของเหลวที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Kumar และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 การศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (Enzymatic Hydrolysis)

3.4.5.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

นำตัวอย่างผักตบชวาส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2 จำนวน 2 กรัม เติมเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา เติมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยทำการแปรผันเวลาดังนี้ 0 6 12 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆและนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที (Garagain และคณะ, 2011) นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

3.4.5.2 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

นำตัวอย่างผักตบชวาส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2 จำนวน 2 กรัม เติมเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยทำการแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 และ 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา เติมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่ 0 1 2 3 4 5 12 24 และ 48 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที (Garagain และคณะ, 2011) นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

3.4.6 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอล (Fermentation)

3.4.6.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 จำนวน 1-2 loop เลี้ยงบนอาหารวุ้นเอียง YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อจากอาหารวุ้นเอียง YPD 1-2 loop ลงใน YPD broth เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 จะได้เชื้อไปใช้ในกระบวนการหมักต่อไป (Guragain และคณะ, 2011)

3.4.6.2 การเตรียมหัวเชื้อ *Candida shehatae* ATCC 22984

ถ่ายเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 จากอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar ลงในอาหาร Sabouraud Xylose Agar (SXA) บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหาร Sabouraud Xylose Broth (SXB) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร จำนวน 2-3 ลูป นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที หลังจากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรและปรับค่าให้เท่ากับ 1.0 โดยใช้อาหาร SXB ในการเจือจางหัวเชื้อยีสต์ (Chartchalerm และคณะ, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4.3 กระบวนการหมักเอทานอล แบ่งเป็น 3 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 เป็นส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 ที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ เติมเปปโตน 10 กรัมต่อลิตรและปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.0 นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- นำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 (ทำ 3 ซ้ำ)
- นำมาหมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 โดยเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 (ทำ 3 ซ้ำ)
- นำมาหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* YRK 017 และ *C. shehatae* ATCC 22984 โดยเติมหัวเชื้ออย่างละร้อยละ 5 (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ทำ 3 ซ้ำ

นำไปหมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหมักในสภาวะไร้อากาศโดยใช้จุกคอร์กปิดและบ่มในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ดังนั้นระยะเวลาการหมักทั้งหมดเป็น 72 ชั่วโมง) เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล

สูตรที่ 2 เป็นไฮโดรไลเซทจากส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตรและย่อยด้วยเอนไซม์ เติมเปปโตน 10 กรัมต่อลิตรและปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.0 นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- นำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 (ทำ 3 ซ้ำ)
- นำมาหมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 โดยเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 (ทำ 3 ซ้ำ)
- นำมาหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* YRK 017 และ *C. shehatae* ATCC 22984 โดยเติมหัวเชื้ออย่างละร้อยละ 5 (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ทำ 3 ซ้ำ

นำไปหมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหมักในสภาวะไร้อากาศโดยใช้จุกคอร์กปิดและบ่มในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล

สูตรที่ 3 เป็นไฮโดรไลเซทจากส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและย่อยด้วยเอนไซม์ เติมเปปโตน 10 กรัมต่อลิตรและปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.0 นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- นำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 (ทำ 3 ซ้ำ)
- นำมาหมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 โดยเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 (ทำ 3 ซ้ำ)
- นำมาหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* YRK 017 และ *C. shehatae* ATCC 22984 โดยเติมหัวเชื้ออย่างละร้อยละ 5 (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ทำ 3 ซ้ำ

นำไปหมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหมักในสภาวะไร้อากาศโดยใช้จุกคอร์กปิดและบ่มในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.7 การวิเคราะห์ผล

3.4.7.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำตัวอย่างน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใส วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ส่วนตะกอนเซลล์ที่ได้นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาใส่ในโถดูดความชื้น (Desicator) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งหาน้ำหนักเซลล์แห้งในหน่วยกรัมต่อลิตร โดยคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งดังนี้

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{น้ำหนักหลอดและเซลล์อบแห้ง} - \text{น้ำหนักหลอดอบแห้ง (กรัม)}) \times 1000 \text{ มล.}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างน้ำหมัก (มิลลิลิตร)}}$$

3.4.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

การทำกราฟมาตรฐาน โดยนำกลูโคสมาตรฐานไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งกลูโคสที่ผ่านการอบแห้ง 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0 100 200 400 600 800 และ1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำแล้วเติมสารละลายดีเอ็นเอส (DNS) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาทีและรอให้เย็น หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง นำตัวอย่างน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการเจือจางที่เหมาะสมแล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอส (DNS) เช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐาน นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง

3.4.7.3 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

นำส่วนใสที่ได้วิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี รุ่น Shimadzu 2014 โดยใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา คอลัมน์ที่ใช้เป็น DB-1 ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดเป็นชนิด flame ionization detector (FID)

3.4.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาโดยการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

การปรับสภาพด้วยกรดเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและได้รับความนิยมมากเนื่องจากทำให้เซลลูโลสมีโครงสร้างที่เหมาะสมต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยเซลลูโลสเพื่อเปลี่ยนเป็นกลูโคสได้ ซึ่งการปรับสภาพจะช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยให้มากขึ้น (Sheikh และคณะ, 2013) แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของการปรับสภาพด้วยกรดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ชนิดของกรด ความเข้มข้นของกรด ปริมาณของสับสเทรตและอุณหภูมิที่ใช้ในการปรับสภาพ ซึ่งการใช้กรดซัลฟูริกเป็นวิธีที่นิยมศึกษาอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการย่อยสูง (Behera และคณะ, 2014) และเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว ในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 2.0 2.5 และ 3.0 โดยปริมาตร จากนั้นนำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่กรองได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกที่ความเข้มข้นต่างๆและคัดเลือกความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงมาใช้ในการศึกษาต่อไป จากผลการทดลองพบว่าการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกที่ความเข้มข้นต่างๆให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.1 เมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกร้อยละ 0 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุด เท่ากับ 0.86±0.03 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกร้อยละ 2.0 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 15.63±0.11 กรัมต่อลิตรและเมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกร้อยละ 2.5 และ 3.0 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 14.92±0.56 และ 14.52±0.47 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากส่วนของเหลวหลังผ่านการปรับสภาพผักตบชวาโดยการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละโดยปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0.0*	0.86±0.03[c]
2.0	15.63±0.11[a]
2.5	14.92±0.56[b]
3.0	14.52±0.47[b]

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

: * ใช้น้ำกลั่นแทนความเข้มข้นกรดซัลฟูริกร้อยละ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้กรดซัลฟูริกร้อยละ 2.0 โดยปริมาตรให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 3.0 ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Juan และคณะ (2013) ที่ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยผักตบชวาโดยการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 3 โดยปริมาตร พบว่าการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด

4.2 ผลการศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาโดยการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

จากการศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 2.0 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและนำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่กรองได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ และคัดเลือกความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป จากการทดลองพบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุด เท่ากับ 0.86±0.03 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.0 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 2.35±0.34 กรัมต่อลิตรและเมื่อใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.5 และ 3.0 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 2.19±0.10 และ 2.23±0.43 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.5 และ 3.0 ซึ่งจากการศึกษาของ Ganguly และคณะ (2012) พบว่าการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางทำให้เกิดการบวม เพิ่มพื้นที่ผิวภายใน ช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสและทำลายโครงสร้างของลิกนิน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากส่วนของเหลวหลังผ่านการปรับสภาพผักตบชวาโดยการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0.0*	0.86 ± 0.03^{b}
2.0	2.35 ± 0.34^{a}
2.5	2.19 ± 0.10^{a}
3.0	2.23 ± 0.43^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

: * ใช้น้ำกลั่นแทนความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ในส่วนกากของผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ

จากการนำผักตบชวาปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 2.0 2.5 และ 3.0 โดยปริมาตรและนำส่วนกากของผักตบชวาที่กรองได้มาล้างน้ำจนน้ำที่ล้างออกมามีค่าพีเอชเป็นกลาง นำกากผักตบชวาไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน พบว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก (ใช้น้ำกลั่นแทน) ให้ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินสูงสุด ร้อยละ 25.42±0.78 10.04±5.11 และ 3.28±0.67 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกับการทดลองของ Singh และ Bishnoi (2013) ที่พบว่าในผักตบชวามีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 19.2 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 40.0 และลิกนินร้อยละ 4.8 ปริมาณองค์ประกอบที่แตกต่างกันในตัวอย่างผักตบชวาเนื่องมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ ภูมิประเทศ ฤดูกาล สารอาหารในแหล่งน้ำและเวลาในการเก็บตัวอย่างที่แตกต่างกัน ส่วนตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 2.5 และ 3.0 โดยปริมาตร ให้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 15.36±2.43 13.17±1.13 และ 14.02±1.94 ตามลำดับและให้ปริมาณลิกนินร้อยละ 1.81±0.45, 1.86±0.11 และ 1.71±0.19 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.3 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

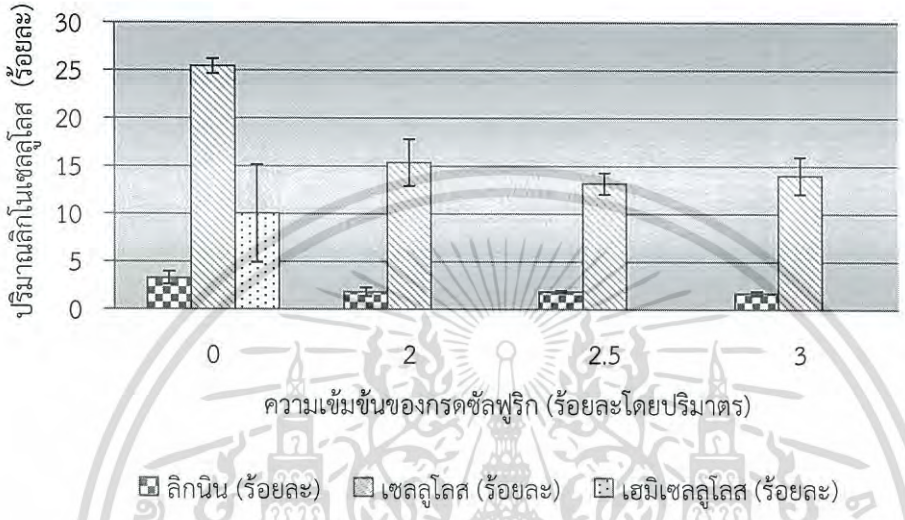
ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ) โดยปริมาตร	ลิกนิน (ร้อยละ)	เซลลูโลส (ร้อยละ)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)
0.0*	3.28±0.67[a]	25.42±0.78[a]	10.04±5.11[a]
2.0	1.81±0.45[b]	15.36±2.43[b]	0.00±0.00[b]
2.5	1.86±0.11[b]	13.17±1.13[b]	0.00±0.00[b]
3.0	1.71±0.19[b]	14.02±1.94[b]	0.00±0.00[b]

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
: * ใช้น้ำกลั่นแทนกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 0

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตรให้ปริมาณเซลลูโลสสูงและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 3.0 และปริมาณลิกนินไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน สำหรับปริมาณเฮมิเซลลูโลสหลังจากปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ พบว่าปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฮมิเซลลูโลสไม่เหลืออยู่เลย เนื่องจากโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสถูกทำลายได้ง่ายกว่าเซลลูโลส ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Singh และ Bishnoi (2013) ที่พบว่าการปรับสภาพด้วยกรดเจือจางไม่สามารถกำจัดลิกนินออกจากตัวอย่างได้ แต่จะทำให้โครงสร้างของลิกนินเกิดการเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้การปรับสภาพด้วยกรดเจือจางยังทำให้เกิดการสูญเสียเฮมิเซลลูโลสด้วย (Singh และคณะ, 2010) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตรมาใช้ในการศึกษาต่อไป เนื่องจากยังมีปริมาณเซลลูโลสเหลืออยู่ในปริมาณสูง



รูปที่ 4.1 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

จากการนำผักตบชวาไปปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 2.0 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและนำส่วนกากของผักตบชวาที่กรองได้มาล้างน้ำจนน้ำที่ล้างออกมามีค่าพีเอชเป็นกลาง นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำส่วนกากผักตบชวามาวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.2 พบว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ใช้น้ำกลั่นแทน) ให้ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินสูงสุดร้อยละ 25.42$\pm$0.78, 10.04$\pm$5.11 และ 3.28$\pm$0.67 ตามลำดับ เมื่อใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.0 ให้ปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 17.58$\pm$1.19 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 3.0 สำหรับปริมาณเฮมิเซลลูโลสและลิกนินพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 3.0 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ganguly และคณะ (2012) ซึ่งพบว่าการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำให้วัตถุดิบเกิดการบวม เพิ่มพื้นที่ผิวภายในทำให้โมเลกุลของน้ำเข้าไปทำลายพันธะระหว่างลิกนินและเฮมิเซลลูโลสได้ (Singh และคณะ, 2010) ช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสและทำลายโครงสร้างของลิกนิน (Balat และคณะ, 2008) ทำให้ลิกนินลดลงเนื่องจากลิกนินละลายในสารละลายเบส ซึ่งการปรับสภาพด้วยเบสเป็นวิธีที่ได้รับการ

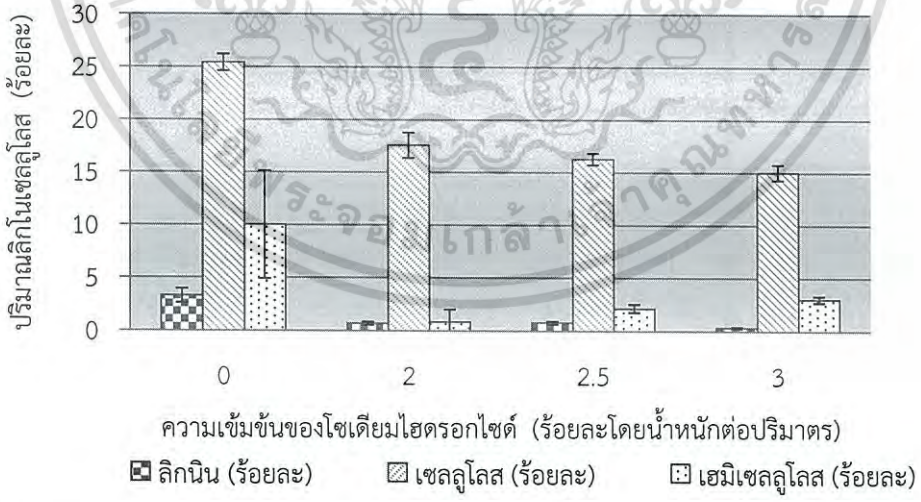
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยอมรับว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนินจากวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสได้ (Binod และคณะ, 2012)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ) โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	ลิกนิน (ร้อยละ)	เซลลูโลส (ร้อยละ)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)
0.0*	3.28±0.67[a]	25.42±0.78[a]	10.04±5.11[a]
2.0	0.69±0.16[b]	17.58±1.19[b]	0.86±1.13[b]
2.5	0.78±0.14[b]	16.29±0.54[bc]	2.13±0.37[b]
3.0	0.32±0.06[b]	15.03±0.73[c]	3.00±0.29[b]

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
: * ใช้น้ำกลั่นแทนโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0



รูปที่ 4.2 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการกำจัดความเป็นพิษจากการปรับสภาพด้วยกรด (Detoxification)

การปรับสภาพด้วยกรดทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิก (ลิกนิน) และน้ำตาลกลายเป็นสารประกอบที่ยับยั้งกระบวนการหมัก (Talebnia และคณะ, 2010) ซึ่งสารพิษเหล่านี้จะส่งผลกระทบต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ระหว่างทำการหมัก โดยสารพิษจะยับยั้งการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอและโปรตีนซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอ ดังนั้นก่อนการหมักจึงต้องผ่านการกำจัดสารพิษโดยการต้มและการปรับพีเอช ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการกำจัดความเป็นพิษที่เกิดจากการปรับสภาพด้วยกรดของผักตบชวาตามวิธีการของ Kumar และคณะ (2009) โดยนำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร 100 มิลลิลิตรให้ความร้อนและควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อลดความเข้มข้นของสารประกอบที่ระเหยได้ โดยสารพิษที่ระเหยได้ เช่น เฟอร์ฟูรอลและฟีนอลจะระเหยไประหว่างการต้ม เติมน้ำกลั่นร้อนเพื่อปรับปริมาตรให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตรเช่นเดิม จากนั้นเติมโซเดียมซัลไฟต์ 0.1 กรัมต่อลิตรและเติมสารแคลเซียมไฮดรอกไซด์ คนให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Magnetic Stirrer จนค่าพีเอชของสารละลายเท่ากับ 10 ซึ่งการปรับพีเอชด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะช่วยลดความเข้มข้นของสารพิษที่เป็นกรด เช่น กรดอะซิติกและกรดแทนนิก เป็นต้น นอกจากนี้การปรับพีเอชให้เท่ากับ 10 จะทำให้สารพิษพวกโลหะหนักเกิดการตกตะกอนอีกด้วย (Kumar และคณะ, 2009) จากนั้นนำไปกรองด้วยสุญญากาศแยกส่วนตะกอนทิ้ง นำของเหลวใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากการทดลองพบว่าไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร ก่อนกำจัดความเป็นพิษมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 15.58$\pm$0.30 กรัมต่อลิตรภายหลังกำจัดความเป็นพิษพบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 14.56$\pm$0.50 กรัมต่อลิตรซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังกำจัดความเป็นพิษลดลงร้อยละ 6.55 แสดงดังตารางที่ 4.5 ซึ่งสอดคล้องกับ Ganguly และคณะ (2012) พบว่าการกำจัดสารพิษโดยการปรับสภาพด้วยเบส มีข้อเสียคือ ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำตาล นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar และคณะ (2009) ที่ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของไฮโดรไลเซทจากผักตบชวาเพื่อผลิตเป็นเอทานอลโดยเชื้อ *Pichia stipitis* ซึ่งพบว่าไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 3.0 หลังกำจัดความเป็นพิษมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงร้อยละ 10

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ก่อนและหลังการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2

ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตร	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
ก่อนกำจัดสารพิษ	15.58$\pm$0.30
หลังกำจัดสารพิษ	14.56$\pm$0.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การศึกษาระยะเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

4.5.1 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยไฮโดรไลเซทส่วนกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2

เอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เป็นเอนไซม์รวมที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส เฮมิเซลลูเลสและเบต้ากลูโคซิเดส เป็นต้น จึงสามารถย่อยลิกโนเซลลูโลสได้เป็นอย่างดีและมีความสำคัญต่อการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม ช่วยพัฒนากระบวนการผลิตให้สะดวกมากยิ่งขึ้น ข้อดีของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เมื่อเทียบกับเอนไซม์เซลลูเลส คือ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยเนื่องจากสามารถย่อยสับสเทรตได้หลายชนิด มีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสสูงซึ่งจะช่วยย่อยเซลโลไบโอสเป็นกลูโคส ทำให้อัตราการย่อยสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการย่อยของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของสับสเทรต ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ พีเอชและเวลาในการย่อย (Qi และคณะ, 2009) ในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยผักตบชวาด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยนำส่วนกากของผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตรมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวาเป็นเวลา 120 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวาเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.54 ± 0.02^{e}
6	7.24 ± 0.08^{d}
12	7.89 ± 0.18^{c}
24	8.22 ± 0.42^{bc}
48	9.36 ± 0.13^{a}
72	8.50 ± 0.26^{b}
96	8.48 ± 0.42^{b}
120	8.55 ± 0.26^{b}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่า เมื่อใช้เวลาในการย่อยผักตบชวานานขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นจนถึง 48 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 9.36±0.13 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อใช้เวลาในการย่อยต่อไปปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลง ในชั่วโมงที่ 120 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 8.55±0.26 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในชั่วโมงที่ 48 มีค่าสูงสุดและมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยที่เวลาอื่น จากผลการทดลองดังกล่าวจึงได้เลือกใช้เวลาในการย่อยที่ 48 ชั่วโมงมาใช้ในการศึกษาต่อไป

4.5.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยไฮโดรไลเซทส่วนกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2

จากการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยไฮโดรไลเซทส่วนกากผักตบชวา โดยทำการแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ดังนี้ 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 และ 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวาและย่อยเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่าผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตรและนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ การย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 11.95±0.22 กรัมต่อลิตร ขณะที่การใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.05 0.10 0.15 0.20 และ 0.25 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 7.26±0.16 9.40±0.21 10.58±0.28 11.27±0.28 และ 11.01±1.11 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลาย่อย (ชม.)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา)					
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
0	0.38±0.03^{h}	0.36±0.07^{i}	0.45±0.13^{h}	0.48±0.11^{i}	0.41±0.10^{f}	0.49±0.08^{i}
1	0.76±0.16^{g}	0.90±0.10^{h}	1.34±0.04^{g}	1.43±0.05^{h}	1.56±0.19^{f}	1.78±0.26^{h}
2	0.93±0.04^{g}	1.46±0.15^{g}	2.00±0.12^{f}	2.63±0.06^{g}	2.86±0.07^{e}	3.33±0.23^{g}
3	1.39±0.07^{f}	2.18±0.20^{f}	2.93±0.20^{e}	3.72±0.07^{f}	3.83±0.54^{de}	4.63±0.27^{f}
4	1.74±0.08^{e}	2.70±0.11^{e}	3.72±0.15^{d}	4.47±0.14^{e}	4.62±0.50^{cd}	5.75±0.12^{e}
5	2.03±0.05^{d}	3.29±0.11^{d}	4.09±0.18^{d}	5.12±0.09^{d}	5.25±0.70^{c}	6.49±0.02^{d}
12	3.28±0.06^{c}	4.97±0.07^{c}	6.32±0.12^{c}	7.79±0.20^{c}	7.87±0.84^{b}	9.28±0.14^{c}
24	5.14±0.13^{b}	7.61±0.01^{b}	9.30±0.30^{b}	10.01±0.06b	9.88±1.16^{a}	10.95±0.22^{b}
48	7.26±0.16^{a}	9.40±0.21^{a}	10.58±0.28^{a}	11.27±0.28^{a}	11.01±1.11^{a}	11.95±0.22^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 ผลการศึกษาการย่อยไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 ด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

นำตัวอย่างส่วนกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 มาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมและทำการย่อยเป็นเวลาต่างๆ จากการทดลองพบว่า เมื่อเวลาในการย่อยนานขึ้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จนถึงชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 11.08±0.46 กรัมต่อลิตร และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับที่ระยะเวลาอื่น แสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวาเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.52 ± 0.09^{h}
1	1.81 ± 0.31^{g}
2	2.82 ± 0.46^{f}
3	3.73 ± 0.54^{e}
4	4.32 ± 0.59^{de}
5	4.73 ± 0.55^{d}
12	7.81 ± 0.57^{c}
24	9.82 ± 0.630^{b}
48	11.08 ± 0.46^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

พบว่าตัวอย่างที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 และนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่าตัวอย่างที่ปรับสภาพด้วยซัลฟูริกร้อยละ 2 (11.95±0.22 กรัมต่อลิตร) เนื่องจากตัวอย่างที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 ยังคงมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 0.86±1.13 ขณะที่ตัวอย่างที่ปรับสภาพด้วยซัลฟูริกร้อยละ 2 ไม่เหลือปริมาณเฮมิเซลลูโลสอยู่เลย ซึ่งการมีเฮมิเซลลูโลสจะทำให้ขนาดรูพรุนของวัตถุดิบลดลง จึงทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยเซลลูโลสได้น้อยลง สอดคล้องกับการทดลองของ Yang และคณะ (2011) ที่สรุปว่าขนาดรูพรุนของตัวอย่างส่งผลต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งการกำจัดเฮมิเซลลูโลสจะช่วยเพิ่มขนาดของรูพรุนและทำให้เซลลูโลสถูกย่อยได้มากขึ้น (Hendriks และ Zeeman, 2009) นอกจากนี้ยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Binod และคณะ (2010) และ Jeong และคณะ (2010) ที่พบว่าการปรับสภาพด้วยกรดจะทำให้เฮมิเซลลูโลสเกิดการละลายซึ่งจะทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยเซลลูโลสได้มากขึ้น ดังนั้นในการศึกษาต่อไป ในส่วนกากจะใช้กากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาใช้ในการทดลองต่อไป

4.5.4 ผลการศึกษาการย่อยไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 ด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

จากการนำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตรและผ่านการกำจัดความเป็นพิษปริมาตร 5 มิลลิลิตร ย่อยด้วยเอนไซม์โดยเติมเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร (ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว 5 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ 1.50 มิลลิลิตร) เอนไซม์ละลายในอะซิเตทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.9 จากการทดลองพบว่า ที่เวลาเริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1.08±0.00 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 1.21±0.01 และ 1.23±0.04 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จากนั้นที่เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ 1.10±0.00 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมงให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดและไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยที่เวลาอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	1.08 ± 0.00^{c}
1	1.13 ± 0.02^{b}
2	1.13 ± 0.00^{b}
3	1.13 ± 0.01^{b}
4	1.13 ± 0.02^{b}
5	1.13 ± 0.02^{b}
12	1.21 ± 0.01^{a}
24	1.23 ± 0.04^{a}
48	1.10 ± 0.00^{bc}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

: ใช้ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว 5 มิลลิลิตรผสมกับเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรที่ละลายในอะซิเตทบัฟเฟอร์ 98.5 มิลลิลิตร ดังนั้นอัตราการเจือจาง 20 เท่า

4.5.5 ผลการศึกษาการย่อยไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 ด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำมาปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.0 และนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.10 จากการทดลองพบว่า ที่เวลาเริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 0.28 ± 0.01 กรัมต่อลิตร เมื่อระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์นานขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเรื่อยๆ เนื่องมาจากในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 อาจมีสารยับยั้งเกิดขึ้นและมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจะไม่นำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 มาใช้เป็นสับสเทรตในการหมักเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ2 และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.28 ± 0.01^{ab}
1	0.28 ± 0.01^{a}
2	0.27 ± 0.01^{ab}
3	0.27 ± 0.01^{ab}
4	0.26 ± 0.01^{bc}
5	0.27 ± 0.01^{ab}
12	0.27 ± 0.01^{ab}
24	0.28 ± 0.01^{ab}
48	0.25 ± 0.01^{c}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

: ใช้ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว 5 มิลลิลิตรผสมกับเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรที่ละลายในอะซิเตทบัฟเฟอร์ 98.5 มิลลิลิตร ดังนั้นอัตราการเจือจาง 20 เท่า

ภายหลังจากที่นำไฮโดรไลเซททั้ง 4 ส่วน (1. ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก 2. ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก 3. ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และ 4. ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์) มาทำการศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 และทำการคัดเลือกไฮโดรไลเซทส่วนที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงมาศึกษากระบวนการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4.11 ซึ่งไฮโดรไลเซทส่วนที่จะนำมาใช้ศึกษาในการหมักมี 3 ส่วน ดังนี้

1. ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 14.56 ± 0.50 กรัมต่อลิตร (สูตรที่ 1)
2. ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วยเอนไซม์ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 11.95 ± 0.22 กรัมต่อลิตร (สูตรที่ 2)
3. ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 11.08 ± 0.46 กรัมต่อลิตร (สูตรที่ 3)

สำหรับไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกหลังกำจัดความเป็นพิษและย่อยด้วยเอนไซม์ ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 24.20 ± 0.01 กรัมต่อลิตร แต่ก่อนที่จะนำไฮโดรไลเซทในส่วนนี้มาใช้จะต้องนำไประเหยน้ำออก ซึ่งการระเหยน้ำต้องใช้เวลานานและทำให้ต้นทุนในการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงขึ้น นอกจากนี้หลังการระเหยน้ำอาจเกิดสารพิษที่ยับยั้งกระบวนการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงไม่นำไฮโดรไลเซทส่วนนี้มาใช้

ตารางที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวและส่วนกากผักตบชวา

ตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านกระบวนการต่างๆ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
	ไฮโดรไลเซท ส่วนของเหลว	ไฮโดรไลเซท ส่วนกาก
1. การปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก ร้อยละ 2 โดยปริมาตร	15.63±0.11	N.D.
- หลังการกำจัดสารพิษ	14.56±0.50	N.D.
- การย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	24.20±0.01*	11.95±0.22
2. การปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	2.35±0.34	N.D.
- การย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	5.60±0.01*	11.08±0.46

หมายเหตุ : เมื่อ N.D. คือ Not Detected (ไม่ได้ดำเนินการวิเคราะห์)
*ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์และนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ได้มาจากการคูณด้วยค่าอัตราการเจือจาง ซึ่งใช้ไฮโดรไลเซทส่วนของเหลว 5 มิลลิลิตรผสมกับเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรที่ละลายในอะซิเตทบัฟเฟอร์ 98.5 มิลลิลิตร ดังนั้นอัตราการเจือจาง 20 เท่า

4.6 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอล

4.6.1 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 และผ่านการกำจัดความเป็นพิษ (สูตรที่ 1)

การศึกษากระบวนการหมักโดยนำไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้มาเติมเปปโตน 10 กรัมต่อลิตรและปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.0 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC 22984 และหมักด้วยเชื้อผสมในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบ่มต่อในสภาวะนิ่งและไร้อากาศโดยใช้จุกคอร์กปิด บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอล ส่วนตะกอนเซลล์นำไปวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง จากการศึกษาพบว่า หลังจากที่นำไฮโดรไลเซทไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารจะเกิดตะกอนสีขาวขุ่นขนาดเล็กจำนวนมาก ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับณพลพัทธ์และคณะ (2555) นอกจากนี้ยังพบว่าไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารสูตรนี้ได้ เนื่องจากไฮโดรไลเซทมีสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งสีของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรไลเซทจะส่งผลทำให้การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรเกิดความคลาดเคลื่อน

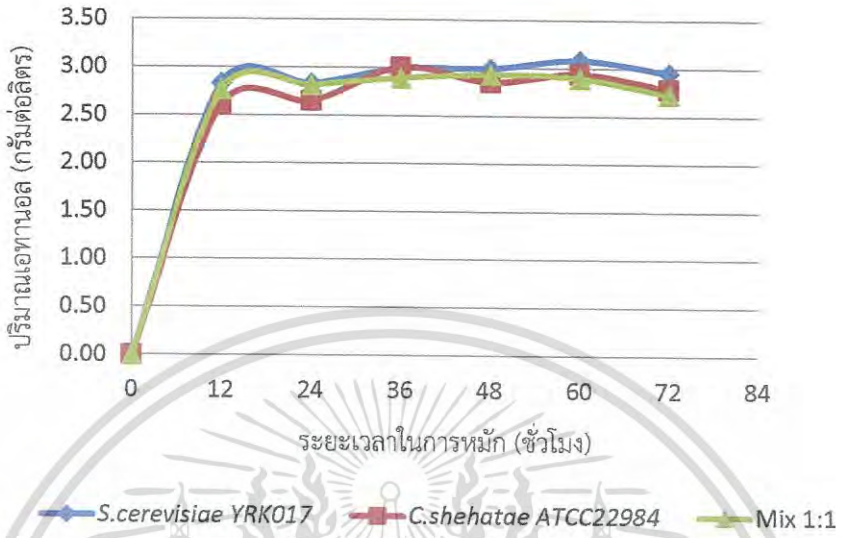
ไฮโดรไลเซทที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 12-72 โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 3.09±0.12 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 12 24 36 48 60 และ 72 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งการทดลองของ Mishima และคณะ (2008) พบว่าการหมักผักตบชวาโดยเชื้อ *S. cerevisiae* NBRC 2346 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 9 เท่ากับ 10.3 กรัมต่อลิตร ขณะที่ไฮโดรไลเซทที่หมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 มีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 36-72 โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.01±0.24 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 36 48 60 และ 72 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนไฮโดรไลเซทที่หมักด้วยเชื้อผสม มีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 24-60 โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 2.94±0.05 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 24 36 48 และ 60 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.3 จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 และผ่านการกำจัดความเป็นพิษ (สูตรที่ 1) พบว่า เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตเอทานอลได้รวดเร็วกว่าเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับทิวากรและคณะ (2556) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาโดยเชื้อ *C. shehatae* TISTR 5843 และ *S. cerevisiae* YRK 017 พบว่ากระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เชื้อสามารถผลิตเอทานอลได้รวดเร็วกว่าเชื้อ *C. shehatae* TISTR 5843

ตารางที่ 4.12 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่ 1) โดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	*S.cerevisiae* YRK 017	*C.shehatae* ATCC 22984	เชื้อผสม
0	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{c}
12	2.84±0.10^{a}	2.61±0.01^{b}	2.77±0.09^{b}
24	2.84±0.18^{a}	2.65±0.05^{b}	2.82±0.07^{ab}
36	2.99±0.08^{a}	3.01±0.24^{a}	2.90±0.08^{a}
48	3.00±0.04^{a}	2.86±0.19^{ab}	2.94±0.05^{a}
60	3.09±0.12^{a}	2.94±0.15^{a}	2.90±0.03^{a}
72	2.96±0.37^{a}	2.79±0.22^{ab}	2.73±0.09^{b}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่ 1) หมักโดยเชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4.6.2 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 2)

การศึกษากระบวนการหมักโดยนำไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ได้มาเติมเปปโตน 10 กรัมต่อลิตรและปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.0 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC 22984 และหมักด้วยเชื้อผสมในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบ่มต่อในสภาวะนิ่งและไร้อากาศโดยใช้จุกคอร์กปิด บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล ส่วนตะกอนเซลล์นำไปวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง จากการศึกษาพบว่า ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ชั่วโมง 24 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 10.91±0.11 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะลดลง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเซทเท่ากับ 11.07±0.15 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 1.08±0.01 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 12-72 โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 3.82±0.10 กรัมต่อลิตร

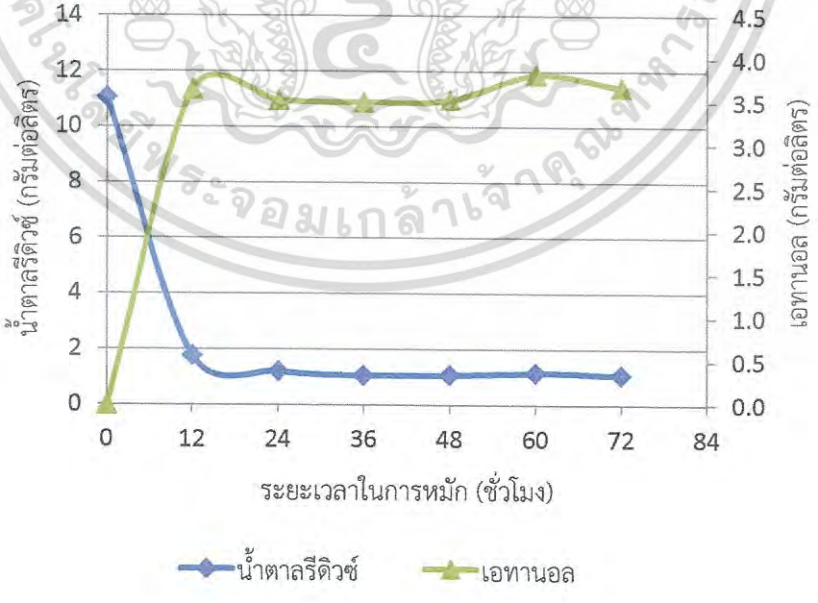
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 12 24 36 48 60 และ 72 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.13 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 2)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	*S.cerevisiae* YRK 017	*C.shehatae* ATCC 22984	เชื้อผสม
0	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{c}
12	3.65±0.37^{a}	2.65±0.01^{a}	3.49±0.08^{ab}
24	3.53±0.25^{a}	2.86±0.21^{a}	3.47±0.14^{ab}
36	3.50±0.06^{a}	3.03±0.54^{a}	3.44±0.36^{b}
48	3.53±0.15^{a}	2.84±0.13^{a}	3.53±0.09^{ab}
60	3.82±0.10^{a}	2.85±0.04^{a}	3.79±0.01^{a}
72	3.67±0.12^{a}	2.65±0.01^{a}	3.56±0.21^{ab}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

