

การหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย
ด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* เพื่อผลิตเอทานอล



ปริญญาบัตรนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย

ด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* เพื่อผลิตเอทานอล



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fermentation of Xylose, Arabinose and Glucose Solutions and
Hydrolysates from Sugarcane Bagasse by Yeast *Pichia stipitis*
for Ethanol Production



A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Bachelor of Engineering in Chemical Engineering
Faculty of Engineering,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาานิพนธ์เรื่อง

การหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และไฮโดรไลเซท
จากขานอ้อยด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* เพื่อผลิตเอทานอล

โดย

นายเดชัส พรมตา

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.ณัฐนนท์ ไพบูลย์ศิลป์

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปริญญาานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาและอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาตรีวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบปริญญาานิพนธ์



ประธานกรรมการ

(ดร.ณัฐนนท์ ไพบูลย์ศิลป์)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลย์รัตน์ จันทร์อัมพร)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---------------------|---|
| ปริญญาานิพนธ์เรื่อง | การหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย ด้วยยีสต์ <i>Pichia stipitis</i> เพื่อผลิตเอทานอล |
| โดย | นายเตชัส พรมตา |
| ปริญญา | วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต |
| สาขาวิชา | วิศวกรรมเคมี |
| ปีการศึกษา | 2560 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ดร.ณัฐนนท์ ไพบูลย์ศิลป์ |

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคส โดยใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* ATC.58376 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล โมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบหลักในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย และศึกษาอิทธิพลของผลิตภัณฑ์อื่นๆ ในไฮโดรไลเซท เช่น น้ำตาลหลายโมเลกุล และสารประกอบฟิวแรน ต่ออัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ และผลได้ของเอทานอล การทดลองใช้สารละลายน้ำตาลไซโลส อะราบิโนส และกลูโคส ความเข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม และไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยที่ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาทีโดยหมักในระบบปิด ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่าขวดหมัก 100 รอบต่อ นาที เวลาในการหมักทั้งหมด 120 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ ปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลง และปริมาณเอทานอล จากการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด พบว่ายีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะใกล้เคียงกัน และสามารถผลิตเอทานอลได้ แต่ความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์และผลได้ของเอทานอล โดยพบว่าอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์มีค่าสูงกว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลมีค่าต่ำ การหมักสารละลายไซโลสและอะราบิโนสที่มีความเข้มข้นต่ำมีผลได้ของเอทานอลสูงกว่า แต่ในกรณีของกลูโคสพบว่าเกิดเอทานอลได้ดีที่สารละลายน้ำตาลมีความเข้มข้นสูง ร้อยละผลได้สูงสุดของเอทานอลเปรียบเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีมีค่าเท่ากับ 106.27, 86.25 และ 46.23 เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคสเท่ากับ 1.0, 1.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้การทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆสามารถสร้างสมการอย่างง่ายเพื่อใช้ทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีเมื่อระบุชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ จากการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่มีองค์ประกอบเหมือนกันกับปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในไฮโดรไลเซท เปรียบเทียบกับการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย พบว่าการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมมีร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับผลได้ที่ทำนายจากสมการอย่างง่ายเท่ากับ 95.7 โดยมีค่าสูงกว่าร้อยละผลได้ของเอทานอลดังกล่าวจากการหมักไฮโดรไลเซทซึ่งเท่ากับ 64.5 เนื่องจากไฮโดรไลเซทมีสารประกอบฟิวแรน ได้แก่ เฟอร์ฟูรัล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล เป็นองค์ประกอบ ซึ่งส่งผลยับยั้งอัตราการเจริญจำเพาะและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลของยีสต์ ผลการศึกษานี้แสดงความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรสำหรับเป็นแหล่งพลังงานทดแทนและวัตถุดิบสำหรับผลิตสารชีวเคมีที่มีมูลค่าเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|--------------|--|
| Report Title | Fermentation of Xylose, Arabinose and Glucose Solutions and Hydrolysates from Sugarcane Bagasse by Yeast <i>Pichia stipitis</i> for Ethanol Production |
| By | Mr.Techut Promta |
| Degree | Bachelor of Engineering |
| Program | Chemical Engineering |
| Year | 2017 |
| Advisor | Dr. Natthanon Phaiboonsilpa |

Abstract

In this study, fermentation of xylose, arabinose and glucose solutions were performed by yeast *Pichia stipitis* ATC.58376. The objectives are to explore the effects of types and concentrations of mono-saccharides and the effects of other products in hydrolysates such as poly-saccharides and furan compounds, to the specific growth rate of yeast and ethanol yield. Fermentation experiments of xylose, arabinose and glucose solutions were conducted at the concentrations of 1.0, 5.0, 10.0 and 20.0 g/l in a close system at 30°C with shaking rate at 100 rpm for 120 hours by sampling every 12 hours. In addition to these, a solution of mixed mono-saccharides and hydrolysates collected from sugarcane bagasse as treated by hot-compressed water at 210°C for 0 minute in a batch reactor were studied for their fermentabilities. Analyses of the specific growth rate and the amounts of sugars and ethanol were done in the course of time. As a result, it was found that yeast almost displayed the same specific growth rate for all the studied mono-saccharides and fermented them to ethanol. However, the sugar concentration significantly affected the specific growth and ethanol yield. In general, higher ethanol yields could be obtained from the fermentation at lower concentration. It was the case for fermentation of xylose and arabinose. For a particular case of glucose, in contrast, yeast preferred to produce ethanol at the higher glucose concentration. The ethanol yields compared with its theoretical values were found to be maximized at 106.27wt%, 86.25wt%, and 46.23wt% from the fermentation of 1.0 g/l xylose, 1.0 g/l arabinose, and 20.0 g/l glucose, respectively. As for the comparative experiments on fermentation of the mixed mono-saccharide solution and sugarcane bagasse hydrolysates, which their sugar compositions were the same, 95.7wt% of ethanol compared with the estimated yield from empirical equation were attained from fermentation of the mixed mono-saccharide solution, while that of the sugarcane bagasse hydrolysates was 64.5wt%. This fermentability difference could be attributed to the presence of furan compounds, i.e. furfural and 5-hydroxymethylfurfural, which have an inhibition effect to yeast growth and its efficiency in ethanol production. This study would elucidate the feasibility of agricultural residue utilization as a potential resource for renewable energy and value-added biochemicals.