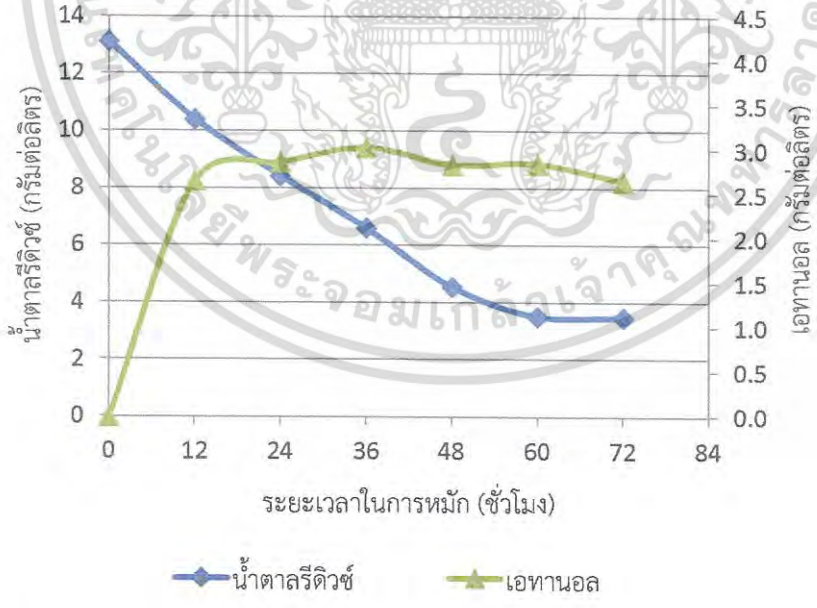


รูปที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 2) ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

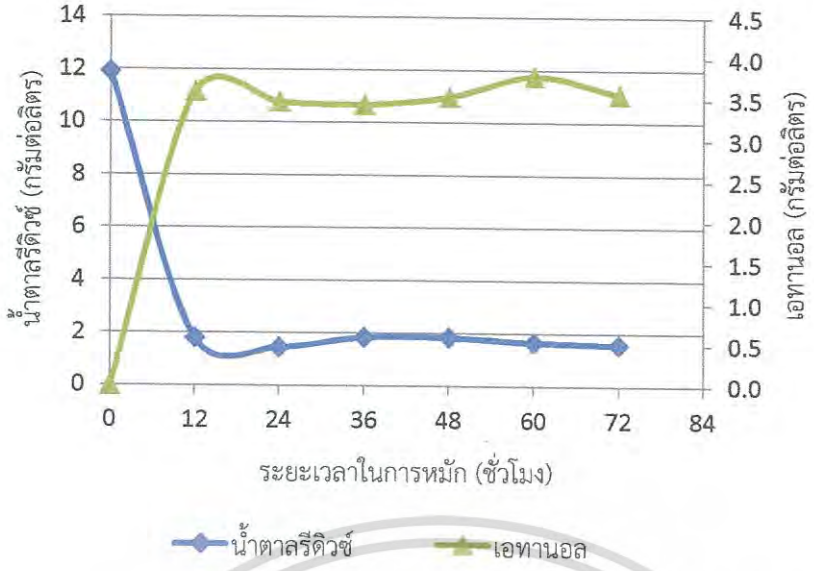
ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ชั่วโมง 12 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 9.43±0.07 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะลดลง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเซทเท่ากับ 13.13±0.30 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเรื่อยๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 3.48±0.05 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 12-72 โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.03±0.56 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 12 24 36 48 60 และ 72 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.5 เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *C. shehatae* ATCC 22984 โดยพิจารณาจากกราฟพบว่า เชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 มีอัตราการใช้น้ำตาลช้ากว่า *S. cerevisiae* YRK 017

ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อผสม มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ชั่วโมง 24 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 11.81±0.24 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะลดลง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเซทเท่ากับ 11.92±0.14 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมักซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 1.59±0.03 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 3.79±0.01 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 12 24 48 และ 72 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.6 จากการทดลองพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น



รูปที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 2) ด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 2) ด้วยเชื้อผสมเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4.6.3 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 3)

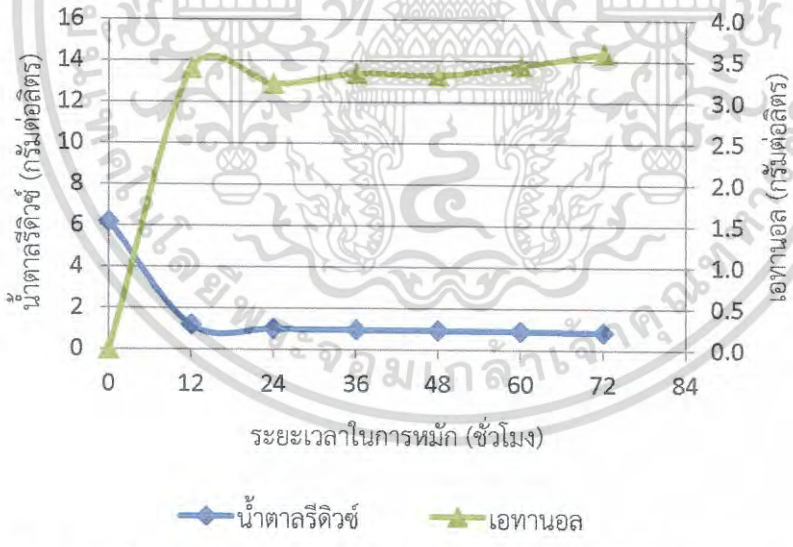
การศึกษากระบวนการหมักโดยนำไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ได้มาเติมเปปโตน 10 กรัมต่อลิตรและปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.0 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC 22984 และหมักด้วยเชื้อผสมในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบ่มต่อในสภาวะนิ่งและไร้อากาศโดยใช้จุกคอร์กปิด บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล ส่วนตะกอนเซลล์นำไปวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง จากการศึกษาพบว่า ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ชั่วโมง 24 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 9.35±0.09 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะลดลง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเซทเท่ากับ 6.20±1.01 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 0.87±0.09 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 12-72 โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 3.60±0.23 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 12 24 36 48 60 และ 72 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C.shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 3)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	*S.cerevisiae* YRK 017	*C.shehatae* ATCC 22984	เชื้อผสม
0	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{c}
12	3.40±0.31^{a}	2.63±0.03^{d}	3.15±0.20^{b}
24	3.23±0.18^{a}	2.91±0.04^{a}	3.34±0.12^{ab}
36	3.35±0.09^{a}	2.74±0.04^{c}	3.42±0.15^{a}
48	3.33±0.18^{a}	2.89±0.06^{ab}	3.27±0.15^{ab}
60	3.45±0.19^{a}	2.81±0.04^{bc}	3.25±0.08^{ab}
72	3.60±0.23^{a}	2.82±0.08^{abc}	3.46±0.05^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 3) ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

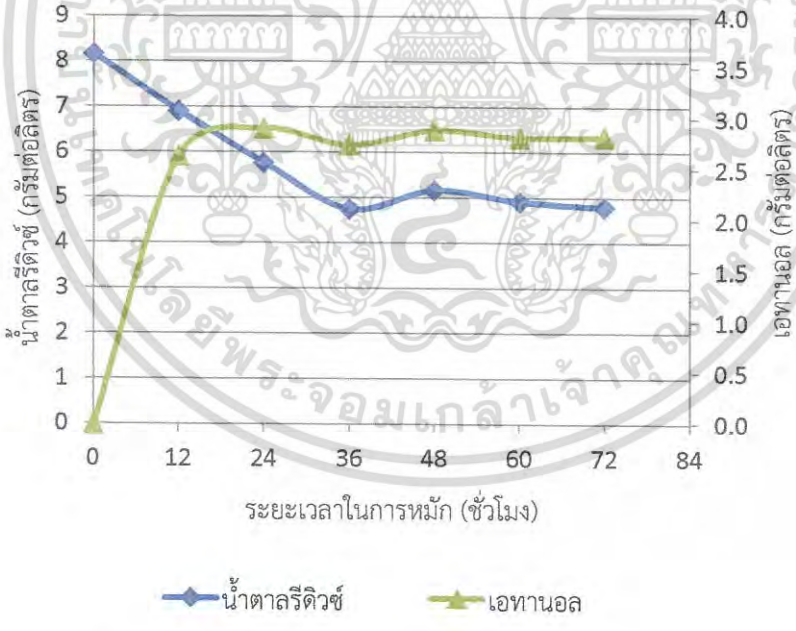
ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Aswathy และคณะ (2010) ที่ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยนำส่วนกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 (ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) และย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและเบต้ากลูโคซิเดส นำมาหมักด้วยเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. cerevisiae (ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง) พบว่า ชั่วโมงที่ 84 มีปริมาณเอทานอลสูงสุด 4.4 กรัมต่อลิตร

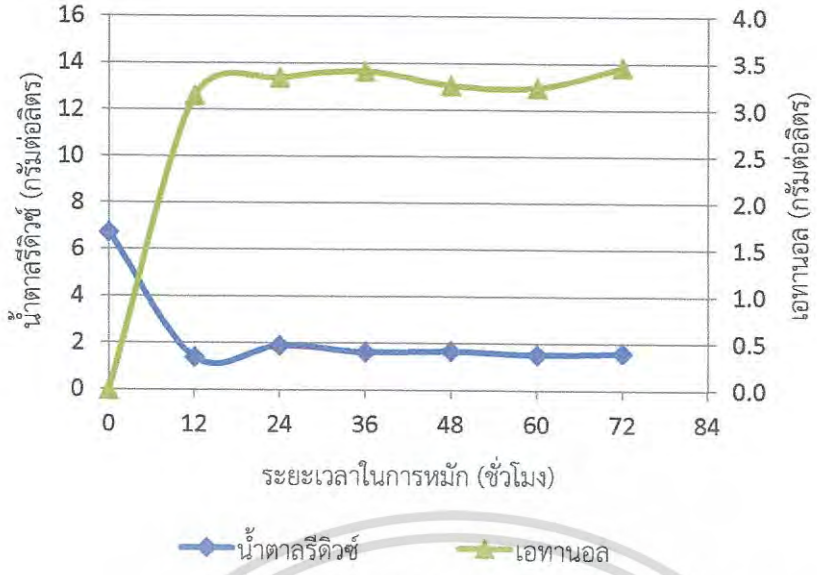
ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ชั่วโมง 12 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 14.77±0.13 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะลดลง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเซทเท่ากับ 8.17±1.34 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเรื่อยๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 4.80±1.35 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 2.91±0.04 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชั่วโมงที่ 48 และ 72 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.8

ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อผสม มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ชั่วโมง 24 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 10.14±0.11 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อจะลดลง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเซทเท่ากับ 6.74±0.43 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมักซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 1.59±0.04 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 24-72 โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 3.46±0.05 กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 24 36 48 60 และ 72 มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 3) ด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเซทส่วนกากของผักตบชวา (สูตร 3) ด้วยเชื้อผสมเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4.6.4 ผลการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลในอาหาร 3 สูตร โดยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม

เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตเอทานอลในอาหารไฮโดรไลเซททั้ง 3 สูตร ที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC 22984 และการใช้เชื้อผสม โดยคำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์ ดังแสดงในตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลในอาหาร 3 สูตร หมักโดยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC22984 และเชื้อผสม

ค่าจลนพลศาสตร์	*S. cerevisiae* YRK 017			*C. shehatae* ATCC 22984			เชื้อผสม		
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3
$Y_{p/s}$	N.D.	0.393	0.681	N.D.	0.977	1.212	N.D.	0.355	0.691
Productivity ของผลิตภัณฑ์	0.236	0.304	0.284	0.084	0.221	0.121	0.118	0.299	0.139

: เมื่อ N.D. คือ Not Detected (ไม่ได้ดำเนินการวิเคราะห์)

: เมื่อ Yp/s คือ ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท (กรัมต่อกรัม)

Productivity ของผลิตภัณฑ์ คือ ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ต่อชั่วโมง (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองในไฮโดรไลเซทสูตรที่ 1 (ส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ) พบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 มีประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์สูงสุด 0.236 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม

ผลการทดลองในไฮโดรไลเซทสูตรที่ 2 (ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วยเอนไซม์) พบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 มีประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์สูงสุด 0.304 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม เนื่องจากในไฮโดรไลเซทสูตรที่ 2 หลังผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส พบว่า ไม่มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสเหลืออยู่เลย แสดงว่าในไฮโดรไลเซทจะเหลือแต่น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม ดังนั้นเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 จึงหมักเอทานอลจากน้ำตาสกลูโคสและมีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงสุด ซึ่งสูงกว่าเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม จากงานวิจัยของ Tesfaw และ Assefa (2014) พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* สามารถหมักน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม และทนต่อสภาวะที่มีเอทานอลได้ดีกว่าเชื้อชนิดอื่น ดังนั้นจึงสามารถผลิตเอทานอลได้สูง

ผลการทดลองในไฮโดรไลเซทสูตรที่ 3 ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 มีประสิทธิภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์สูงสุด 0.284 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม

เมื่อเปรียบเทียบไฮโดรไลเซททั้ง 3 สูตร พบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้สูงสุดในอาหารไฮโดรไลเซทสูตรที่ 2 (ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วยเอนไซม์) ปริมาณเอทานอลสูงสุด 3.82 ± 0.10 กรัมต่อลิตร ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท ($Y_{P/S}$) 0.393 กรัมต่อกรัมและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล 0.304 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาโดยการใช้กรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0 2.0 2.5 และ 3.0 ร่วมกับการให้ความร้อนโดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพผักตบชวา โดยพิจารณาจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวและปริมาณเซลลูโลสในไฮโดรไลเซทส่วนกาก พบว่า การปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตรให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 15.63±0.11 กรัมต่อลิตรและในไฮโดรไลเซทส่วนกากภายหลังจากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตรให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดร้อยละ 15.36±2.43 ส่วนการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่า โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 2.35±0.34 กรัมต่อลิตรและในไฮโดรไลเซทส่วนกากภายหลังจากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดร้อยละ 17.58±1.19 ดังนั้นจึงเลือกใช้กรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มาใช้ปรับสภาพผักตบชวาต่อไป

ภายหลังจากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำให้ได้ตัวอย่างทั้งหมด 4 ส่วน คือ

1.ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก

2.ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก

3.ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

4.ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำส่วนที่ 1 มากำจัดความเป็นพิษ ภายหลังกำจัดความเป็นพิษพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงร้อยละ 6.55 จากนั้นนำทั้ง 4 ส่วนมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยทำการศึกษาหาระยะเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม พบว่า เอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด โดยส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก (ส่วนที่ 2) ภายหลังจากย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 11.95±0.22 กรัมต่อลิตร ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ส่วนที่ 4) ภายหลังจากย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 11.08±0.46 กรัมต่อลิตร ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก (ส่วนที่ 1) แม้จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงแต่ก่อนนำมาใช้จะต้องนำไประเหยน้ำออก ซึ่งทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นจึงไม่นำมาใช้ในการหมัก ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ส่วนที่ 3) ภายหลังจากย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่น้อยจึงไม่นำมาใช้ในการหมัก จากนั้นศึกษากระบวนหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสมในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยแบ่งกระบวนการหมักเป็น 3 สูตรดังนี้

สูตรที่ 1 ส่วนของเหลวใสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก (ส่วนที่ 1) ที่ผ่านการกำจัดความเป็นพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรที่ 2 ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก (ส่วนที่ 2) และย่อยด้วยเอนไซม์

สูตรที่ 3 ส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ส่วนที่ 4) และย่อยด้วยเอนไซม์

จากการหมักไฮโดรไลเซทสูตรที่ 1 พบว่าไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 3.09±0.12 กรัมต่อลิตร ไฮโดรไลเซทที่หมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.01±0.24 กรัมต่อลิตร และไฮโดรไลเซทที่หมักด้วยเชื้อผสม มีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 2.94±0.05 กรัมต่อลิตร

จากการหมักไฮโดรไลเซทสูตรที่ 2 พบว่าไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 3.82±0.10 กรัมต่อลิตร ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.03±0.56 กรัมต่อลิตร และไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อผสม ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 3.79±0.01 กรัมต่อลิตร

จากการหมักไฮโดรไลเซทสูตรที่ 3 พบว่าไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 3.60±0.23 กรัมต่อลิตร ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *C. shehatae* ATCC 22984 ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 2.91±0.04 กรัมต่อลิตร ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อผสม ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 3.46±0.05 กรัมต่อลิตร

เมื่อคำนวณค่าจลนพลศาสตร์เปรียบเทียบไฮโดรไลเซททั้ง 3 สูตร พบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้สูงสุดในอาหารไฮโดรไลเซทสูตรที่ 2 (ไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยด้วยเอนไซม์) โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุด 3.82±0.10 กรัมต่อลิตร ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท ($Y_{P/S}$) 0.393 กรัมต่อกรัมและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล 0.304 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

5.2 ข้อเสนอแนะ

การเก็บตัวอย่างผักตบชวาควรเก็บในปริมาณมากและเก็บครั้งเดียวให้เพียงพอต่อการทำการทดลองตลอดทั้งงานวิจัย เพราะการเก็บตัวอย่างหลายครั้ง ต่างสถานที่หรือต่างเวลา จะส่งผลต่อการวิเคราะห์ลิกโนเซลลูโลส เนื่องจากองค์ประกอบของสารในผักตบชวาจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับลักษณะภูมิประเทศ ฤดูกาล สารอาหารในแหล่งน้ำและเวลาในการเก็บตัวอย่างด้วย สำหรับการย่อยผักตบชวาโดยการใช้เอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตารีดิวซ์ ควรมีการศึกษาวิธีการอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น ศึกษาการย่อยโดยใช้เอนไซม์หลายชนิดผสมกัน เพื่อให้เกิดการย่อยเป็นน้ำตาลได้มากขึ้นและนำมาหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2549. **การนำของเสียจากการผลิตเอทานอลมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่า**. กรุงเทพฯ : สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กล้าณรงค์ ศรีรอต เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์ พิเชษฐ์ วิจารณ์ วิชชุกิจเอ็จ สโรบล พิพัฒน์ วีระถาวร และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2544. "การศึกษาสถานภาพของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแก๊สโซฮอล์." หน้า 32-48. ใน **การประชุมเผยแพร่ผลงานวิจัยด้านพลังงานทดแทน**. กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กองโครงการและประสานงานวิจัย กลุ่มงานเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร.

เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2547. **โอกาสของมันสำปะหลังกับอุตสาหกรรม**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณพลพัทธ์ ปุญญฤทธิ์เจริญ. ภัทรพงศ์ เว้นบาปและโศภิต แซ่ตั้ง. 2555. "การผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยเชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843," โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ทิวากร อมศิริ. รัตติมา น้อยพานิชและพศิน พยุงสิน. 2556. "การผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยเชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843 และ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017." โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เทพปัญญา เจริญรัตน์. 2545. "การผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังแบบครั้งคราวโดยการเติมสับสเทรตขึ้นกับพีเอช." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธีรภัทร ศรีนรคุตร. 2543. "เชื้อเพลิงเอทานอลจากวัสดุทางการเกษตรแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่ของคนไทย." วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 15(3) : 5-8.

ระวีวรรณ แกล้วกล้า. 2538. "การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2529. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม**.

อำนวย ขวัญเมือง. 2548. "การหมักแอลกอฮอล์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรโดยใช้เซลลูเลสและ *Saccharomyces cerevisiae*." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Abdel-Fattah, A. F. and Abdel-Naby, M. A. 2012. "Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Water Hyacinth Cellulose." *Carbohydrate Polymers*. 87 : 2109-2113.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Aswathy, U. S. Sukumaran, R. K. Devi, G.L. Rajasree, K.P. Singhania, R.R. and Pandey, A. 2010. "Bio-Ethanol from Water Hyacinth Biomass: An Evaluation of Enzymatic Saccharification Strategy." *Bioresource Technology*. 101 : 925-930.

Badger, P. C. 2002. **Trends in New Crops and New Uses.** Alexandria : ASHS Press.

Ballesteros, M. and Oliva, J.M. 2004. "Ethanol from Lignocellulosic Materials by a Simultaneous Saccharification and Fermentation process (SSF) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875." *Process Biochemistry*. 39 : 1843-1854.

Behera, S. Arora, R. Nandhagopal, N. and Kumar, S. 2014. "Importance of Chemical Pretreatment for Bioconversion of Lignocellulosic Biomass." *Renewable and Sustainable Energy Review*. 36 : 91-106.

Binod, P. Sindhu, R. Singhania, R. R. Vikram, S. Devi, L. Nagalakshmi, S. Kurien, N. Sukumaran, R. K. and Pandey, A. 2010. "Bioethanol Production from Rice Straw: An." *Bioresource. Technology*. 101 : 4767–4774.

Boudet, A. Kajita, S. Grima-Pettenati, J. and Goffner, D. 2003. "Lignins and Lignocellulosics: A Better Control of Synthesis for New and Improved Uses." *Trends Plant Science*. 8 : 576–581.

Cardona, C. A. Quintero, J. A. and Pazl, C. 2010. "Production of Bioethanol from Sugarcane Bagasse : Status and Perspectives." *Bioresource Technology*. 101 : 54–66.

Chandel, A. K. Chandrasekhar, G. Radhika, K. Ravinder, R. and Ravindra, P. 2011. "Bioconversion of Pentose Sugars into Ethanol : are View and Future Directions." *Bioresource Technology*. 6 : 8–20.

Chartchalerm, I. N. A. Tanawut, T. Thikamporn, K. Ponpitak, P. and Virapong, P. 2007. "Appropriate Technology for The Bioconversion of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) to Liquid Ethanol: Future Prospects for Community Strengthening and Sustainable Development." *EXCLI Journal*. 6 : 167-176.

Chen, M. Zhao, J. and Xia, L. 2008. "Enzymatic Hydrolysis of Maize Straw Polysaccharides for The Production of Reducing Sugars." *Carbohydrate Polymers*. 71 : 411–415.

Ciftci, T. Constantinides, A. and Wang, S. S. 1983. "Optimization of Conditions and Cell Feeding Procedures for Alcohol Fermentation." *Biotechnology and Bioengineering*. 25(8) : 2007-2023.

Cortez, D. V. and Roberto, I. C. 2010. "Individual and Interaction Effects of Vanillin and syringaldehyde on The Xylitol Formation by *Candida guilliermondii*." *Bioresource Technology*. 101 : 58–65.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eshtiaghi, M. N. Yoswathana, N. Kuldiloke, J. and Ebadi, A. G. 2012. "Preliminary Study for Bioconversion of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) to Bioethanol." *African Journal of Biotechnology*. 11(21) : 4921-4928.

Evangelos, C. P. and Costas, P. P. 2009. "Biofuels: A Survey on Pros and Cons." *Energy & Fuels*. 23 : 1055–1066.

Ganguly, A. Chatterjee, P. K. and Dey, A. 2012. "Studies on Ethanol Production from Water Hyacinth—A Review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 16 : 966–972.

Ghose, T. K. and Tyagi, R. D. 1979. "Rapid Ethanol Fermentation of Cellulose Hydrolysate. II. Product and Substrate Inhibition and Optimization of Fermentor." *Biotechnology and Bioengineering*. 21(8) : 1401-1420.

Guragain, Y. N. Coninck, J. D. Husson, F. Durand, A. and Rakshit, S. K. 2011. "Comparison of Some New Pretreatment Methods for Second Generation Bioethanol Production from Wheat Straw and Water Hyacinth." *Bioresource Technology*. 102 : 4416-4424.

Huran, M. Y. Radiah, A. B. D. Abidin, Z. Z. and Yunus, R. 2011. "Effect of physical pretreatment on dilute acid hydrolysis of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)". *Bioresource Technology*. 102 : 5193-5199.

Hendriks, A. and Zeeman, G. 2009. "Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass". *Bioresource Technology*. 100 : 8-10.

Hugles, D. B. Tudroszen, N. G. and Moye, C. J. 1984. "The Effect of Temperature on The Kinetics of Ethanol Production by A Thermotolerant Strain of *:Kluveromyces maxxionus*." *Biotechnology Letter*. 6(1) : 1-6.

Johan, G. and Fogelbolm, C. J. 2000. **Chemical Pulping**. Finland : Fapet Jyvaskyla.

Kasthuri, T. Gowdhaman, D. Ponnusami, V. 2012. "Production of Ethanol from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) by *Zymomonas mobilis* CP4: Optimization Studies". *Asian Journal of Scientific Research*. 1-5.

Kim, K. H. Tucker, M. P. and Nguyen. 2002. "QA." *Biotechnology*. 18(3) : 489.

Kreger-van Rij, N. J. W. 1984. **The Yeast a Taxonomic Study**. Netherlands : B.V. Amsterdum : Elsevier Science Publishers.

Kumar, A. Singh, L. K. and Ghosh, S. 2009. "Bioconversion of Lignocelluloses of Water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Hemicelluloses Acid Hydrolysate to Ethanol by *Pichia stipitis*." *Bioresource Technology*. 102 : 4416-4424.

Lee, Y. H. and Fan, L. T. 1982. "Kinetic Studies of Enzymatic Hydrolysis of Insoluble Cellulose: Analysis of Initial Rate." *Biotechnology and Bioengineering*. 24 : 2383–2406.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ma, F. Yang, N. Xu, C. Yu, H. Wu, J. and Zhang, X. 2010. "Combination of Biological Pretreatment with Mild Acid Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Production from Water Hyacinth." *Bioresource Technology*. 101 : 9600-9604.

Manivannan, A. Jayarani, P. H. and Narendhirakannan, R. T. 2012. "Enhanced Acid Hydrolysis for Bioethanol Production from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) using Fermentating Yeast *Candida shehatae* NRRLY-981." *Journal of Scientific and Industrial Research*. 71 : 51-56.

Mejia, C. C. Gutierrez, A. J. and Halwagi, M. E. 2012. "A Comparison of Pretreatment Methods for Bioethanol Production from Lignocellulosic Materials." *Process Safety and Environmental Production*. 90 : 189-202.

Miller, G. L. 1959. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent For The Determination of Reducing Sugars." *Analytical. Chemistry*. 31 : 426–428.

Mishima, D. Kuniki, M. Sei, K. Soda, S. Ike, M. and Fujita, M. 2008. "Ethanol Production from Candidate Energy Crops: Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Water lettuce (*Pistia stratiotes* L.)". *Bioresource Technology*. 99 : 2495-2500.

Murphy, J. D. and McCarthy, K. 2005. "Ethanol Production from Energy Crops and Wastes for Use As a Transport Fuel in Ireland." *Applied Energy*. 82 : 148–166.

Nigam, J. N. 1999. "Production of Ethanol from Recycled Paper Sludge Using Cellulase and Yeast, *Kluveromyces marxianus*." *Biomass and Bioenergy*. 21 : 135-143.

Nigam, J. N. 2002. "Bioconversion of Water-Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Hemicellulose Acid Hydrolysate to Motor Fuel Ethanol by Xylose Fermenting Yeast." *Biotechnology*. 97 : 107–116.

Norkrans, B. 1967. "Cellulose and Cellulolysis." *Applied. Microbail*. 9 : 91-215

Panchal, C. J. and Tavares, F. C. A. 1990. **Yeast Strain Selection for Fuel Ethanol Production.Yeast Strain Selection**. New York : Marcel Dekker Inc.

Qi, B. Chen, X. Shen, F. Su, Y. and Wan, Y. 2009. "Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Wheat Straw Pretreated by Alkaline Peroxide Using Response Surface Methodology". *Industrial* and *Engineering Chemistry Research.* 48 : 7346–7353.

Redding, A. P. Wang, Z. Keshwani, D. R. and Cheng, J. J. 2011. "High Temperature Dilute Acid Pretreatment of coastal Bermuda grass for Enzymatic Hydrolysis." *Bioresource Technology*. 102 : 15–24.

Rose , A. H. and Harison, J. S. 1970. **Yeast Technology**. vol.3. New York : Academic Press Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rosen, K. 1968. "Manufacture of Baker Yeast." *Process Biochemistry*. 3(2) : 45-47.

Sheikh, M. I. Kim, C. H. Lee, J. Y. Kim, S. H. Kim, G. C. Shim, S. W. and Kim, J. W. 2013. "Production of Bioethanol from Waste Money Bills-A New Cellulosic Material for Biofuels". *Food and Bioproducts Processing*. 91 : 60-65.

Silverstein, R. Chen, Y. Sharma-Shivappa, R. Boyette, M. and Osborne, J. 2007. "A Comparison of Chemical Pretreatment Methods for Improving Saccharification of Cotton Stalks." *Bioresource Technology*. 98 : 3000–3011.

Singh, A. Singh, N. Bishnoi, N.R. 2010. "Enzymatic Hydrolysis of Chemical Pretreated Rice Straw by *Aspergillus niger* and *Aspergillus heteromorphous*". *Journal of Scientific and Industrial Research*. 69 : 232–237.

Singh, A. and Bishnoi, N.R. 2013. "Comparative Study of Various Pretreatment Techniques for Ethanol Production from Water Hyacinth". *Industrial Crops and Products*. 44 : 283-289.

Sousa, D. C. L. Chundawat, S. P. S. Balan, V. and Dale, B. E. 2009. "Cradle-to-grave Assessment of Existing Lignocellulose Pretreatment Technologies." *Biotechnology*. 20 : 339–347.

Sun and Cheng, J. 2002. "Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review." *Bioresource Technology*. 34 : 831–841.

Talebnia, F. Karakashev, D. and Angelidakil. 2010. "Production of Bioethanol from Wheat Straw : an Over View on Pretreatment Hydrolysis and Fermentation." *Bioresource Technology*. 101 : 44–53.

TAPPI. 2000-2001. **Method for Determination of Alpha-, Beta-, Gramma-Cellulose in Pulp**. Technical Association of Pulp and Paper Industry.

Tesfaw, A. and Assefa, F. 2014. "Current Trends in Bioethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* : Substrate, Inhibitor Reduction, Growth Variables, Coculture and Immobilization." *International Scholarly Research Notices*. 2014 : 1-11.

Xia, L. M. and Sheng, X. L. 2004. "High-Yield Cellulose Production by *Trichoderma ressei* ZU-02 on Corn Cob Residues." *Bioresource Technology*. 91 : 259–262.

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

[Online]. Available : http://www.lentikats.eu/en/product-lines. (สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556)

[Online]. Available : http://www.wattano.ac.th/wattano/Web_saunpluak/Pic_Fol001-250 up 2550/146-ผักตบชวา/02ลำต้น.JPG. (สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online]. Available : http://www.wattano.ac.th/wattano/Web_saunpluak/Pic_Fol001-250 up 2550/146-ผักตบชวา/03ใบ.JPG. (สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556)

[Online]. Available : http://www.wattano.ac.th/wattano/Web_saunpluak/Pic_Fol001-250 up 2550/146-ผักตบชวา/04ดอก.JPG. (สืบค้นวันที่ 20 ต.ค. 2556)

[Online]. Available : http://accellerase.dupont.com/fileadmin/user_upload/live/accellerease/documents/DUP-00413_ProdSheet_1500_web.pdf. (สืบค้นวันที่ 13 ต.ค.2558)

[Online]. Available : http://www.foodnetworksolution.com/uploaded/yeast.jpg (สืบค้นวันที่ 13 ต.ค. 2558)

[Online]. Available : http://www.ncyc.co.uk/print-photo-ncyc-CBS5813.html. (สืบค้นวันที่ 5 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud xylose agar (SXA)
   - นีโอเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร
   - ไซโลส 20 กรัมต่อลิตร
   - วุ้น 15 กรัมต่อลิตร
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud xylose broth (SXB)
   - นีโอเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร
   - ไซโลส 20 กรัมต่อลิตร
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA)
   - นีโอเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร
   - เดกซ์โทรส 20 กรัมต่อลิตร
   - วุ้น 15 กรัมต่อลิตร
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose broth (SDB)
   - นีโอเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร
   - เดกซ์โทรส 20 กรัมต่อลิตร
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract-Peptone-Dextrose Agar (YPD)
   - Yeast extract 10 กรัมต่อลิตร
   - เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร
   - กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร
   - วุ้น 15 กรัมต่อลิตร

   <u>วิธีการเตรียม</u>
   1. ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
   2. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือ

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

สารเคมี

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

วิธีการเตรียมสารละลาย

1. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1
   - ชั่งสาร 3,5-dinitrosalicylic 10 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร
   - เติมสารละลายด่างทีละน้อย (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร)
   - คนให้สารละลายให้เข้ากัน
   - เติมโพแทสเซียมโซเดียมทาเตทลงไปทีละน้อยพร้อมกับคนให้เข้ากัน จนครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน
   - อบกลูโคสที่ตู้อบ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์เป็นเวลา 30 นาที
   - ชั่งน้ำหนักกลูโคสที่ผ่านการอบและทิ้งให้เย็น 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ปรับปริมาตร จะทำให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
   - ทำการเจือจางสารละลายกลูโคสที่ได้โดยใช้น้ำกลั่น ดังตารางนี้

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	–

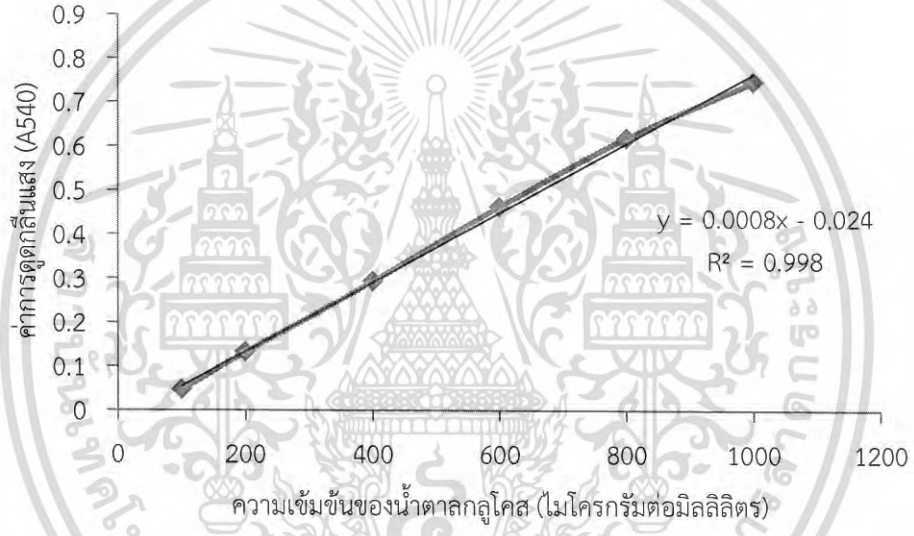
   - เตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส โดยนำสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้ และทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เขียนกราฟมาตรฐานกลูโคสระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน และคำนวณสมการ

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าสารให้เข้ากัน
2. นำไปให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา5 นาที หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
3. ปิเปตน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดทดลองเขย่าสารให้เข้ากัน
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณได้จากสูตร



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

$$\text{น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร} \times \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน} \times 1000}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Jekel, 2005)

2.1 กราฟมาตรฐานของเอทานอล

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

2.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 10 และ 12 โดยปริมาตร

2.1.3 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโตกราฟี (HS-GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-2014 Chromatograph, Shimadzu) สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป

2.1.4 ใช้คอลัมน์ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัวตรวจวัด (detecter) ชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะโดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa

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

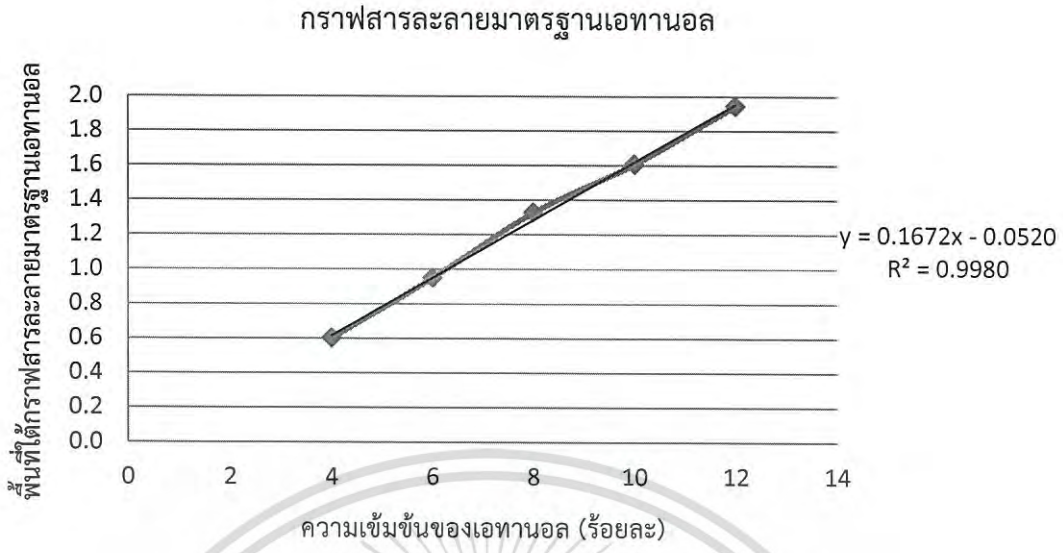
2.1.6 นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้น กำหนดให้เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลเป็นแกน x

2.2 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

2.2.1 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง โดยผสมสารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร

2.2.2 วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

<u>สูตรการคำนวณปริมาณเอทานอล</u>

สมการ y = 0.1672x - 0.0520

ให้ y = ค่าอัตราส่วนระหว่างเอทานอลต่อโพรพานอล

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารละลายความเข้มข้นต่างๆ

1. การเตรียมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0, 2.5 และ 3.0 โดยปริมาตร % (v/v)

– ความเข้มข้นกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตร

H_2SO_4เข้มข้นร้อยละ 96

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ C_1 = 96% $(96/100)V_1 = (2 / 100)(500ml)$

$$V_1 = \frac{(2/100)(500ml)}{(96/100)}$$

V_1 = 10.42 มิลลิลิตร

ดังนั้นการเตรียมกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 โดยปริมาตร ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 96 ปริมาตร 10.42 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

– ความเข้มข้นกรดซัลฟูริกร้อยละ 2.5 โดยปริมาตร

H_2SO_4เข้มข้นร้อยละ 96

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ C_1 = 96% $(96/100)V_1 = (2.5 / 100)(500ml)$

$$V_1 = \frac{(2.5/100)(500ml)}{(96/100)}$$

V_1 = 13.02 มิลลิลิตร

ดังนั้นการเตรียมกรดซัลฟูริกร้อยละ 2.5 โดยปริมาตร ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 96 ปริมาตร 13.02 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

– ความเข้มข้นกรดซัลฟูริกร้อยละ 3 โดยปริมาตร

H_2SO_4เข้มข้นร้อยละ 96

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ C_1 = 96% $(96/100)V_1 = (3 / 100)(500ml)$

$$V_1 = \frac{(3/100)(500ml)}{(96/100)}$$

V_1 = 15.63 มิลลิลิตร

ดังนั้นการเตรียมกรดซัลฟูริกร้อยละ 3 โดยปริมาตร ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 96 ปริมาตร 15.63 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร % (w/v)

– ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

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

$$2\ \% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{500\ \text{(มิลลิลิตร)}}$$

$$2\ \% = 10 \quad \text{กรัม}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วนน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

– ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

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

$$2.5\ \% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{500\ \text{(มิลลิลิตร)}}$$

$$2.5\ \% = 12.5 \quad \text{กรัม}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 12.5 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วนน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

– ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

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

$$3\ \% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{500\ \text{(มิลลิลิตร)}}$$

$$3\ \% = 15 \quad \text{กรัม}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วนน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล

การเตรียมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 นอร์มอล โดยเตรียมจากกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 96 โดยน้ำหนัก (% w/w)

H_2SO_4 96 % w/w หมายถึง สารละลายกรด 100 กรัม มีเนื้อกรด 96 กรัม

จากสูตร ความหนาแน่น (D) = $\frac{\text{น้ำหนัก}}{\text{ปริมาตร}}$

สารละลายกรด $\frac{100}{1.84}$ ลูกบาศก์เซนติเมตร (ml) มีเนื้อกรด 96 กรัม

ถ้าสารละลาย 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร มีเนื้อกรด $96 \times 1000 \times \frac{1.84}{100}$ กรัม = 1766.4 กรัม

ดังนั้น ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก 96 % w/w = $\frac{g}{MW} = \frac{1766.4}{98}$ = 18.0245 กรัมสมมูล

กรดซัลฟูริก 96 % w/w มีความเข้มข้น 18.02 N ถ้าต้องการเตรียมกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 1.0 N ปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ml) จากกรดความเข้มข้น 18.02 N จะต้องทำการเจือจางกรดเข้มข้นดังกล่าว

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$18.02\ N \times V_1 = 1.0\ N \times 100$ มิลลิลิตร

$V_1 = 5.5494$ มิลลิลิตร

ดังนั้น การเตรียมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 นอร์มอล จะต้องปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 96 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 5.55 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเตรียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 (Guragain และคณะ, 2011)

การเตรียม Stock solution

สารละลาย A : กรดอะซิติก (CH_3COOH) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

การเตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

(มวลโมเลกุล 60 ความถ่วงจำเพาะ 1.05 ความเข้มข้นร้อยละ 99.6)

ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร ต้องการให้มีเนื้อกรด 0.2 โมลาร์	0.2×60	กรัม
มีเนื้อกรด 99.6 กรัม จากสารละลาย	100	กรัม
มีเนื้อกรด 0.2×60 กรัม จากสารละลาย	$\frac{100 \times 0.2 \times 60}{99.6}$ = 12.05	กรัม
มีกรดอะซิติก 1.05 กรัม ในปริมาตร	1	มิลลิลิตร
มีกรดอะซิติก 12.05 กรัม ในปริมาตร	$\frac{12.05}{1.05}$ = 11.48	มิลลิลิตร

ดังนั้น การเตรียมการเตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1 ลิตร โดยปิเปตกรดอะซิติก 11.5 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

สารละลาย B : โซเดียมอะซิเตท (CH_3COONa) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

การเตรียมโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (มวลโมเลกุล 82.03)

ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร ต้องการให้มีเนื้อสาร 0.2 โมลาร์	= 0.2×82.03	กรัม
	= 16.406	กรัม

ดังนั้น การเตรียมการเตรียมโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1 ลิตร โดยชั่งโซเดียมอะซิเตท 16.4 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A 74 มิลลิลิตรและสารละลาย B 176 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ระดับพีเอชที่ต้องการคือเท่ากับ 5.0 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ง-1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0*	1	0.665	0.670	0.668	0.835	0.863
	2	0.718	0.724	0.721	0.901	
	3	0.668	0.697	0.683	0.854	
2.0	1	0.249	0.247	0.248	15.500	15.625
	2	0.250	0.252	0.251	15.688	
	3	0.248	0.253	0.251	15.688	
2.5	1	0.236	0.232	0.234	14.625	14.917
	2	0.241	0.225	0.233	14.563	
	3	0.248	0.249	0.249	15.563	
3.0	1	0.230	0.226	0.228	14.250	14.521
	2	0.238	0.218	0.228	14.250	
	3	0.231	0.250	0.241	15.063	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 50 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยกรดซัลฟูริก
อัตราการเจือจาง 1 เท่าในตัวอย่างที่เป็นชุดควบคุม (น้ำกลั่น)
* ใช้น้ำกลั่นแทนความเข้มข้นกรดซัลฟูริกร้อยละ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0*	1	0.665	0.670	0.668	0.835	0.863
	2	0.718	0.724	0.721	0.901	
	3	0.668	0.697	0.683	0.854	
2.0	1	0.364	0.351	0.358	2.238	2.350
	2	0.439	0.435	0.437	2.731	
	3	0.333	0.332	0.333	2.081	
2.5	1	0.342	0.325	0.334	2.088	2.192
	2	0.362	0.365	0.364	2.275	
	3	0.355	0.352	0.354	2.213	
3.0	1	0.308	0.302	0.305	1.906	2.233
	2	0.333	0.329	0.331	2.069	
	3	0.435	0.436	0.436	2.725	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 5 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์
อัตราการเจือจาง 1 เท่าในตัวอย่างที่เป็นชุดควบคุม (น้ำกลั่น)
* ใช้น้ำกลั่นแทนความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 ตารางแสดงปริมาณลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ในตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละโดยปริมาตร)	ซ้ำที่	ลิกนิน (ร้อยละ)	เซลลูโลส (ร้อยละ)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)
0*	1	2.91	25.39	13.28
	2	2.87	24.65	12.68
	3	4.05	26.21	4.15
2.0	1	2.33	17.86	0.00
	2	1.63	15.21	0.00
	3	1.48	13.00	0.00
2.5	1	1.97	14.47	0.00
	2	1.85	12.64	0.00
	3	1.75	12.40	0.00
3.0	1	1.60	12.10	0.00
	2	1.92	15.97	0.00
	3	1.60	13.99	0.00

หมายเหตุ : * ใช้น้ำกลั่นแทนกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 ตารางแสดงปริมาณลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ในตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ) โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	ซ้ำที่	ลิกนิน (ร้อยละ)	เซลลูโลส (ร้อยละ)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)
0*	1	2.91	25.39	13.28
	2	2.87	24.65	12.68
	3	4.05	26.21	4.15
2.0	1	0.55	18.49	0.27
	2	0.87	16.24	2.16
	3	0.65	18.01	0.15
2.5	1	0.93	16.81	1.90
	2	0.74	16.33	1.94
	3	0.66	15.73	2.56
3.0	1	0.30	15.72	2.99
	2	0.27	14.26	2.72
	3	0.38	15.11	3.30

หมายเหตุ : * ใช้น้ำกลั่นแทนโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ก่อนและภายหลังการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก 2 (ร้อยละโดยปริมาตร)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
ก่อนกำจัดความเป็นพิษ	1	0.242	0.245	0.244	15.250	15.584
	2	0.250	0.256	0.253	15.813	
	3	0.247	0.254	0.251	15.689	
หลังกำจัดความเป็นพิษ	1	0.227	0.233	0.230	14.375	14.563
	2	0.237	0.247	0.242	15.125	
	3	0.225	0.228	0.227	14.188	

หมายเหตุ : เจือจาง 50X ในตัวอย่างที่ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก (ตามวิธีของ Kumar และคณะ (2009))

$$\text{น้ำตาลรีดิวซ์ลดลง (ร้อยละ)} = \frac{15.584 - 14.563}{15.584} \times 100 = 6.55$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 0 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.329	0.324	0.327	0.409	0.380
	2	0.282	0.271	0.277	0.346	
	3	0.309	0.308	0.309	0.386	
0.10	1	0.303	0.330	0.317	0.396	0.364
	2	0.229	0.229	0.229	0.286	
	3	0.328	0.330	0.329	0.411	
0.15	1	0.481	0.478	0.480	0.600	0.454
	2	0.281	0.273	0.277	0.346	
	3	0.334	0.331	0.333	0.416	
0.20	1	0.440	0.444	0.442	0.553	0.481
	2	0.426	0.429	0.428	0.535	
	3	0.291	0.274	0.283	0.354	
0.25	1	0.325	0.320	0.323	0.404	0.411
	2	0.416	0.411	0.414	0.518	
	3	0.251	0.247	0.249	0.311	
0.30	1	0.409	0.414	0.412	0.515	0.493
	2	0.327	0.320	0.324	0.405	
	3	0.443	0.453	0.448	0.560	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 1 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05-0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 1 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.762	0.760	0.761	0.951	0.763
	2	0.541	0.552	0.547	0.684	
	3	0.523	0.522	0.523	0.654	
0.10	1	0.763	0.789	0.776	0.970	0.903
	2	0.625	0.636	0.631	0.789	
	3	0.764	0.755	0.760	0.950	
0.15	1	0.214	0.216	0.215	1.344	1.344
	2	0.205	0.213	0.209	1.306	
	3	0.231	0.211	0.221	1.381	
0.20	1	0.226	0.227	0.227	1.419	1.427
	2	0.220	0.221	0.221	1.381	
	3	0.242	0.232	0.237	1.481	
0.25	1	0.228	0.243	0.236	1.475	1.560
	2	0.299	0.270	0.285	1.781	
	3	0.222	0.233	0.228	1.425	
0.30	1	0.297	0.295	0.296	1.850	1.777
	2	0.237	0.239	0.238	1.488	
	3	0.332	0.305	0.319	1.994	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 1 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05 และ 0.10 ml/g Biomass
อัตราการเจือจาง 5 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 2 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.755	0.700	0.728	0.904	0.929
	2	0.780	0.775	0.778	0.910	
	3	0.723	0.722	0.723	0.973	
0.10	1	0.215	0.216	0.216	1.350	1.456
	2	0.214	0.230	0.222	1.388	
	3	0.256	0.265	0.261	1.631	
0.15	1	0.354	0.354	0.354	2.213	2.000
	2	0.300	0.282	0.291	1.819	
	3	0.313	0.316	0.315	1.969	
0.20	1	0.423	0.429	0.426	2.663	2.634
	2	0.427	0.429	0.428	2.675	
	3	0.417	0.403	0.410	2.563	
0.25	1	0.444	0.461	0.453	2.831	2.856
	2	0.470	0.467	0.469	2.931	
	3	0.449	0.449	0.449	2.806	
0.30	1	0.536	0.535	0.536	3.350	3.329
	2	0.494	0.496	0.495	3.094	
	3	0.558	0.576	0.567	3.544	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 1 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05 ml/g Biomass
อัตราการเจือจาง 5 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 3 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.213	0.211	0.212	1.325	1.392
	2	0.234	0.231	0.233	1.456	
	3	0.223	0.223	0.223	1.394	
0.10	1	0.341	0.338	0.340	2.125	2.175
	2	0.323	0.319	0.321	2.006	
	3	0.393	0.373	0.383	2.394	
0.15	1	0.522	0.541	0.532	3.325	2.927
	2	0.430	0.432	0.431	2.694	
	3	0.441	0.442	0.442	2.763	
0.20	1	0.608	0.604	0.606	3.788	3.719
	2	0.597	0.593	0.595	3.719	
	3	0.590	0.578	0.584	3.650	
0.25	1	0.653	0.646	0.650	4.063	3.825
	2	0.676	0.670	0.673	4.206	
	3	0.506	0.519	0.513	3.206	
0.30	1	0.753	0.748	0.751	4.694	4.631
	2	0.696	0.689	0.693	4.331	
	3	0.781	0.776	0.779	4.869	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 5 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05-0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 4 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.276	0.271	0.274	1.713	1.744
	2	0.302	0.285	0.294	1.838	
	3	0.265	0.272	0.269	1.681	
0.10	1	0.420	0.420	0.420	2.625	2.704
	2	0.424	0.427	0.426	2.662	
	3	0.450	0.453	0.452	2.825	
0.15	1	0.641	0.624	0.633	3.956	3.715
	2	0.551	0.551	0.551	3.444	
	3	0.601	0.596	0.599	3.744	
0.20	1	0.360	0.379	0.370	4.625	4.471
	2	0.353	0.353	0.353	4.413	
	3	0.350	0.350	0.350	4.375	
0.25	1	0.389	0.380	0.385	4.813	4.621
	2	0.403	0.397	0.400	5.000	
	3	0.325	0.322	0.324	4.050	
0.30	1	0.457	0.473	0.465	5.813	5.746
	2	0.450	0.447	0.449	5.613	
	3	0.462	0.468	0.465	5.813	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 5 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05, 0.10 และ 0.15 ml/g Biomass
อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.20, 0.25 และ 0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 5 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.325	0.319	0.322	2.013	2.034
	2	0.337	0.332	0.335	2.094	
	3	0.319	0.318	0.319	1.994	
0.10	1	0.519	0.508	0.514	3.213	3.290
	2	0.528	0.509	0.519	3.244	
	3	0.544	0.547	0.546	3.413	
0.15	1	0.343	0.357	0.350	4.375	4.092
	2	0.299	0.303	0.301	3.763	
	3	0.327	0.335	0.331	4.138	
0.20	1	0.420	0.413	0.417	5.213	5.121
	2	0.416	0.403	0.410	5.125	
	3	0.401	0.402	0.402	5.025	
0.25	1	0.441	0.437	0.439	5.488	5.246
	2	0.455	0.471	0.463	5.788	
	3	0.357	0.356	0.357	4.463	
0.30	1	0.523	0.514	0.519	6.488	6.492
	2	0.525	0.511	0.518	6.475	
	3	0.529	0.513	0.521	6.513	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 5 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05 และ 0.10 ml/g Biomass
อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 12 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.256	0.257	0.257	3.213	3.280
	2	0.264	0.266	0.265	3.313	
	3	0.269	0.261	0.265	3.313	
0.10	1	0.393	0.393	0.393	4.913	4.967
	2	0.390	0.399	0.395	4.938	
	3	0.403	0.405	0.404	5.050	
0.15	1	0.522	0.522	0.522	6.525	6.321
	2	0.490	0.488	0.489	6.113	
	3	0.505	0.507	0.506	6.325	
0.20	1	0.319	0.320	0.320	8.000	7.792
	2	0.315	0.306	0.311	7.775	
	3	0.302	0.305	0.304	7.600	
0.25	1	0.318	0.320	0.319	7.975	7.867
	2	0.344	0.348	0.346	8.650	
	3	0.278	0.280	0.279	6.975	
0.30	1	0.371	0.370	0.371	9.275	9.283
	2	0.363	0.368	0.366	9.150	
	3	0.376	0.378	0.377	9.425	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05, 0.10 และ 0.15 ml/g Biomass
อัตราการเจือจาง 20 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.20, 0.25 และ 0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.402	0.401	0.402	5.025	5.142
	2	0.426	0.420	0.423	5.288	
	3	0.411	0.406	0.409	5.113	
0.10	1	0.609	0.608	0.609	7.613	7.605
	2	0.612	0.606	0.609	7.613	
	3	0.605	0.608	0.607	7.588	
0.15	1	0.776	0.775	0.776	9.700	9.296
	2	0.695	0.697	0.696	8.700	
	3	0.759	0.759	0.759	9.488	
0.20	1	0.403	0.403	0.403	10.075	10.008
	2	0.398	0.401	0.400	10.000	
	3	0.396	0.399	0.398	9.950	
0.25	1	0.409	0.411	0.410	10.250	9.875
	2	0.435	0.429	0.432	10.800	
	3	0.346	0.340	0.343	8.575	
0.30	1	0.445	0.450	0.448	11.200	10.950
	2	0.433	0.433	0.433	10.825	
	3	0.430	0.436	0.433	10.825	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05, 0.10 และ 0.15 ml/g Biomass
อัตราการเจือจาง 20 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.20, 0.25 และ 0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (ml/g Biomass)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0.05	1	0.562	0.569	0.566	7.075	7.258
	2	0.589	0.590	0.590	7.375	
	3	0.582	0.590	0.586	7.325	
0.10	1	0.382	0.387	0.385	9.625	9.400
	2	0.374	0.376	0.375	9.375	
	3	0.364	0.371	0.368	9.200	
0.15	1	0.437	0.436	0.437	10.925	10.583
	2	0.400	0.401	0.401	10.025	
	3	0.430	0.433	0.432	10.800	
0.20	1	0.458	0.463	0.461	11.525	11.267
	2	0.446	0.457	0.452	11.300	
	3	0.437	0.441	0.439	10.975	
0.25	1	0.466	0.466	0.466	11.650	11.008
	2	0.464	0.468	0.466	11.650	
	3	0.385	0.393	0.389	9.725	
0.30	1	0.480	0.481	0.481	12.025	11.950
	2	0.466	0.469	0.468	11.700	
	3	0.483	0.487	0.485	12.125	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05 ml/g Biomass
อัตราการเจือจาง 20 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 ml/g Biomass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตรและนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม ที่เวลาต่างๆ ดังนี้

เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0	1	0.426	0.432	0.429	0.536	0.537
	2	0.413	0.410	0.412	0.515	
	3	0.450	0.445	0.448	0.560	
6	1	0.570	0.573	0.572	7.150	7.238
	2	0.578	0.583	0.581	7.263	
	3	0.586	0.581	0.584	7.300	
12	1	0.619	0.614	0.617	7.713	7.892
	2	0.632	0.629	0.631	7.888	
	3	0.643	0.649	0.646	8.075	
24	1	0.310	0.309	0.310	7.750	8.217
	2	0.346	0.340	0.343	8.575	
	3	0.329	0.337	0.333	8.325	
48	1	0.379	0.380	0.380	9.500	9.358
	2	0.375	0.371	0.373	9.325	
	3	0.366	0.373	0.370	9.250	
72	1	0.333	0.335	0.334	8.350	8.500
	2	0.354	0.350	0.352	8.800	
	3	0.336	0.332	0.334	8.350	
96	1	0.349	0.341	0.345	8.625	8.475
	2	0.355	0.349	0.352	8.800	
	3	0.319	0.321	0.320	8.000	
120	1	0.348	0.350	0.349	8.725	8.550
	2	0.335	0.325	0.330	8.250	
	3	0.348	0.346	0.347	8.675	

หมายเหตุ :
อัตราการเจือจาง 1 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 0 ชั่วโมง
อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง
อัตราการเจือจาง 20 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำไฮโดรไลเซทส่วนน้ำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0	1	0.427	0.430	0.430	1.075	1.076
	2	0.428	0.432	0.430	1.075	
	3	0.430	0.432	0.431	1.078	
1	1	0.440	0.447	0.444	1.110	1.133
	2	0.457	0.466	0.462	1.155	
	3	0.450	0.455	0.453	1.133	
2	1	0.450	0.457	0.454	1.135	1.134
	2	0.451	0.455	0.453	1.133	
	3	0.456	0.451	0.454	1.135	
3	1	0.445	0.450	0.448	1.120	1.127
	2	0.455	0.455	0.455	1.138	
	3	0.450	0.447	0.449	1.123	
4	1	0.441	0.443	0.442	1.105	1.131
	2	0.457	0.463	0.460	1.150	
	3	0.451	0.458	0.455	1.138	
5	1	0.438	0.444	0.441	1.103	1.125
	2	0.455	0.460	0.458	1.145	
	3	0.449	0.453	0.451	1.128	
12	1	0.478	0.481	0.480	1.200	1.211
	2	0.487	0.489	0.488	1.220	
	3	0.486	0.483	0.485	1.213	
24	1	0.473	0.477	0.475	1.188	1.229
	2	0.506	0.510	0.508	1.270	
	3	0.487	0.495	0.491	1.228	
48	1	0.434	0.440	0.437	1.093	1.098
	2	0.439	0.441	0.440	1.100	
	3	0.439	0.440	0.440	1.100	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 2 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0	1	0.355	0.354	0.355	0.444	0.520
	2	0.402	0.398	0.400	0.500	
	3	0.491	0.493	0.492	0.615	
1	1	0.278	0.279	0.279	1.744	1.807
	2	0.340	0.343	0.342	2.138	
	3	0.244	0.248	0.246	1.538	
2	1	0.459	0.459	0.459	2.869	2.817
	2	0.523	0.517	0.520	3.250	
	3	0.371	0.374	0.373	2.331	
3	1	0.619	0.620	0.620	3.875	3.725
	2	0.665	0.670	0.668	4.175	
	3	0.499	0.501	0.500	3.125	
4	1	0.353	0.353	0.353	4.413	4.321
	2	0.389	0.388	0.389	4.863	
	3	0.289	0.300	0.295	3.688	
5	1	0.372	0.374	0.373	4.663	4.725
	2	0.426	0.422	0.424	5.300	
	3	0.335	0.339	0.337	4.213	
12	1	0.598	0.599	0.599	7.488	7.809
	2	0.677	0.676	0.677	8.463	
	3	0.598	0.597	0.598	7.475	
24	1	0.397	0.395	0.396	9.900	9.817
	2	0.418	0.414	0.416	10.400	
	3	0.366	0.366	0.366	9.150	
48	1	0.446	0.449	0.448	11.200	11.083
	2	0.461	0.456	0.459	11.475	
	3	0.422	0.424	0.423	10.575	

หมายเหตุ :

อัตราการเจือจาง 1 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 0 ชั่วโมง

อัตราการเจือจาง 5 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 1, 2 และ 3 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราการเจือจาง 10 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 4, 5 และ 12 ชั่วโมง
อัตราการเจือจาง 20 เท่าในตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ตารางที่ ง-10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำไฮโดรไลเซทส่วนน้ำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
		1	2	เฉลี่ย		
0	1	0.225	0.229	0.227	0.284	0.277
	2	0.220	0.223	0.222	0.278	
	3	0.214	0.216	0.215	0.269	
1	1	0.231	0.230	0.231	0.289	0.278
	2	0.218	0.220	0.219	0.274	
	3	0.214	0.217	0.216	0.270	
2	1	0.225	0.227	0.226	0.283	0.272
	2	0.215	0.216	0.216	0.270	
	3	0.211	0.211	0.211	0.264	
3	1	0.219	0.222	0.221	0.276	0.271
	2	0.216	0.218	0.217	0.271	
	3	0.211	0.215	0.213	0.266	
4	1	0.214	0.215	0.215	0.269	0.261
	2	0.205	0.208	0.207	0.259	
	3	0.204	0.206	0.205	0.256	
5	1	0.227	0.228	0.228	0.285	0.272
	2	0.211	0.215	0.213	0.266	
	3	0.213	0.213	0.213	0.266	
12	1	0.220	0.222	0.221	0.276	0.269
	2	0.209	0.212	0.211	0.264	
	3	0.214	0.214	0.214	0.268	
24	1	0.226	0.227	0.227	0.284	0.277
	2	0.220	0.222	0.221	0.276	
	3	0.215	0.218	0.217	0.271	
48	1	0.195	0.195	0.195	0.244	0.254
	2	0.207	0.210	0.209	0.261	
	3	0.199	0.210	0.205	0.256	

หมายเหตุ : อัตราการเจือจาง 1 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-11 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่1)

ชั่วโมงที่	Sample		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
0	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	7.43	7.49
		2	7.51	
		3	7.50	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	3.68	3.72
		2	3.74	
		3	3.73	
	เชื้อผสม	1	4.39	4.44
		2	4.35	
		3	4.59	
12	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	5.98	6.15
		2	6.30	
		3	6.16	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	4.72	4.73
		2	4.62	
		3	4.85	
	เชื้อผสม	1	8.48	9.66
		2	9.73	
		3	10.22	
24	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	6.03	6.29
		2	6.35	
		3	6.48	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	6.33	6.28
		2	6.38	
		3	6.13	
	เชื้อผสม	1	13.39	13.67
		2	13.84	
		3	13.78	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

36	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	9.15	9.43
		2	9.26	
		3	9.88	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	10.04	9.86
		2	10.06	
		3	9.48	
	เชื้อผสม	1	12.39	12.58
		2	12.78	
		3	12.57	
48	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	4.16	3.93
		2	3.77	
		3	3.86	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	5.11	5.27
		2	5.56	
		3	5.14	
	เชื้อผสม	1	7.49	7.78
		2	7.86	
		3	7.99	
60	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	3.29	3.42
		2	3.39	
		3	3.58	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	2.24	2.19
		2	1.98	
		3	2.35	
	เชื้อผสม	1	6.42	6.37
		2	6.25	
		3	6.44	
72	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	5.46	5.79
		2	5.94	
		3	5.97	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	4.32	3.97
		2	3.70	
		3	3.88	
	เชื้อผสม	1	2.86	2.96
		2	3.08	
		3	2.94	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-12 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 2)

ชั่วโมงที่	Sample		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
0	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	1.19	1.26
		2	1.28	
		3	1.31	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	1.19	1.21
		2	1.24	
		3	1.20	
	เชื้อผสม	1	1.19	1.04
		2	0.92	
		3	1.01	
12	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	9.60	9.64
		2	9.67	
		3	9.65	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	9.36	9.43
		2	9.49	
		3	9.44	
	เชื้อผสม	1	4.60	4.52
		2	4.47	
		3	4.49	
24	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	10.81	10.91
		2	11.03	
		3	10.89	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	6.62	6.49
		2	6.45	
		3	6.40	
	เชื้อผสม	1	11.55	11.81
		2	11.89	
		3	12.00	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-12 (ต่อ) ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ชั่วโมงที่	Sample		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
36	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	6.86	6.81
		2	6.62	
		3	6.95	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	7.31	7.22
		2	7.19	
		3	7.16	
	เชื้อผสม	1	10.28	10.23
		2	10.16	
		3	10.25	
48	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.97	0.94
		2	1.03	
		3	0.82	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	1.39	1.39
		2	1.48	
		3	1.30	
	เชื้อผสม	1	1.69	1.72
		2	1.74	
		3	1.73	
60	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	1.39	1.56
		2	1.57	
		3	1.72	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.70	0.63
		2	0.50	
		3	0.69	
	เชื้อผสม	1	1.56	1.74
		2	1.79	
		3	1.87	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-12 (ต่อ) ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ชั่วโมงที่	Sample		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
72	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	1.08	1.10
		2	1.12	
		3	1.10	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.67	0.96
		2	0.97	
		3	1.24	
	เชื้อผสม	1	1.93	1.93
		2	1.90	
		3	1.96	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-13 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ชั่วโมงที่	Sample		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
0	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	2.35	2.29
		2	2.24	
		3	2.28	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	1.56	1.44
		2	1.42	
		3	1.34	
	เชื้อผสม	1	5.52	5.68
		2	5.75	
		3	5.77	
12	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	6.19	6.26
		2	6.28	
		3	6.31	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	14.63	14.77
		2	14.81	
		3	14.87	
	เชื้อผสม	1	9.94	9.81
		2	9.78	
		3	9.71	
24	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	9.27	9.35
		2	9.34	
		3	9.44	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	5.68	5.55
		2	5.51	
		3	5.46	
	เชื้อผสม	1	10.27	10.14
		2	10.09	
		3	10.06	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-13 (ต่อ) ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ชั่วโมงที่	Sample		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
36	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	3.07	3.49
		2	3.88	
		3	3.52	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	4.95	5.06
		2	5.09	
		3	5.14	
	เชื้อผสม	1	4.92	5.07
		2	5.13	
		3	5.16	
48	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	2.45	2.37
		2	2.37	
		3	2.29	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.48	0.45
		2	0.45	
		3	0.42	
	เชื้อผสม	1	1.08	1.17
		2	1.09	
		3	1.34	
60	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	1.74	1.75
		2	1.68	
		3	1.83	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.26	0.30
		2	0.29	
		3	0.35	
	เชื้อผสม	1	1.70	1.50
		2	1.30	
		3	1.50	
	Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	1.29	1.41
		2	1.40	
		3	1.54	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

72	*Candida shehatae* ATCC 22984	1	0.32	0.36
		2	0.37	
		3	0.39	
	เชื้อผสม	1	0.09	0.08
		2	0.06	
		3	0.09	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-14 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 72 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และผ่านการกำจัดสารพิษ

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	หมักโดยเชื้อ	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
			1	2	เฉลี่ย		
0	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.278	0.278	0.278	17.375	16.625
		2	0.258	0.258	0.258	16.125	
		3	0.261	0.263	0.262	16.375	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.313	0.312	0.313	19.563	18.438
		2	0.277	0.280	0.279	17.438	
		3	0.290	0.295	0.293	18.313	
	เชื้อผสม	1	0.282	0.283	0.283	17.688	17.021
		2	0.258	0.261	0.260	16.250	
		3	0.273	0.275	0.274	17.125	
12	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.235	0.237	0.236	14.750	14.875
		2	0.241	0.244	0.243	15.187	
		3	0.234	0.235	0.235	14.687	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.290	0.293	0.292	18.250	17.438
		2	0.259	0.261	0.260	16.250	
		3	0.284	0.286	0.285	17.813	
	เชื้อผสม	1	0.243	0.245	0.244	15.250	15.334
		2	0.251	0.251	0.251	15.688	
		3	0.240	0.242	0.241	15.063	
24	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.619	0.623	0.621	15.525	15.342
		2	0.621	0.623	0.622	15.550	
		3	0.596	0.599	0.598	14.950	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.777	0.782	0.780	19.500	18.525
		2	0.690	0.694	0.692	17.300	
		3	0.748	0.753	0.751	18.775	
	เชื้อผสม	1	0.662	0.665	0.664	16.600	16.425
		2	0.649	0.649	0.649	16.225	
		3	0.656	0.660	0.658	16.450	
	Saccharomyces cerevisiae	1	0.542	0.544	0.543	13.575	13.583
		2	0.559	0.562	0.561	14.025	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

36	YRK-017	3	0.525	0.526	0.526	13.150	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.689	0.693	0.691	17.275	16.075
		2	0.631	0.633	0.632	15.800	
		3	0.604	0.607	0.606	15.150	
	เชื้อผสม	1	0.650	0.653	0.652	16.300	14.833
		2	0.555	0.560	0.558	13.950	
		3	0.568	0.571	0.570	14.250	
48	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.582	0.586	0.584	14.600	14.533
		2	0.580	0.586	0.583	14.575	
		3	0.575	0.578	0.577	14.425	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.784	0.787	0.786	19.650	18.333
		2	0.693	0.696	0.695	17.375	
		3	0.717	0.721	0.719	17.975	
	เชื้อผสม	1	0.637	0.638	0.638	15.950	15.942
		2	0.641	0.643	0.642	16.050	
		3	0.632	0.633	0.633	15.825	
60	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.562	0.569	0.566	14.150	14.133
		2	0.558	0.566	0.562	14.050	
		3	0.563	0.572	0.568	14.200	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.749	0.756	0.753	18.825	18.300
		2	0.694	0.699	0.697	17.425	
		3	0.743	0.749	0.746	18.650	
	เชื้อผสม	1	0.603	0.610	0.607	15.175	14.850
		2	0.590	0.598	0.594	14.850	
		3	0.577	0.585	0.581	14.525	
72	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.597	0.599	0.598	14.950	15.075
		2	0.606	0.607	0.607	15.175	
		3	0.603	0.605	0.604	15.100	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.744	0.745	0.745	18.625	17.958
		2	0.665	0.674	0.670	16.750	
		3	0.736	0.743	0.740	18.500	
	เชื้อผสม	1	0.580	0.585	0.583	14.575	14.458
		2	0.574	0.577	0.576	14.400	
		3	0.575	0.577	0.576	14.400	

หมายเหตุ :

อัตราการเจือจาง 20 เท่าในตัวอย่างที่หมักเป็นเวลา 24 36 48 60 และ 72 ชั่วโมง

อัตราการเจือจาง 50 เท่าในตัวอย่างที่หมักเป็นเวลา 0 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-15 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 72 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	หมักโดยเชื้อ	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
			1	2	เฉลี่ย		
0 (20X)	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017	1	0.448	0.449	0.449	11.225	11.067
		2	0.442	0.442	0.442	11.050	
		3	0.437	0.437	0.437	10.925	
	Candida shehatae ATCC 22984	1	0.539	0.533	0.536	13.400	13.125
		2	0.527	0.527	0.527	13.175	
		3	0.511	0.513	0.512	12.800	
	เชื้อผสม	1	0.470	0.472	0.471	11.775	11.917
		2	0.481	0.482	0.482	12.050	
		3	0.475	0.478	0.477	11.925	
12	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (5X)	1	0.289	0.290	0.290	1.813	1.775
		2	0.274	0.284	0.279	1.744	
		3	0.282	0.284	0.283	1.769	
	Candida shehatae (20X) ATCC 22984	1	0.415	0.415	0.415	10.375	10.408
		2	0.455	0.458	0.457	11.425	
		3	0.376	0.378	0.377	9.425	
	เชื้อผสม (5X)	1	0.289	0.288	0.289	1.806	1.808
		2	0.288	0.287	0.288	1.800	
		3	0.291	0.291	0.291	1.819	
24	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.489	0.492	0.491	1.228	1.213
		2	0.491	0.493	0.492	1.230	
		3	0.470	0.473	0.472	1.180	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.565	0.567	0.566	7.075	8.429
		2	0.759	0.765	0.762	9.525	
		3	0.692	0.697	0.695	8.688	
	เชื้อผสม (5X)	1	0.245	0.245	0.245	1.531	1.471
		2	0.234	0.234	0.234	1.463	
		3	0.225	0.228	0.227	1.419	
	Saccharomyces cerevisiae	1	0.413	0.414	0.414	1.035	1.061
		2	0.439	0.441	0.440	1.100	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