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก ดร.ณัฐนนท์ ไพบูลย์ศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณท่านเป็นอย่างสูงที่คอยให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการ ตลอดจนดูแลและแก้ไขปัญหาต่างๆด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี และขอขอบคุณทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สัญญาเลขที่ MRG5980129 จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนเงินในการซื้อเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยและสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) อีกทั้งคณาจารย์และบุคคลหลายฝ่าย ดังรายนามต่อไปนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วลัยรัตน์ จันทระอัมพร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ กรรมการผู้ตรวจสอบปริญญานิพนธ์ที่ตรวจแก้รายงานให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ศาสตราจารย์ ดร. นวตล เหล่าศิริพจน์ อาจารย์ประจำบัณฑิตวิทยาลัยร่วมด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และ ดร.วีระวัฒน์ แซ่มปรีดา หัวหน้าห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเอนไซม์/ห้องปฏิบัติการพลังงานและเคมีชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่เอื้อเฟื้อเงินทุนวิจัย ห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือสำหรับการทดลอง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมอาหารที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์สำหรับการทดลอง หม้อนิ่งอัดไอน้ำ และตู้ปลอดเชื้อ คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คุณพิสันต์ ผลโพธิ์ รวมถึงเจ้าหน้าที่ และรุ่นพี่รุ่นน้องภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวของผู้วิจัยที่คอยเป็นแรงผลักดัน ให้คำปรึกษา และกำลังใจ สนับสนุนดูแลในทุกๆด้านตลอดการทำโครงการในครั้งนี้ หากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดผู้จัดทำขออภัยและกราบขออภัยมา ณ ที่นี้

เตชัส พรมตา

สารบัญ

หน้า

| | |
|--|------|
| บทคัดย่อ..... | I |
| Abstract..... | II |
| กิตติกรรมประกาศ..... | III |
| สารบัญ..... | IV |
| สารบัญตาราง..... | VIII |
| สารบัญรูปภาพ..... | X |
| บทที่ 1 บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญ..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์..... | 2 |
| 1.3 ขอบเขตการศึกษา..... | 3 |
| 1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน..... | 4 |
| 1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ..... | 4 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 5 |
| 2.1 พลังงานทดแทน..... | 6 |
| 2.2 ชีวมวล..... | 6 |
| 2.3 ลิกโนเซลลูโลส..... | 7 |
| 2.3.1 เซลลูโลส..... | 8 |
| 2.3.2 เฮมิเซลลูโลส..... | 9 |
| 2.3.3 ลิกนิน..... | 9 |
| 2.4 วิธีการปรับสภาพทางเคมีของวัสดุลิกโนเซลลูโลส..... | 9 |
| 2.4.1 การระเบิดด้วยไอน้ำ..... | 10 |
| 2.4.2 การระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์..... | 10 |
| 2.4.3 การใช้ น้ำร้อนอัดความดัน..... | 10 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|--|------|
| 2.4.4 การใช้น้ำที่ภาวะเหนือหรือใต้วิกฤต..... | 11 |
| 2.4.5 การปรับสภาพโดยใช้กรด..... | 11 |
| 2.4.6 การปรับสภาพโดยใช้ด่าง..... | 11 |
| 2.4.7 การย่อยเป็ยก..... | 12 |
| 2.5 ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส..... | 12 |
| 2.6 น้ำตาลรีดิวิซ์..... | 12 |
| 2.7 การหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยยีสต์เพื่อผลิตเอทานอล..... | 13 |
| 2.7.1 ยีสต์..... | 13 |
| 2.7.2 ลักษณะทั่วไปของเซลล์ยีสต์..... | 13 |
| 2.7.3 ลักษณะการเจริญเติบโตของยีสต์..... | 14 |
| 2.7.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักไซโลส อะราบิโนสและกลูโคสเพื่อผลิตเอทานอล..... | 16 |
| 2.7.5 การผลิตเอทานอลจากชีวมวล..... | 18 |
| 2.8 กลไกและเมแทบอลิซึมของการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของยีสต์..... | 19 |
| 2.8.1 เมแทบอลิซึมของยีสต์..... | 19 |
| 2.8.2 แคตาบอลิซึมของน้ำตาล..... | 20 |
| 2.8.3 การขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ของยีสต์..... | 21 |
| 2.8.4 เมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากไซโลส..... | 22 |
| 2.8.5 เมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากอะราบิโนส..... | 23 |
| 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 25 |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน..... | 27 |
| 3.1 การเตรียมไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย..... | 27 |
| 3.1.1 การเตรียมชานอ้อยปราศจากสารสกัด..... | 27 |
| 3.1.2 การไฮโดรไลซิสชานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน..... | 27 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|--|------|
| 3.2 การเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อ..... | 27 |
| 3.3 การเตรียมเชื้อก่อนหมัก..... | 28 |
| 3.4 การสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณของเซลล์ยีสต์แห้ง..... | 28 |
| 3.5 การหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคส..... | 29 |
| 3.6 การหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย..... | 29 |
| 3.7 การวัดการเจริญของยีสต์..... | 30 |
| 3.8 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอล..... | 30 |
| 3.9 การคำนวณร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี..... | 31 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล..... | 32 |
| 4.1 ปริมาณของผลิตภัณฑ์ต่างๆในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย..... | 32 |
| 4.2 ผลของชนิดและความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ในการหมักสารละลายไซโลสอะราบิโนส และกลูโคส..... | 33 |
| 4.2.1 การเจริญเติบโตของยีสต์..... | 33 |
| 4.2.2 การหมักสารละลายไซโลส..... | 36 |
| 4.2.3 การหมักสารละลายอะราบิโนส..... | 39 |
| 4.2.4 การหมักสารละลายกลูโคส..... | 41 |
| 4.3 สมการอย่างง่ายความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี..... | 43 |
| 4.4 การหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมเปรียบเทียบกับไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย..... | 46 |
| 4.4.1 การเจริญเติบโตของยีสต์..... | 46 |
| 4.4.2 ปริมาณน้ำตาลและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลาในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย..... | 47 |

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|----------------------------------|------|
| บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ..... | 52 |
| 5.1 สรุปผล..... | 52 |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ..... | 54 |
| บรรณานุกรม..... | 55 |
| ภาคผนวก..... | 58 |
| ภาคผนวก ก การคำนวณ..... | 59 |
| ภาคผนวก ข ข้อมูลดิบ..... | 60 |



สารบัญตาราง

หน้า

| | |
|--|----|
| ตารางที่ 2.1 ปริมาณเซลล์โลส เอมิเซลล์โลส และลิกนินในองค์ประกอบของ วัสดุชีวมวลประเภทต่างๆ..... | 8 |
| ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย..... | 32 |
| ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคส..... | 36 |
| ตารางที่ 4.3 ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลและร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล เทียบกับทฤษฎี..... | 43 |
| ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยและ สารละลายน้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยว..... | 47 |
| ตารางที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลจากการทดลองหมัก การประมาณค่าจากสมการอย่างง่าย และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับค่าประมาณจาก สมการอย่างง่าย..... | 48 |
| ตารางที่ ข.1 พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายไซโลส ในการหมักต่างกัน..... | 74 |
| ตารางที่ ข.2 พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายอะราบิโนส ในการหมักต่างกัน..... | 76 |
| ตารางที่ ข.3 พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส ในการหมักที่ต่างกัน..... | 78 |
| ตารางที่ ข.4 พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล โมลเลกุลเดี่ยวในการหมักสารละลายน้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยวผสม..... | 80 |
| ตารางที่ ข.5 พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล โมลเลกุลเดี่ยวในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย..... | 81 |

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ ข.6 พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล

จากการหมักแปลงค์.....82



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูปภาพ

หน้า

| | |
|--|----|
| รูปที่ 2.1 โครงสร้างภายในผนังเซลล์ของพืช..... | 7 |
| รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส..... | 8 |
| รูปที่ 2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการเจริญของยีสต์ระหว่างลอการิทึม ของจำนวนเซลล์กับเวลา..... | 14 |
| รูปที่ 2.4 การสลายกลูโคสในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนของยีสต์..... | 21 |
| รูปที่ 2.5 กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากไซโลส..... | 23 |
| รูปที่ 2.6 กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากอะราบิโนส..... | 24 |
| รูปที่ 4.1 กราฟลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักสารละลาย ไซโลสความเข้มข้นต่างๆ..... | 34 |
| รูปที่ 4.2 กราฟลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักสารละลาย อะราบิโนสความเข้มข้นต่างๆ..... | 34 |
| รูปที่ 4.3 กราฟลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักสารละลาย กลูโคสความเข้มข้นต่างๆ..... | 35 |
| รูปที่ 4.4 ปริมาณไซโลสและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายไซโลส..... | 37 |
| รูปที่ 4.5 ปริมาณอะราบิโนสและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมัก สารละลายอะราบิโนส..... | 40 |
| รูปที่ 4.6 ปริมาณกลูโคสและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายกลูโคส..... | 42 |
| รูปที่ 4.7 สมการอย่างง่ายของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซโลสและ ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี..... | 44 |
| รูปที่ 4.8 สมการอย่างง่ายของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายอะราบิโนสและ ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี..... | 44 |
| รูปที่ 4.9 สมการอย่างง่ายของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสและ ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี..... | 45 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปร่าง (ต่อ)

หน้า

| | |
|---|----|
| รูปที่ 4.10 กราฟลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักสารละลาย น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยความเข้มข้นต่างๆ..... | 46 |
| รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมัก สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม..... | 48 |
| รูปที่ 4.12 ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมัก ไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย..... | 50 |
| รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งกับค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร..... | 63 |
| รูปที่ ข.2 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร..... | 64 |
| รูปที่ ข.3 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร..... | 64 |
| รูปที่ ข.4 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร..... | 65 |
| รูปที่ ข.5 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร..... | 65 |
| รูปที่ ข.6 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร..... | 66 |
| รูปที่ ข.7 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร..... | 66 |
| รูปที่ ข.8 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร..... | 67 |
| รูปที่ ข.9 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร..... | 67 |
| รูปที่ ข.10 กราฟระหว่างลอกการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่ง คาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร..... | 68 |

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

| | |
|--|----|
| รูปที่ ข.11 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร..... | 68 |
| รูปที่ ข.12 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร..... | 69 |
| รูปที่ ข.13 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร..... | 69 |
| รูปที่ ข.14 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายน้ำตาลโมลกุลเดี่ยวผสม..... | 70 |
| รูปที่ ข.15 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย..... | 70 |
| รูปที่ ข.16 ปริมาณน้ำตาลและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน..... | 71 |
| รูปที่ ข.17 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน..... | 72 |
| รูปที่ ข.18 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของไซโลส..... | 72 |
| รูปที่ ข.19 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของอะราบิโนส..... | 73 |
| รูปที่ ข.20 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของกลูโคส..... | 73 |
| รูปที่ ข.21 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของเอทานอล..... | 74 |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

การเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร (กรมการปกครอง กระทรวงมหาดไทย, 2560) และการขยายตัวของอุตสาหกรรมทำให้มีความต้องการในการใช้พลังงานมากขึ้น พลังงานที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นพลังงานที่ได้มาจากเชื้อเพลิงฟอสซิล ได้แก่ น้ำมันดิบ แก๊สธรรมชาติ และถ่านหิน ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัดและใช้แล้วหมดไปไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ จากสรุปสถานการณ์พลังงานของประเทศไทยตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนกันยายน 2560 พบว่าการใช้พลังงานมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเติบโตทางเศรษฐกิจ โดยน้ำมันสำเร็จรูปเป็นแหล่งพลังงานที่ถูกนำมาใช้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 50.7 และมีการนำเข้าพลังงานคิดเป็นมูลค่า 631,693 ล้านบาท (กรมพลังงานทดแทน, 2560)

รัฐบาลจึงมีนโยบายส่งเสริมการใช้พลังงานทดแทนในประเทศและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้พลังงาน โดยในช่วง 9 เดือนแรกของปี 2560 ประเทศไทยมีการใช้พลังงานทดแทน 8,617 พันตัน (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2560) พลังงานจากชีวมวล (Biomass Energy) เป็นพลังงานทดแทนที่มีศักยภาพสูงและเหมาะสมกับประเทศที่มีการทำเกษตรกรรม เช่น ประเทศไทย ชีวมวลสามารถได้มาจากพืช สัตว์ องค์กรประกอบของสิ่งมีชีวิต และสารอินทรีย์ต่างๆ เศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร รวมไปถึงการนำมูลสัตว์ ของเสียจากโรงงานแปรรูปทางการเกษตร และขยะ เมื่อนำมาผ่านการแปลงสภาพด้วยเทคโนโลยีและกระบวนการต่างๆทั้งทางเคมีหรือชีวภาพ จะสามารถผลิตเป็นพลังงานได้หลากหลายรูปแบบรวมทั้งเคมีภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงอื่นๆได้ (กระทรวงพลังงาน, 2560)