36	YRK-017 (2X)	3	0.417	0.420	0.419	1.048	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.456	0.458	0.457	5.713	6.605
		2	0.590	0.592	0.591	7.388	
		3	0.533	0.540	0.537	6.713	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.735	0.736	0.736	1.840	1.849
		2	0.730	0.735	0.733	1.833	
		3	0.748	0.751	0.750	1.875	
48	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.416	0.419	0.418	1.045	1.069
		2	0.430	0.437	0.434	1.085	
		3	0.430	0.432	0.431	1.078	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.265	0.269	0.267	3.338	4.550
		2	0.403	0.407	0.405	5.063	
		3	0.418	0.422	0.420	5.250	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.731	0.736	0.734	1.835	1.844
		2	0.724	0.730	0.727	1.818	
		3	0.749	0.752	0.751	1.878	
60	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.460	0.462	0.461	1.153	1.155
		2	0.468	0.467	0.468	1.170	
		3	0.456	0.457	0.457	1.143	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.247	0.246	0.247	3.088	3.525
		2	0.282	0.285	0.284	3.100	
		3	0.350	0.351	0.351	4.388	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.667	0.671	0.669	1.673	1.670
		2	0.659	0.662	0.661	1.653	
		3	0.671	0.675	0.673	1.683	
72	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.433	0.436	0.435	1.088	1.082
		2	0.429	0.431	0.430	1.075	
		3	0.431	0.434	0.433	1.083	
	Candida shehatae (5X) ATCC 22984	1	0.557	0.558	0.558	3.488	3.479
		2	0.547	0.549	0.548	3.425	
		3	0.561	0.567	0.564	3.525	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.621	0.626	0.624	1.560	1.589
		2	0.636	0.638	0.637	1.593	
		3	0.644	0.647	0.646	1.615	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-16 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 72 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	หมักโดยเชื้อ	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 nm)			ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
			1	2	เฉลี่ย		
0	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (10X)	1	0.403	0.404	0.404	5.050	6.200
		2	0.263	0.267	0.265	6.625	
		3	0.273	0.281	0.277	6.925	
	Candida shehatae (20X) ATCC 22984	1	0.265	0.265	0.265	6.625	8.167
		2	0.357	0.361	0.359	8.975	
		3	0.352	0.360	0.356	8.900	
	เชื้อผสม (10X)	1	0.500	0.501	0.501	6.263	6.738
		2	0.283	0.284	0.284	7.100	
		3	0.274	0.274	0.274	6.850	
12	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.491	0.491	0.491	1.228	1.200
		2	0.468	0.469	0.469	1.173	
		3	0.480	0.480	0.480	1.200	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.596	0.600	0.598	7.475	6.913
		2	0.545	0.548	0.547	6.838	
		3	0.512	0.516	0.514	6.425	
	เชื้อผสม (5X)	1	0.226	0.226	0.226	1.413	1.386
		2	0.217	0.219	0.218	1.363	
		3	0.219	0.222	0.221	1.381	
24	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.426	0.426	0.426	1.065	1.018
		2	0.395	0.395	0.395	0.988	
		3	0.398	0.402	0.400	1.000	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.608	0.608	0.608	7.600	5.771
		2	0.368	0.371	0.370	4.625	
		3	0.406	0.408	0.407	5.088	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.745	0.745	0.745	1.863	1.898
		2	0.770	0.772	0.771	1.928	
		3	0.760	0.762	0.761	1.903	
	Saccharomyces cerevisiae	1	0.401	0.408	0.405	1.013	0.970
		2	0.376	0.378	0.377	0.943	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

36	YRK-017 (2X)	3	0.379	0.382	0.381	0.953	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.510	0.511	0.511	6.388	4.754
		2	0.290	0.293	0.292	3.650	
		3	0.336	0.339	0.338	4.225	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.649	0.658	0.654	1.635	1.626
		2	0.648	0.655	0.652	1.630	
		3	0.641	0.648	0.645	1.613	
48	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.392	0.393	0.393	0.983	0.944
		2	0.365	0.367	0.366	0.915	
		3	0.373	0.374	0.374	0.935	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.562	0.563	0.563	7.038	5.167
		2	0.316	0.317	0.317	3.963	
		3	0.358	0.361	0.360	4.500	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.656	0.660	0.658	1.645	1.653
		2	0.668	0.672	0.670	1.675	
		3	0.654	0.655	0.655	1.638	
60	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.384	0.385	0.385	0.963	0.913
		2	0.368	0.369	0.369	0.923	
		3	0.341	0.341	0.341	0.853	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.558	0.560	0.559	6.988	4.917
		2	0.325	0.325	0.325	4.063	
		3	0.296	0.296	0.296	3.700	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.631	0.633	0.632	1.580	1.535
		2	0.617	0.618	0.618	1.545	
		3	0.591	0.593	0.592	1.480	
72	*Saccharomyces cerevisiae* YRK-017 (2X)	1	0.363	0.370	0.367	0.918	0.873
		2	0.369	0.370	0.370	0.925	
		3	0.309	0.311	0.310	0.775	
	Candida shehatae (10X) ATCC 22984	1	0.509	0.509	0.509	6.363	4.800
		2	0.318	0.317	0.318	3.975	
		3	0.324	0.325	0.325	4.063	
	เชื้อผสม (2X)	1	0.646	0.647	0.647	1.618	1.586
		2	0.639	0.642	0.641	1.603	
		3	0.614	0.616	0.615	1.538	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-17 ปริมาณเอทานอลของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่ 1)

ชั่วโมงที่ 0

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	
Candida shehatae ATCC 22984	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	
เชื้อผสม 1:1	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	

ชั่วโมงที่ 12

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	2.91	2.84
	2	2.72	
	3	2.88	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.61	2.61
	2	2.61	
	3	2.62	
เชื้อผสม	1	2.85	2.77
	2	2.78	
	3	2.68	

ชั่วโมงที่ 24

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.04	2.84
	2	2.75	
	3	2.72	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Candida shehatae ATCC 22984	1	2.65	2.65
	2	2.70	
	3	2.61	
เชื้อผสม	1	2.76	2.82
	2	2.81	
	3	2.89	

ชั่วโมงที่ 36

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	2.98	2.99
	2	2.92	
	3	3.08	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.83	3.01
	2	2.93	
	3	3.28	
เชื้อผสม	1	2.82	2.90
	2	2.91	
	3	2.97	

ชั่วโมงที่ 48

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	2.96	3.00
	2	3.01	
	3	3.03	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.89	2.86
	2	3.03	
	3	2.66	
เชื้อผสม	1	2.91	2.94
	2	2.91	
	3	2.99	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 60

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.22	3.09
	2	3.01	
	3	3.03	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.78	2.94
	2	3.06	
	3	2.99	
เชื้อผสม	1	2.87	2.90
	2	2.91	
	3	2.92	

ชั่วโมงที่ 72

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.39	2.96
	2	2.75	
	3	2.74	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.63	2.79
	2	2.69	
	3	3.04	
เชื้อผสม	1	2.70	2.73
	2	2.83	
	3	2.67	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-18 ปริมาณเอทานอลของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 2)

ชั่วโมงที่ 0

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	
Candida shehatae ATCC 22984	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	
เชื้อผสม	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	

ชั่วโมงที่ 12

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.37	3.65
	2	3.50	
	3	4.07	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.65	2.65
	2	2.65	
	3	2.66	
เชื้อผสม	1	3.9	3.49
	2	3.57	
	3	3.41	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 24

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.42	3.53
	2	3.81	
	3	3.35	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.71	2.86
	2	3.10	
	3	2.78	
เชื้อผสม	1	3.46	3.47
	2	3.61	
	3	3.33	

ชั่วโมงที่ 36

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.55	3.50
	2	3.51	
	3	3.44	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.73	3.03
	2	3.65	
	3	2.71	
เชื้อผสม	1	3.78	3.44
	2	3.46	
	3	3.07	

ชั่วโมงที่ 48

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.66	3.53
	2	3.57	
	3	3.36	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.90	2.84
	2	2.93	
	3	2.69	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อผสม	1	3.44	3.53
	2	3.54	
	3	3.62	

ชั่วโมงที่ 60

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.75	3.82
	2	3.78	
	3	3.93	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.82	2.85
	2	2.90	
	3	2.83	
เชื้อผสม	1	3.78	3.79
	2	3.79	
	3	3.79	

ชั่วโมงที่ 72

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.55	3.67
	2	3.69	
	3	3.78	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.66	2.65
	2	2.64	
	3	2.65	
เชื้อผสม	1	3.45	3.56
	2	3.44	
	3	3.80	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-19 ปริมาณเอทานอลของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 3)

ชั่วโมงที่ 0

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	
Candida shehatae ATCC 22984	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	
เชื้อผสม	1	0.00	0.00
	2	0.00	
	3	0.00	

ชั่วโมงที่ 12

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.08	3.40
	2	3.70	
	3	3.43	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.66	2.63
	2	2.63	
	3	2.60	
เชื้อผสม	1	3.24	3.15
	2	3.30	
	3	2.92	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 24

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.32	3.23
	2	3.34	
	3	3.02	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.92	2.91
	2	2.94	
	3	2.86	
เชื้อผสม	1	3.27	3.34
	2	3.48	
	3	3.28	

ชั่วโมงที่ 36

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.26	3.35
	2	3.43	
	3	3.36	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.70	2.74
	2	2.77	
	3	2.76	
เชื้อผสม	1	3.25	3.42
	2	3.52	
	3	3.48	

ชั่วโมงที่ 48

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.14	3.33
	2	3.50	
	3	3.35	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.95	2.89
	2	2.84	
	3	2.87	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อผสม	1	3.10	3.27
	2	3.34	
	3	3.37	

ชั่วโมงที่ 60

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.24	3.45
	2	3.54	
	3	3.58	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.82	2.81
	2	2.85	
	3	2.77	
เชื้อผสม	1	3.33	3.25
	2	3.17	
	3	3.24	

ชั่วโมงที่ 72

หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
Saccharomyces cerevisiae YRK-017	1	3.73	3.60
	2	3.33	
	3	3.74	
Candida shehatae ATCC 22984	1	2.78	2.82
	2	2.91	
	3	2.78	
เชื้อผสม	1	3.43	3.46
	2	3.44	
	3	3.52	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก

ผลได้ของเซลล์ ($Y_{X/S}$) คือ ค่าผลได้ของมวลชีวภาพต่อสับเสตรท (กรัมต่อกรัม)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเซลล์สูงสุด} - \text{น้ำหนักเซลล์เริ่มต้น}}{\text{ความเข้มข้นของสับสเทรตเริ่มต้น} - \text{ความเข้มข้นของสับสเทรต ณ เวลานั้นๆ}}$$

ผลได้ของผลิตภัณฑ์ ($Y_{P/S}$) คือ ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสับเสตรท (กรัมต่อกรัม)

$$= \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด} - \text{ความเข้มข้นของเอทานอลเริ่มต้น}}{\text{ความเข้มข้นของสับสเทรตเริ่มต้น} - \text{ความเข้มข้นของสับสเทรต ณ เวลานั้นๆ}}$$

Productivity ของเซลล์ หรือ อัตราการผลิตเซลล์ (Q_X) (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

$$= \frac{\text{ความเข้มข้นของเซลล์ที่ผลิตได้}}{\text{เวลา}}$$

Productivity ของผลิตภัณฑ์ หรือ อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q_P) (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

$$= \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้}}{\text{เวลา}}$$

ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทสูตรที่ 1

หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK-017

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 12

$$= \frac{2.8359-0}{12} = 0.2363 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง}$$

หมักด้วยเชื้อ *Candida shehatae* ATCC 22984

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 36

$$= \frac{3.0108-0}{36} = 0.0836 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง}$$

หมักด้วยเชื้อผสม

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 24

$$= \frac{2.8204-0}{24} = 0.1175 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทสูตรที่ 2

หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK-017

$(Y_{P/S})$ ชั่วโมงที่ 12 $= \frac{3.6475-0}{11.067-1.775} = 0.3925$ กรัมต่อกรัม

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 12

$= \frac{3.6475-0}{12} = 0.3040$ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

หมักด้วยเชื้อ *Candida shehatae* ATCC 22984

$(Y_{P/S})$ ชั่วโมงที่ 12 $= \frac{2.6534-0}{13.125-10.408} = 0.9766$ กรัมต่อกรัม

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 12

$= \frac{2.6534-0}{12} = 0.2211$ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

หมักด้วยเชื้อผสม

$(Y_{P/S})$ ชั่วโมงที่ 12 $= \frac{3.5900-0}{11.917-1.808} = 0.3551$ กรัมต่อกรัม

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 12

$= \frac{3.5900-0}{12} = 0.2992$ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักไฮโดรไลเซทสูตรที่ 3

หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK-017

$(Y_{P/S})$ ชั่วโมงที่ 12 $= \frac{3.4034-0}{6.200-1.200} = 0.6807$ กรัมต่อกรัม

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 12

$= \frac{3.4034-0}{12} = 0.2836$ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

หมักด้วยเชื้อ *Candida shehatae* ATCC 22984

$(Y_{P/S})$ ชั่วโมงที่ 24 $= \frac{2.9044-0}{8.167-5.771} = 1.2122$ กรัมต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 24

$$= \frac{2.9044-0}{24} = 0.1210 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง}$$

หมักด้วยเชื้อผสม

$(Y_{P/S})$ ชั่วโมงที่ 24 $= \frac{3.3432-0}{6.738-1.898} = 0.6907$ กรัมต่อกรัม

Productivity ของผลิตภัณฑ์ ชั่วโมงที่ 24

$$= \frac{3.3432-0}{24} = 0.1393 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ
การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่ม (Completely Randomized Design; CRD) โดยใช้โปรแกรม SPSS โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ จ-1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	452.874	3	150.958	1103.481	0.000
Within Groups	1.094	8	0.137		
Total	453.969	11			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละ)	N	1	2	3
0.0	3	0.86333		
3.0	3		14.52100	
2.5	3		14.91700	
2.0	3			15.62533
Sig.		1.000	0.226	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 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.420	3	1.473	18.814	0.001
Within Groups	0.626	8	0.078		
Total	5.046	11			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.0	3	0.86333	
2.5	3		2.19200
3.0	3		2.23333
2.0	3		2.35000
Sig.		1.000	0.526

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-3 ตารางแสดงปริมาณลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ในตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA

ปริมาณลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ลิกนิน (ร้อยละ)	Between Groups	4.994	3	1.665	9.498	0.005
	Within Groups	1.402	8	.175		
	Total	6.396	11			
เซลลูโลส (ร้อยละ)	Between Groups	291.269	3	97.090	33.604	0.000
	Within Groups	23.114	8	2.889		
	Total	314.383	11			
เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)	Between Groups	226.653	3	75.551	11.588	0.003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	Within Groups	52.159	8	6.520		
	Total	278.812	11			

ลิกนิน (ร้อยละ)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละโดยปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3.0	3	1.7067	
2.0	3	1.8133	
2.5	3	1.8567	
0.0	3		3.2767
Sig.		.685	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เซลลูโลส (ร้อยละ)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละโดยปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2.50	3	13.1700	
3.00	3	14.0200	
2.00	3	15.3567	
0.00	3		25.4167
Sig.		.169	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (ร้อยละโดยปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2.00	3	0.0000	
2.50	3	0.0000	
3.00	3	0.0000	
.00	3		10.0367
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4 ตารางแสดงปริมาณลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ในตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ลิกนิน (ร้อยละ)	Between Groups	16.546	3	5.515	44.281	0.000
	Within Groups	.996	8	0.125		
	Total	17.542	11			
เซลลูโลส (ร้อยละ)	Between Groups	196.760	3	65.587	92.254	0.000
	Within Groups	5.687	8	0.711		
	Total	202.447	11			
เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)	Between Groups	152.335	3	50.778	7.367	0.011
	Within Groups	55.144	8	6.893		
	Total	207.479	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิกนิน (ร้อยละ)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3.00	3	0.3167	
2.00	3	0.6900	
2.50	3	0.7767	
0.00	3		3.2767
Sig.		0.164	1.000

Means for groups in homogeneous subsets aredisplayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เซลลูโลส (ร้อยละ)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3.00	3	15.0300		
2.50	3	16.2900	16.2900	
2.00	3		17.5800	
.00	3			25.4167
Sig.		.105	.098	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2.00	3	0.8600	
2.50	3	2.1333	
3.00	3	3.0033	
.00	3		10.0367
Sig.		.365	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)

Duncan[a]

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2.00	3	0.8600	
2.50	3	2.1333	
3.00	3	3.0033	
.00	3		10.0367
Sig.		.365	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ ง-5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ก่อนและภายหลังการกำจัดความเป็นพิษของไฮโดรไลเซทส่วนน้ำที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2

Descriptives

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ก่อนปรับสภาพ	3	15.58400	0.295823	.170793	14.84914	16.31886	15.250	15.813
หลังปรับสภาพ	3	14.56267	0.495889	.286302	13.33081	15.79452	14.188	15.125
Total	6	15.07333	0.668059	.272734	14.37225	15.77442	14.188	15.813

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.565	1	1.565	9.386	0.038
Within Groups	0.667	4	0.167		
Total	2.232	5			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.05 ml/g

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	126.617	8	15.827	1577.494	0.000
Within Groups	0.181	18	0.010		
Total	126.797	26			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l)

Duncan[a]

เอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.05 ml/g	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1.00	3	0.38033							
2.00	3		0.76300						
3.00	3		0.92900						
4.00	3			1.39167					
5.00	3				1.74400				
6.00	3					2.03367			
7.00	3						3.27967		
8.00	3							5.14200	
9.00	3								7.25833
Sig.		1.000	.057	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

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.10 ml/g

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	230.371	8	28.796	1712.653	0.000
Within Groups	0.303	18	0.017		
Total	230.674	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l)

Duncan[a]

เอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.10 ml/g	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.00	3	0.36433								
2.00	3		0.90300							
3.00	3			1.45633						
4.00	3				2.17500					
5.00	3					2.70400				
6.00	3						3.29000			
7.00	3							4.96700		
8.00	3								7.60467	
9.00	3									9.40000
Sig.		1.000	1.000	1.000	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

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.15 ml/g

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	297.468	8	37.183	373.009	0.000
Within Groups	1.794	18	0.100		
Total	299.262	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

เอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.15 ml/g	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1.00	3	0.45400							
2.00	3		1.34367						
3.00	3			2.00033					
4.00	3				2.92733				
5.00	3					3.71467			
6.00	3					4.09200			
7.00	3						6.32100		
8.00	3							9.29600	
9.00	3								10.58333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.161	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 0.20

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.20 ml/g

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	337.393	8	42.174	2221.958	0.000
Within Groups	0.342	18	0.019		
Total	337.735	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l)

Duncan[a]

เอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.20 ml/g	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.00	3	0.48067								
2.00	3		1.42700							
3.00	3			2.63367						
4.00	3				3.71900					
5.00	3					4.47100				
6.00	3						5.12100			
7.00	3							7.79167		
8.00	3								10.00833	
9.00	3									11.26667
Sig.		1.000	1.000	1.000	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.