ไบโอเอทานอล เป็นแหล่งพลังงานซึ่งได้จากชีวมวลที่มีศักยภาพที่สุดในประเทศไทย จากแผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี (พ.ศ. 2551-2565) กระทรวงพลังงานได้กำหนดเป้าหมายการส่งเสริมการใช้เอทานอลปริมาณ 9 ล้านลิตรต่อวันภายในปี 2565 โดยภาครัฐได้มีนโยบายและส่งเสริมสนับสนุนที่ชัดเจนและมีการกำหนดภารกิจที่สำคัญโดยการสร้างตลาดเอทานอลที่ยั่งยืน (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2560) ประกอบกับประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมประชาชนมากกว่าร้อยละ 50 ประกอบอาชีพเกษตรกรรม ผลพลอยได้ที่สำคัญก็คือ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว แกลบ ชานอ้อย ทะลายปาล์ม ชังข้าวโพด และกากมันสำปะหลัง วัสดุเหล่านี้จัดเป็นชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ซึ่งมีองค์ประกอบหลักที่ประกอบไปด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน วัสดุลิกโนเซลลูโลสสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้โดยผ่านกระบวนการปรับสภาพ (pretreatment) ทางกายภาพ เคมี และ/หรือชีวภาพ เพื่อกำจัดลิกนินออกจากโครงสร้างของผนังเซลล์พืช ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสให้มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลง และปรับปรุงโครงสร้างของเซลลูโลสเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำให้เกิดเป็นน้ำตาล (Saccharification) ในขั้นตอนถัดไป เฮมิเซลลูโลสเมื่อถูกย่อยสลายจะเกิดเป็นน้ำตาลโมเลกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดี่ยว ได้แก่ ไฮโลส อะราบิโนส และแมนโนส ส่วนเซลลูโลสจะถูกย่อยสลายจนได้เป็นกลูโคส ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้สามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้โดยการหมักด้วยยีสต์

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา พบว่ากระบวนการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย และข้าวสาลี โดยส่วนใหญ่ประกอบด้วยกระบวนการปรับสภาพเพื่อกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส กากของแข็งที่เหลือที่ประกอบด้วยเซลลูโลส เมื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกากของแข็งจะได้ผลิตภัณฑ์ของเหลวเป็นกลูโคส จากนั้นจึงหมักผลิตภัณฑ์ของเหลวต่อจนได้เป็นเอทานอล (Frank K. Agbogbo และคณะ, 2006) นอกจากกลูโคสซึ่งมาจากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสสามารถใช้เป็นแหล่งผลิตน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดที่มีคาร์บอน 5 อะตอม คือ ไฮโลส และอะราบิโนส ซึ่งสามารถหมักด้วยยีสต์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้เช่นกัน (J.N. Nigam, 2001) ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของยีสต์ในขั้นตอนการหมัก เช่น ความเข้มข้นและชนิดของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ค่าความเป็นกรดเบส อุณหภูมิ เป็นต้น

จากจุดมุ่งหมายเพื่อที่จะพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยยีสต์ที่มีผลได้ของเอทานอลสูง ยศพล (2559) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากการหมักไฮโดรไลเซตที่ได้จากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที ด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบกะโดยใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* พบว่าสามารถผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซตได้ มีผลได้ของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีซึ่งคำนวณโดยใช้ปริมาณไฮโลสเป็นฐานเท่ากับร้อยละ 226.12 โดยมีผล การทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wen-Heng Chen และคณะ (2012) ซึ่งรายงานว่ายีสต์ *Pichia stipitis* สามารถหมักน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้งชนิดที่มีคาร์บอน 5 และ 6 อะตอม เกิดเป็นเอทานอลได้ มีผลได้ของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีของไฮโลส และกลูโคสเท่ากับร้อยละ 84.3 และ 74.5 โดยมีผลตามลำดับ เพื่อการประเมินประสิทธิภาพในการหมักไฮโดรไลเซตจากชานอ้อย โครงการนี้จึงศึกษาอิทธิพลของชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบหลักในไฮโดรไลเซต คือ ไฮโลส อะราบิโนส และกลูโคส และศึกษาอิทธิพลของผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น น้ำตาลหลายโมเลกุล หรือสารประกอบฟิวแรน ต่อการหมักของยีสต์ และผลได้ของเอทานอล โดยทดลองเปรียบเทียบการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมกับการหมักไฮโดรไลเซตจากชานอ้อยด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* เพิ่มเติม ผลจากการศึกษานี้จะสามารถชี้ให้เห็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าแก่วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยการผลิตเอทานอล และตอบสนองนโยบายและแผนการพัฒนางานทดแทนของประเทศไทย

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ ไฮโลส อะราบิโนส และกลูโคส ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* ต่อผลได้ของเอทานอล

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยด้วยยีสต์ *Pichia stipitis*

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

1.3.1 โครงการนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research)

1.3.2 การทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพื่อศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนต่อผลได้ของเอทานอล โดยมีตัวแปรต้น ตัวแปรตาม และตัวแปรควบคุม ดังนี้

- | | |
|--------------|--|
| ตัวแปรต้น | - ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ ไฮโลส อะราบินอส และ กลูโคส |
| | - ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 1.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร |
| ตัวแปรตาม | - ผลได้ของเอทานอล |
| | - ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เหลือในของผสมในขวดหมัก |
| | - การเจริญของยีสต์ |
| ตัวแปรควบคุม | - ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งเริ่มต้นในการหมัก 0.01 กรัมต่อลิตร |
| | - ยีสต์ที่ใช้ในการหมัก คือ ยีสต์ <i>Pichia stipitis</i> ATC.58376 |
| | - ความเร็วรอบในการเขย่าขวดรูปชมพู่ 100 รอบต่อนาที |
| | - ปริมาตรรวมของสารละลายเริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก 150 มิลลิลิตร |

1.3.3 ขานอ้อยที่นำมาศึกษาและใช้ในการทดลองได้มาจากอ้อยพันธุ์สิงคโปร์ คัดแยกขนาดให้อยู่ในช่วง 425-850 ไมโครเมตร สกัดสารที่มีขั้วออกและไม่มีขั้วออกจนได้ขานอ้อยปราศจากสารสกัด (Extractives-free sugarcane bagasse)

1.3.4 การเตรียมไฮโดรไลเซทใช้ขานอ้อยปราศจากสารสกัดและน้ำปราศจากไอออน โดยนำมาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ (Batch reactor) ที่อุณหภูมิจนถึง 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที

1.3.5 การทดลองเปรียบเทียบระหว่างการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย โดยมีตัวแปรต้น ตัวแปรตาม และตัวแปรควบคุม ดังนี้

- ตัวแปรต้น - แหล่งคาร์บอน ได้แก่ สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมประกอบด้วย โซโลส อะราบิโนส และกลูโคส และไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย
- ตัวแปรตาม - ผลได้ของเอทานอล
- ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เหลือในของผสมในขวดหมัก
 - การเจริญของยีสต์
- ตัวแปรควบคุม - ความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ โซโลส อะราบิโนส และกลูโคส ในสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม และไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย
- ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งเริ่มต้นในการหมัก 0.01 กรัมต่อลิตร
 - ยีสต์ที่ใช้ในการหมัก คือ ยีสต์ *Pichia stipitis* ATC.58376
 - ความเร็วรอบในการเขย่าขวดรูปชมพู่ 100 รอบต่อนาที
 - ปริมาตรรวมของสารละลายเริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก 150 มิลลิลิตร

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

- 1.4.1 ศึกษาค้นคว้าทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
- 1.4.2 ออกแบบและวางแผนการทดลอง
- 1.4.3 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว
- 1.4.4 ศึกษาและเปรียบเทียบความแตกต่างในการผลิตเอทานอลจากการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย
- 1.4.5 วิเคราะห์ผลการทดลอง สรุปผลการทดลอง และจัดทำรายงาน

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ

- 1.5.1 ภาวะและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ โซโลส อะราบิโนส และกลูโคส
- 1.5.2 ข้อมูลจากการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม และการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยสามารถนำไปใช้ประเมินผลได้ของเอทานอลจากการหมักไฮโดรไลเซททางทฤษฎี และชี้ให้เห็นอิทธิพลของผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น น้ำตาลหลายโมเลกุล และสารประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟูแรน ที่อาจมีผลยับยั้งหรือส่งเสริมการผลิตเอทานอลของยีสต์เมื่อหมักไฮโดรไลเซทจาก
ชานอ้อย

- 1.5.3 สามารถนำภาวะการหมักที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการผลิตเอทานอลด้วยการหมัก
ไฮโดรไลเซทจากลิกโนเซลลูโลสประเภทอื่นๆ
- 1.5.4 เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าแก้วสุดเหลือทิ้งทางการเกษตร และนำวัสดุเหลือทิ้งทาง
การเกษตรมาผลิตเป็นพลังงานทดแทนได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พลังงานทดแทน (Renewable Energy)

พลังงานทดแทน (Renewable Energy) คือ พลังงานจากธรรมชาติที่นำมาใช้ไม่หมดสามารถหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ได้หรือเป็นพลังงานที่เราใช้แทนเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานจากชีวมวล เป็นต้น พลังงานที่เราใช้กันอยู่ในปัจจุบัน เช่น ถ่านหิน ฟืน น้ำมัน เชื้อเพลิงหรือก๊าซธรรมชาติ เราสามารถแบ่งพลังงานทดแทนตามแหล่งที่ได้มาเป็น 2 ประเภท คือ

1. พลังงานสิ้นเปลือง เป็นแหล่งพลังงานที่ได้จากพื้นดินเมื่อใช้แล้วหมดไปไม่สามารถสร้างขึ้นใหม่หรือไม่สามารถหามาทดแทนได้ในเวลาอันรวดเร็ว ได้แก่ น้ำมัน แก๊สธรรมชาติ ถ่านหิน นิวเคลียร์ เป็นต้น
2. พลังงานหมุนเวียน เป็นแหล่งพลังงานที่ใช้แล้วสามารถหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ได้อีก ได้แก่ พลังงานจากชีวมวล พลังงานจากแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานไฮโดรเจน เป็นต้น

2.2 ชีวมวล (Biomass)

ชีวมวล (Biomass) คือ วัสดุหรือสารอินทรีย์ที่ได้จากพืชและสัตว์หรือองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นพลังงานได้พลังงานที่ได้เรียกว่า พลังงานจากชีวมวล ซึ่งเป็นพลังงานที่ได้จากการนำชีวมวลมาผ่านเทคโนโลยีหรือกระบวนการต่างๆ เพื่อให้เกิดพลังงานในรูปแบบต่างๆ เช่น เชื้อเพลิงเหลว พลังงานความร้อนและก๊าซเชื้อเพลิงเหลว เป็นต้น ชีวมวลที่เราใช้กันในปัจจุบันนี้แบ่งตามแหล่งที่มาสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทได้แก่

1. ชีวมวลจากสัตว์ เช่น มูลสัตว์ ซากสัตว์ ไขมันจากสัตว์
2. ชีวมวลจากพืช เช่น แกลบ อ้อย ฟืน ชี้เลื้อย วัสดุที่เหลือใช้จากการเกษตร
3. ชีวมวลจากการดำเนินกิจกรรมในชีวิตประจำวันของมนุษย์ เช่น เศษอาหาร ของเสีย ขยะจากแหล่งชุมชน ของเสียบ้านเรือนและโรงงานอุตสาหกรรม

องค์ประกอบของชีวมวล

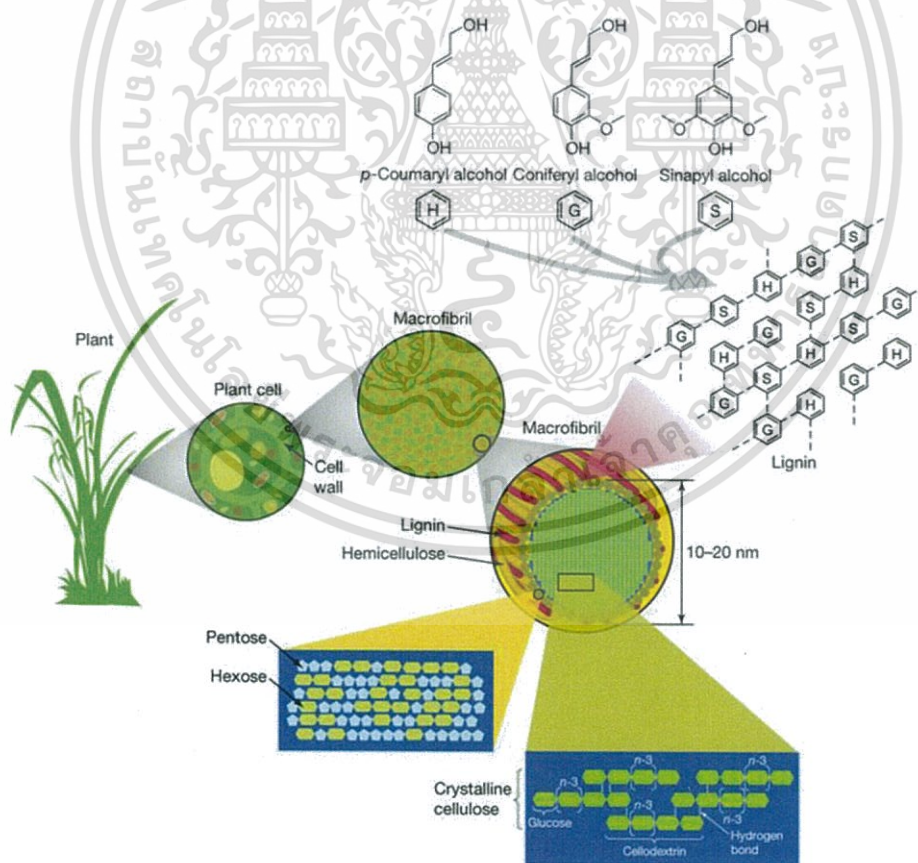
ความชื้น (Moisture) คือปริมาณน้ำที่มีอยู่จะพบว่าชีวมวลส่วนใหญ่มีปริมาณน้ำที่ค่อนข้างสูง ดังนั้นในการที่จะนำชีวมวลไปเผาไหม้ควรให้ชีวมวลมีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 50 โดยมวลเพื่อจะได้ไม่สิ้นเปลืองพลังงานในการเผาไหม้

ส่วนที่เผาไหม้ได้ (Combustible substance) แบ่งออกเป็นสองส่วนคือ 1. ส่วนที่เป็นสารระเหย 2. ส่วนที่เป็นคาร์บอนคงตัว เป็นส่วนที่มีการเผาไหม้ง่ายถ้าชีวมวลมีปริมาณสารระเหยสูงก็จะเผาไหม้ได้ง่าย

เถ้า (Ash) ชีวมวลส่วนใหญ่จะมีเถ้าเป็นองค์ประกอบร้อยละ 1-3 โดยมวลซึ่งเป็นส่วนที่เผาไหม้ไม่ได้

2.3 ลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose)

ลิกโนเซลลูโลส เป็นสารอินทรีย์ที่ได้มาจากพืชจะพบมากที่ผนังเซลล์ของพืช ลิกโนเซลลูโลสมีโครงสร้างแบบเชิงซ้อนที่เป็นพอลิเมอร์ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และองค์ประกอบอื่นๆซึ่งถือว่ามีปริมาณน้อย เช่น เพกติน โปรตีน และไซ เป็นต้น แหล่งของลิกโนเซลลูโลสได้แก่ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ข้าวโพด มันสำปะหลัง เป็นต้น ไม้เนื้ออ่อน ไม้เนื้อแข็งรวมถึงวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปทางอาหารจากบ้านเรือนและโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ โดยทั่วไปองค์ประกอบทางเคมีของลิกโนเซลลูโลสประกอบไปด้วยเซลลูโลสร้อยละ 40-60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-30 และลิกนินร้อยละ 15-30 (Lee et al., 2008)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างภายในผนังเซลล์ของพืช

ที่มา : <https://www.nature.com/scitable/content/structure-of-lignocellulose-14464273>

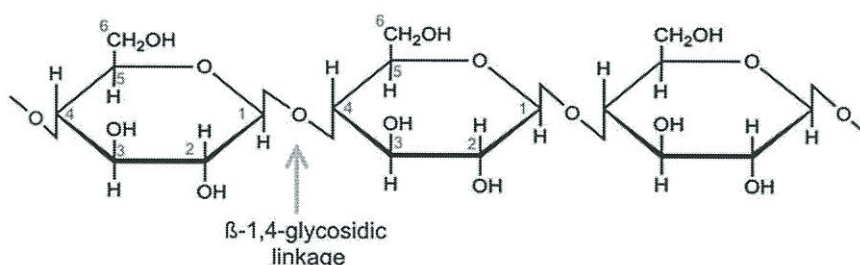
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในองค์ประกอบของวัสดุชีวมวลประเภทต่างๆ (Isikgor และ Bacer,2015)

| ชีวมวล | Cellulose(%) | Hemicellulose(%) | Lignin(%) |
|----------------------------------|--------------|------------------|-----------|
| ไม้เนื้อแข็ง | | | |
| ต้นโอค | 40.4 | 35.9 | 24.1 |
| ยูคาลิปตัส | 54.1 | 18.4 | 21.5 |
| ปอปลาร์ | 50.8-53.3 | 26.2-28.7 | 15.5-16.3 |
| ไม้เนื้ออ่อน | | | |
| ต้นสน | 42.0-50.0 | 24.0-27.0 | 20 |
| วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร | | | |
| ฟางข้าว | 29.2-34.7 | 23.0-25.9 | 17.0-19.0 |
| ข้าวโพด | 33.7-41.2 | 31.9-36.0 | 6.1-15.9 |
| อ้อย | 25.0-45.0 | 28.0-32.0 | 15.0-25.0 |
| หญ้า | 25.0-40.0 | 25.0-50.0 | 10.0-30.0 |
| บาร์เลย์ | 36.0-43.0 | 24.0-33.0 | 6.3-9.8 |
| ข้าวฟ่าง | 32.0-35.0 | 24.0-27.0 | 15.0-21.0 |