ความเข้มข้น 0.25

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.25 ml/g

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	319.749	8	39.969	82.329	0.000
Within Groups	8.739	18	0.485		
Total	328.488	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l)

Duncan[a]

เอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.25 ml/g	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
1.00	3	0.41100					
2.00	3	1.56033					
3.00	3		2.85600				
4.00	3		3.82500	3.82500			
5.00	3			4.62100	4.62100		
6.00	3				5.24633		
7.00	3					7.86667	
8.00	3						9.87500
9.00	3						11.00833
Sig.		0.058	0.106	0.179	0.286	1.000	0.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l) ย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.30 ml/g

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	384.313	8	48.039	1312.170	0.000
Within Groups	0.659	18	0.037		
Total	384.972	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l)

Duncan[a]

เอนไซม์ Accellerase ความเข้มข้น 0.30 ml/g	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.00	3	0.49333								
2.00	3		1.77733							
3.00	3			3.32933						
4.00	3				4.63133					
5.00	3					5.74633				
6.00	3						6.49200			
7.00	3							9.28333		
8.00	3								10.95000	
9.00	3									11.95000
Sig.		1.000	1.000	1.000	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 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม

ANOVA

ย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมที่ 48 ชั่วโมง

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.847	5	8.569	30.784	.000
Within Groups	3.340	12	.278		
Total	46.187	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	3	7.25833			
2.00	3		9.40000		
3.00	3			10.58333	
5.00	3			11.00833	11.00833
4.00	3			11.26667	11.26667
6.00	3				11.95000
Sig.		1.000	1.000	0.157	0.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำไฮโดรไลเซทส่วนน้ำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.058	8	0.007	19.234	0.000
Within Groups	0.007	18	0.000		
Total	0.065	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 ชั่วโมง	3	1.07600	0.001732	0.001000	1.07170	1.08030	1.075	1.078
1 ชั่วโมง	3	1.13267	0.022502	0.012991	1.07677	1.18856	1.110	1.155
2 ชั่วโมง	3	1.13433	0.001155	0.000667	1.13146	1.13720	1.133	1.135
3 ชั่วโมง	3	1.12700	0.009644	0.005568	1.10304	1.15096	1.120	1.138
4 ชั่วโมง	3	1.13100	0.023302	0.013454	1.07311	1.18889	1.105	1.150
5 ชั่วโมง	3	1.12533	0.021127	0.012197	1.07285	1.17781	1.103	1.145
12 ชั่วโมง	3	1.21100	0.010149	0.005859	1.18579	1.23621	1.200	1.220
24 ชั่วโมง	3	1.22867	0.041004	0.023674	1.12681	1.33053	1.188	1.270
48 ชั่วโมง	3	1.09767	0.004041	0.002333	1.08763	1.10771	1.093	1.100
Total	27	1.14041	0.049926	0.009608	1.12066	1.16016	1.075	1.270

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำส่วนกากมาย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Descriptives

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

ชั่วโมง	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	0.51967	0.087180	0.050333	0.30310	0.73623	0.444	0.615
1	3	1.80667	0.304869	0.176016	1.04933	2.56400	1.538	2.138
2	3	2.81667	0.461730	0.266580	1.66967	3.96367	2.331	3.250
3	3	3.72500	0.540833	0.312250	2.38150	5.06850	3.125	4.175
4	3	4.32133	0.592839	0.342276	2.84864	5.79403	3.688	4.863
5	3	4.72533	0.546174	0.315334	3.36856	6.08211	4.213	5.300
12	3	7.80867	0.566707	0.327188	6.40089	9.21644	7.475	8.463
24	3	9.81667	0.629153	0.363242	8.25376	11.37957	9.150	10.400
48	3	11.08333	0.461203	0.266276	9.93764	12.22903	10.575	11.475
Total	27	5.18037	3.504824	0.674504	3.79391	6.56683	0.444	11.475

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	315.007	8	39.376	162.137	0.000
Within Groups	4.371	18	0.243		
Total	319.379	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

การย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0 ชั่วโมง	3	0.51967							
1 ชั่วโมง	3		1.80667						
2 ชั่วโมง	3			2.81667					
3 ชั่วโมง	3				3.72500				
4 ชั่วโมง	3				4.32133	4.32133			
5 ชั่วโมง	3					4.72533			
12 ชั่วโมง	3						7.80867		
24 ชั่วโมง	3							9.81667	
48 ชั่วโมง	3								11.08333
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.156	0.329	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-10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และนำไฮโดรไลเซทส่วนน้ำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Descriptives

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 ชั่วโมง	3	0.27700	0.007550	0.004359	0.25825	0.29575	0.269	0.284
1 ชั่วโมง	3	0.27767	0.010017	0.005783	0.25278	0.30255	0.270	0.289
2 ชั่วโมง	3	0.27233	0.009713	0.005608	0.24821	0.29646	0.264	0.283
3 ชั่วโมง	3	0.27100	0.005000	0.002887	0.25858	0.28342	0.266	0.276
4 ชั่วโมง	3	0.26133	0.006807	0.003930	0.24442	0.27824	0.256	0.269
5 ชั่วโมง	3	0.27233	0.010970	0.006333	0.24508	0.29958	0.266	0.285
12 ชั่วโมง	3	0.26933	0.006110	0.003528	0.25416	0.28451	0.264	0.276
24 ชั่วโมง	3	0.27700	0.006557	0.003786	0.26071	0.29329	0.271	0.284
48 ชั่วโมง	3	0.25367	0.008737	0.005044	0.23196	0.27537	0.244	0.261
Total	27	0.27019	0.010251	0.001973	0.26613	0.27424	0.244	0.289

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.002	8	0.000	2.873	0.030
Within Groups	0.001	18	0.000		
Total	0.003	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

ย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อกรัม	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
48 ชั่วโมง	3	0.25367		
4 ชั่วโมง	3	0.26133	0.26133	
12 ชั่วโมง	3		0.26933	0.26933
3 ชั่วโมง	3		0.27100	0.27100
2 ชั่วโมง	3		0.27233	0.27233
5 ชั่วโมง	3		0.27233	0.27233
0 ชั่วโมง	3		0.27700	0.27700
24 ชั่วโมง	3		0.27700	0.27700
1 ชั่วโมง	3			0.27767
Sig.		.265	.052	.284

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-11 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่ 1)

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75.033	6	12.506	229.479	.000
Within Groups	.763	14	.054		
Total	75.796	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
60.0	3	3.4200					
48.0	3		3.9300				
72.0	3			5.7900			
12.0	3			6.1467	6.1467		
24.0	3				6.2867		
.0	3					7.4800	
36.0	3						9.4300
Sig.		1.000	1.000	.082	.475	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	106.017	6	17.669	344.004	.000
Within Groups	.668	13	.051		
Total	106.684	19			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a,,b]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
60.0	3	2.1900					
.0	3		3.7167				
72.0	3		3.9667				
12.0	3			4.7300			
48.0	3				5.2700		
24.0	2					6.2300	
36.0	3						9.8600
Sig.		1.000	.214	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.800.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a,,b]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
60.0	3	2.1900					
.0	3		3.7167				
72.0	3		3.9667				
12.0	3			4.7300			
48.0	3				5.2700		
24.0	2					6.2300	
36.0	3						9.8600
Sig.		1.000	.214	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.800.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	287.486	6	47.914	332.090	.000
Within Groups	2.020	14	.144		
Total	289.506	20			

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
72.0	3	2.9600						
.0	3		4.4433					
60.0	3			6.3700				
48.0	3				7.7800			
12.0	3					9.4767		
36.0	3						12.5800	
24.0	3							13.6700
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-12 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 2)

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	339.310	6	56.552	3503.199	.000
Within Groups	.226	14	.016		
Total	339.536	20			

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
48.0	3	.9400					
.0	3		1.2600				
60.0	3			1.5600			
72.0	3			1.5600			
36.0	3				6.8100		
12.0	3					9.6400	
24.0	3						10.9100
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

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	249.662	6	41.610	5013.286	.000
Within Groups	.116	14	.008		
Total	249.778	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
60.0	3	.6300					
72.0	3	.6300					
.0	3		1.2100				
48.0	3			1.3900			
24.0	3				6.4900		
36.0	3					7.2200	
12.0	3						9.4300
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

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	383.401	6	63.900	3307.622	.000
Within Groups	.270	14	.019		
Total	383.671	20			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
48.0	3	.7200					
.0	3		1.0400				
60.0	3			1.7400			
72.0	3			1.7400			
12.0	3				4.5200		
36.0	3					10.2300	
24.0	3						11.8133
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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-13 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 3)

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	153.526	6	25.588	866.118	.000
Within Groups	.414	14	.030		
Total	153.939	20			

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
72.0	3	1.4100					
60.0	3		1.7500				
.0	3			2.2900			
48.0	3			2.3700			
36.0	3				3.4900		
12.0	3					6.2600	
24.0	3						9.3500
Sig.		1.000	1.000	.578	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	496.842	6	82.807	10481.899	.000
Within Groups	.111	14	.008		
Total	496.953	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
60.0	3	.3000				
72.0	3	.3600				
48.0	3	.4500				
.0	3		1.4400			
36.0	3			5.0600		
24.0	3				5.5500	
12.0	3					14.7700
Sig.		.069	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

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	302.415	6	50.403	2818.034	.000
Within Groups	.250	14	.018		
Total	302.666	20			

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
72.0	3	.0800						
48.0	3		1.1700					
60.0	3			1.5000				
36.0	3				5.0700			
.0	3					5.6800		
12.0	3						9.8100	
24.0	3							10.1400
Sig.		1.000	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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-14 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 72 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่ 1)

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.966	6	2.828	23.390	.000
Within Groups	1.692	14	.121		
Total	18.658	20			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
36.0	3	13.5833				
60.0	3	14.1333	14.1333			
48.0	3		14.5333	14.5333		
12.0	3			14.8747	14.8747	
72.0	3			15.0750	15.0750	
24.0	3				15.3417	
.0	3					16.6250
Sig.		.073	.181	.091	.140	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.704	6	2.284	2.060	.124
Within Groups	15.520	14	1.109		
Total	29.223	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
36.0	3	16.07500	
12.0	3	17.43767	17.43767
72.0	3	17.95833	17.95833
60.0	3		18.30000
48.0	3		18.33333
.0	3		18.43800
24.0	3		18.52500
Sig.		.055	.274

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.975	6	2.662	7.676	.001
Within Groups	4.856	14	.347		
Total	20.831	20			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
72.0	3	14.45833		
36.0	3	14.83333	14.83333	
60.0	3	14.85000	14.85000	
12.0	3	15.33367	15.33367	
48.0	3		15.94167	15.94167
24.0	3			16.42500
.0	3			17.02100
Sig.		.114	.051	.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-15 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 72 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 (สูตรที่ 2)

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	250.155	6	41.692	10972.260	.000
Within Groups	.053	14	.004		
Total	250.208	20			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	1	2	3	4
36.0	3	1.06100			
48.0	3	1.06933			
72.0	3	1.08200			
60.0	3	1.15533	1.15533		
24.0	3		1.21267		
12.0	3			1.77533	
.0	3				11.06667
Sig.		.105	.274	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	244.863	6	40.810	56.845	.000
Within Groups	10.051	14	.718		
Total	254.914	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
72.0	3	3.47933				
60.0	3	3.52533				
48.0	3	4.55033				
36.0	3		6.60467			
24.0	3			8.42933		
12.0	3				10.40833	
.0	3					13.12500
Sig.		.163	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

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	268.492	6	44.749	12682.344	.000
Within Groups	.049	14	.004		
Total	268.542	20			

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
24.0	3	1.47100			
72.0	3		1.58933		
60.0	3		1.66967		
12.0	3			1.80833	
48.0	3			1.84367	
36.0	3			1.84933	
.0	3				11.91667
Sig.		1.000	.120	.436	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-16 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 72 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Accellerase 1500 (สูตรที่ 3)

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70.100	6	11.683	79.419	.000
Within Groups	2.060	14	.147		
Total	72.160	20			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
72.0	3	.87267	
60.0	3	.91300	
48.0	3	.94433	
36.0	3	.96967	
24.0	3	1.01767	
12.0	3	1.20033	
.0	3		6.20000
Sig.		.362	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.334	6	5.056	2.442	.079
Within Groups	28.983	14	2.070		
Total	59.317	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
36.0	3	4.75433	
72.0	3	4.80033	
60.0	3	4.91700	
48.0	3	5.16700	
24.0	3	5.77100	5.77100
12.0	3	6.91267	6.91267
.0	3		8.16667
Sig.		.121	.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	67.931	6	11.322	414.446	.000
Within Groups	.382	14	.027		
Total	68.313	20			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12.0	3	1.38567		
60.0	3	1.53500		
72.0	3	1.58633	1.58633	
36.0	3	1.62600	1.62600	
48.0	3	1.65267	1.65267	
24.0	3		1.89800	
.0	3			6.73767
Sig.		.093	.050	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-17 ปริมาณเอทานอลของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการกำจัดสารพิษ (สูตรที่ 1)

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.558	6	3.760	130.523	.000
Within Groups	.403	14	.029		
Total	22.961	20			

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.0	3	.0000	
24.0	3		2.8367
12.0	3		2.8367
72.0	3		2.9600
36.0	3		2.9933
48.0	3		3.0000
60.0	3		3.0867
Sig.		1.000	.127

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.704	6	3.451	148.131	.000
Within Groups	.326	14	.023		
Total	21.031	20			

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.0	3	.0000		
12.0	3		2.6133	
24.0	3		2.6533	
72.0	3		2.7867	2.7867
48.0	3		2.8600	2.8600
60.0	3			2.9433
36.0	3			3.0133
Sig.		1.000	.088	.114

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.888	6	3.481	890.488	.000
Within Groups	.055	14	.004		
Total	20.943	20			

Duncan[a]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.0	3	.0000		
72.0	3		2.7333	
12.0	3		2.7700	
24.0	3		2.8200	2.8200
60.0	3			2.9000
36.0	3			2.9000
48.0	3			2.9367
Sig.		1.000	.129	.052

ตารางที่ จ-18 ปริมาณเอทานอลของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 2)

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.849	6	5.641	158.214	.000
Within Groups	.499	14	.036		
Total	34.348	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.0	3	.0000	
36.0	3		3.5000
24.0	3		3.5267
48.0	3		3.5300
12.0	3		3.6467
72.0	3		3.6733
60.0	3		3.8200
Sig.		1.000	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.680	6	3.447	68.782	.000
Within Groups	.702	14	.050		
Total	21.381	20			

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.0	3	.0000	
72.0	3		2.6500
12.0	3		2.6533
48.0	3		2.8400
60.0	3		2.8500
24.0	3		2.8633
36.0	3		3.0300
Sig.		1.000	.083

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.575	6	5.429	187.519	.000
Within Groups	.405	14	.029		
Total	32.980	20			

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

Duncan[a]

เวลาในการหมัก(ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.0	3	.00000		
36.0	3		3.43667	
24.0	3		3.46667	3.46667
12.0	3		3.49000	3.49000
48.0	3		3.53333	3.53333
72.0	3		3.56333	3.56333
60.0	3			3.78667
Sig.		1.000	.421	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-19 ปริมาณเอทานอลของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017, *C. shehatae* ATCC 22984 และเชื้อผสม ในอาหารไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (สูตรที่ 3)

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29.859	6	4.977	135.022	.000
Within Groups	.516	14	.037		
Total	30.375	20			

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.0	3	.0000	
24.0	3		3.2267
48.0	3		3.3300
36.0	3		3.3500
12.0	3		3.4033
60.0	3		3.4533
72.0	3		3.6000
Sig.		1.000	.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.323	6	3.387	1627.713	.000
Within Groups	.029	14	.002		
Total	20.352	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
.0	3	.0000				
12.0	3		2.6300			
36.0	3			2.7433		
60.0	3			2.8133	2.8133	
72.0	3			2.8233	2.8233	2.8233
48.0	3				2.8867	2.8867
24.0	3					2.9067
Sig.		1.000	1.000	.060	.082	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

เอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.465	6	4.744	308.162	.000
Within Groups	.216	14	.015		
Total	28.681	20			

Duncan[a]

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.0	3	.0000		
12.0	3		3.1533	
60.0	3		3.2467	3.2467
48.0	3		3.2700	3.2700
24.0	3		3.3433	3.3433
36.0	3			3.4167
72.0	3			3.4633
Sig.		1.000	.104	.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวอัจฉราภรณ์ จงมีสุข
วัน เดือน ปีเกิด	18 ธันวาคม พ.ศ. 2531
ที่อยู่	6/5 หมู่ 3 ตำบลอ้อมน้อย อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร 74130
ประวัติการศึกษา	(2554) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ เกรดเฉลี่ย 3.29 (สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้