2.3.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสถือเป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุดที่สุดในวัสดุลิกโนเซลลูโลส จะพบตรงบริเวณ ส่วนของผนังเซลล์ของพืช มีหน้าที่ช่วยเสริมโครงสร้างความแข็งแรงให้แก่พืช เซลลูโลสจะอยู่ร่วมกับ เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เซลลูโลสจัดเป็นโพลิเมอร์ประกอบไปด้วยกลูโคส มีลักษณะเป็นลูกโซ่ ของดี-กลูโคส (D-glucose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1,4-ไกลโคซิดิก (β -1,4-glycosidic bond) เกิดเป็นโพลิเมอร์ที่เรียกว่า กลูแคน (glucan) มีความยาวแตกต่างกันไป และจับกับลูกโซ่ข้างเคียงด้วย พันธะไฮโดรเจนเกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่า ไฟบริล (fibril) และแต่ละไฟบริลจะเรียงต่อกันด้วยพันธะ ไฮโดรเจนทำให้เกิดการติดกันขึ้นมา เซลลูโลสมีความยาวตามธรรมชาติประมาณ 10,000 ถึง 15,000 หน่วย (Agbor et al., 2011) โดยทั่วไปในธรรมชาติจะพบเซลลูโลสอยู่ในลักษณะที่เป็นผลึกซึ่งจะ ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ได้ยาก (Erikkon et al., 1990)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส (Gurunathan และคณะ, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลสจะพบมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ในลิกโนเซลลูโลสจะพบ เฮมิเซลลูโลสประมาณร้อยละ 15-35 จะมีปริมาณแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Limayen และ Ricke, 2012) และมักจะอยู่รวมกันกับลิกนิน เฮมิเซลลูโลสจัดเป็นเฮเทอโรโพลิเมอร์ (Heteropolymer) ของน้ำตาลชนิดต่างๆหลายชนิดอยู่รวมกัน เช่น ไคแลน (Xylan) เมื่อย่อยแล้วจะได้ น้ำตาลไซโลส (Xylose) ถือเป็นน้ำตาลที่พบมากที่สุดถึงร้อยละ 85-93 แมนแนน (Mannan) เมื่อย่อยแล้วจะได้ น้ำตาลแมนโนส (Mannose) อะราบินแนน (Arabinan) เมื่อย่อยแล้วจะได้ น้ำตาล อะราบินโนส (Arabinose) และกลูแคน (Glucan) เมื่อย่อยแล้วจะได้ น้ำตาลกลูโคส (Glucose) เป็นต้น องค์ประกอบอื่นๆได้แก่ กรดกาแลกทูโรนิก กรดกลูคิวโรนิก และกรดแอสติคจะพบปริมาณน้อย โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสจะมีความยาวถึง 200 หน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1,4- β -D-pyranose และมีโครงสร้างที่เป็นอสัณฐาน (Amorphous) ละลายน้ำที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส (Browing, 1963; Bastawde และคณะ, 1992)

2.3.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินเป็นสารประกอบประเภทอะโรมาติกพบในผนังเซลล์พืชที่ตายแล้ว ลิกนินทำให้เซลล์แข็งแรง ไพบริลไมเคลื่อนที่ ในธรรมชาติลิกนินช่วยป้องกันเซลลูโลสไม่ให้ย่อยสลายได้ง่ายโดย เอนไซม์ของจุลินทรีย์และช่วยลดการผ่านเข้าออกของน้ำที่ผ่านผนังเซลล์ โครงสร้างโมเลกุล โดยทั่วไปของลิกนินเป็นเฮเทอโรโพลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบสามมิติไม่แตกผลึกประกอบไปด้วย สารประกอบอะโรมาติก 3 ชนิดได้แก่ พาราควมาริลแอลกอฮอล์ (tran-p-coumaryl alcohol) โคนิเฟอร์ริล (trans-coniferyl alcohol) และพาราไซแนพซิลแอลกอฮอล์ (trans-p-sinapyl alcohol) (Eriksson และคณะ, 1990) นอกจากนี้ประกอบไปด้วยโพลิเมอร์ของสารประกอบ อะโรมาติก (Aromatic compound) ที่มีโครงสร้างซับซ้อนประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจน รวมกันเป็นหน่วยย่อยที่เรียกว่า ฟีนอลิกโพลิเมอร์ (phenolic polymer) หน่วยย่อยของ โครงสร้างนี้ คือ ฟีนิลโพรเพน (phenylpropane unit) ซึ่งมีลักษณะเป็นโมโนเมอร์ (monomer) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ C-O-C ต่อกันเป็นโพลิเมอร์ขนาดใหญ่ ทำให้ลิกนินมีโครงสร้างที่แข็งแรง ไม่มีสมบัติการยืดหยุ่นและไม่ละลายน้ำทำให้เป็นส่วนที่ขัดขวางการย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อผลิต น้ำตาลและเอทานอล

2.4 วิธีการปรับสภาพทางเคมีของวัสดุลิกโนเซลลูโลส

วัตถุประสงค์ของการปรับสภาพ (pretreatment) วัสดุลิกโนเซลลูโลส เพื่อกำจัดลิกนิน และ เฮมิเซลลูโลสออกจากโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสเนื่องจากสารประกอบเหล่านี้มีผลต่อขั้นตอนการ ย่อยสลาย (Ververis และคณะ, 2007) เพิ่มความเป็นรูพรุน ลดความเป็นผลึกและเพิ่มพื้นที่ผิว

เซลลูโลส เพื่อให้เอนไซม์เข้าไปย่อยตรงบริเวณพื้นผิวในการทำปฏิกิริยาได้ง่าย เอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเพื่อป้องกันตัวที่ยับยั้งการหมักและเพื่อให้เกิดการไฮโดรไลซิสได้อย่างสมบูรณ์

2.4.1 การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)

การระเบิดด้วยไอน้ำเป็นวิธีการปรับสภาพที่ได้รับความนิยมในการปรับสภาพวัสดุ ลิกโนเซลลูโลสโดยจะทำให้ลิกโนเซลลูโลสอิมตัวด้วยไอน้ำภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูง อุณหภูมิส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 160-260 องศาเซลเซียสและความดันจะอยู่ในช่วง 0.69-4.82 เมกกะปาสคาล ลิกโนเซลลูโลสเซลลูโลสจะถูกผสมกับไอน้ำอิมตัวที่มีความดันสูงจากนั้นทำการลดความดันลงทันทีที่น้ำจะระเหยออกจากโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการแยกเอาเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินออกจากกันที่อุณหภูมิสูงโดยเฮมิเซลลูโลสจะละลายในน้ำที่ควบแน่นจากไอน้ำ ปัจจัยที่มีผลต่อการปรับสภาพด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ คือ อุณหภูมิ เวลาที่ใช้ ปริมาณความชื้นที่อยู่ในลิกโนเซลลูโลส และขนาดของวัสดุตั้งต้นที่ใช้ (Duff และ Murray, 1996) จากการศึกษาพบว่าภาวะที่ทำให้เฮมิเซลลูโลสละลายได้ดีที่สุดและเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสคือที่สภาวะอุณหภูมิสูงและเวลาที่ใช้ต่ำ (270 องศาเซลเซียส, 1 นาที) และที่สภาวะอุณหภูมิต่ำ เวลาที่ใช้สูง (190 องศาเซลเซียส, 10 นาที)

2.4.2 การระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ explosion)

วิธีการระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์จะคล้ายกับวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ วิธีการระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์จะใช้กรดคาร์บอนิก (H₂CO₃) ที่เกิดจากการนำเอาแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มาละลายในน้ำมาเพิ่มในปฏิกิริยาการย่อยสลายในขั้นตอนถัดไปเรามากจะนิยมใช้เอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายอินทรีย์เข้าร่วมในปฏิกิริยาดังนี้ ซึ่งจะช่วยให้กำจัดลิกนินออกไปได้แต่วิธีการปรับสภาพวิธีนี้จะให้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้ไอน้ำหรือแอมโมเนีย วิธีนี้จะไม่ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสเหมือนวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (Ragg และ Fields, 1987)

2.4.3 การใช้ความร้อนอัดความดัน (Liquid hot compressed water method)

วิธีการใช้น้ำร้อนอัดความดันใช้น้ำที่มีความดันและอุณหภูมิสูงกว่าจุดอิมตัวเพื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ปกติอุณหภูมิที่ใช้ทั่วไปอยู่ระหว่าง 160 ถึง 240 องศาเซลเซียส และใช้ความดันมากกว่า 5 ปาสคาล เวลาที่ใช้ 20 นาที วิธีการใช้น้ำร้อนอัดความดันเป็นวิธีที่ทำให้เกิดสารยับยั้งที่ขัดขวางการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก เฟอร์ฟูรอล ทำให้เราผลิตน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ในปริมาณมากถึงร้อยละ 88-90 เนื่องจากวิธีการนี้สามารถยับยั้งสารที่ขัดขวางการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์วิธีการนี้ไม่ต้องใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และควรปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 4-7 เพราะค่าพีเอชในช่วงนี้ทำให้เฮมิเซลลูโลสอยู่ในรูปของโอลิโกเมอร์ จะช่วยลดปัญหาการรวมตัวของโพลิเมอร์ได้

2.4.4 การใช้ น้ำที่ภาวะเหนือหรือใต้วิกฤต (Super/subcritical water method)

วิธีการนี้ใช้น้ำที่อุณหภูมิวิกฤต(T_c) และความดันวิกฤต(P_c) อุณหภูมิวิกฤตของน้ำ 374.0 องศาเซลเซียสและความดันวิกฤตของน้ำ 221.0 บาร์ (Jessop และ Leitner, 1999) ที่สภาวะนี้ น้ำจะมีสมบัติสมระหว่างวิภาคของของเหลวและก๊าซ จะมีค่าคงที่ค่าหนึ่งก็คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (Dielectric constant) ถ้าค่านี้มีค่าลดลงทำให้เพิ่มสมบัติในการละลายสารที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) และค่าไอออนิกโปรดักต์ (Ionic product) ถ้าค่านี้เพิ่มขึ้นจะทำให้ น้ำที่ภาวะดังกล่าว กลายเป็นแหล่งจ่ายไฮโดรเจน และไฮดรอกไซด์ไอออนได้ จากการศึกษาพบว่า ถ้าค่าไอออนิกโปรดักต์และค่าคงที่ของน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 6.34×10^{-12} อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 250 องศาเซลเซียส และน้ำที่มีค่าพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียสจะทำให้เฮมิเซลลูโลสแยกออกมาจาก ลิกโนเซลลูโลสได้ การละลายของเฮมิเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นและขึ้นกับเวลา (Kim and Lee, 2006; Sasaki และคณะ, 2003) การใช้น้ำที่สภาวะเหนือหรือใต้วิกฤตในการแยก ลิกโนเซลลูโลสสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสขึ้นเสมือนว่ามีตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อผลิตน้ำตาลออกมามีค่าสูงและมีปฏิกิริยาข้างเคียงที่เกิดขึ้น ได้แก่ ปฏิกิริยาการแตกโมเลกุล (Fragmentation) และปฏิกิริยาการดึงน้ำออกจากน้ำตาล (Dehydration) เกิดขึ้นทำให้น้ำตาลที่ได้อาจหากไม่มีการควบคุมภาวะการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

2.4.5 การปรับสภาพโดยใช้กรด (Acid pretreatment)

การปรับสภาพโดยใช้กรดมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดลิกนินออกจากโครงสร้าง ลิกโนเซลลูโลสทำให้มีพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาซึ่งจะทำให้ได้น้ำตาลในปริมาณสูง กรดที่เรานำมาใช้ในการปรับสภาพได้แก่ กรดฟอสฟอริก กรดไนตริก กรดซัลฟูริก และกรดไฮโดรคลอริก เป็นต้นใน กระบวนการแปลงสภาพสามารถใช้ได้ทั้งกรดเจือจาง และเข้มข้นเพื่อเพิ่มการทำงานของกระบวนการไฮโดรไลซิส (Palmqvist และ Hahn-Hagerdal., 2012) โดยทั่วไปพบว่าเมื่อทำการปรับสภาพที่ อุณหภูมิสูง และเวลาที่สั้นกว่าจะทำให้พบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในปริมาณสูง เอนไซม์จะทำงานได้ดีกว่า และที่อุณหภูมิสูงการใช้กรดเจือจางพบว่ามีผลต่อการเพิ่มการย่อยเซลลูโลส

2.4.6 การปรับสภาพโดยใช้ด่าง (Alkali pretreatment)

การปรับสภาพโดยใช้ด่าง กลไกการทำงานของด่างจะไปเพิ่มการพองตัวของโมเลกุล และพันธะภายในของไซลันในเฮมิเซลลูโลสทำให้วัสดุมีความพรุนเพิ่มขึ้น การใช้ด่างเจือจางในการปรับสภาพวัสดุ ลิกโนเซลลูโลสทำให้มีการบวมภายในเกิดขึ้นเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัส ลดความเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ ลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส สำหรับไม้เนื้ออ่อนการใช้ด่างในการปรับสภาพจะไม่ค่อยมีผลต่อการปรับสภาพ ต่างที่นิยมใช้ในการปรับสภาพ ได้แก่ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถกำจัดลิกนินได้ดีเนื่องจากเป็นเบส

แก๊สในบางครั้งโซเดียมไฮดรอกไซด์ไม่ได้กำจัดลิกนินออกไปอย่างเดียวอาจทำลายเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสไปดังนั้นการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมกับพีชชนิดนั้น (Wang และคณะ, 2010)

2.4.7 การย่อยเปียก (Wet oxidation)

วิธีการย่อยเปียกใช้ตัวกลาง คือ ออกซิเจน และอากาศ เป็นตัวกลางในการทำปฏิกิริยา ในทางปฏิบัติจะนิยมใช้ถังหมักชีวภาพภายใต้ภาวะอุณหภูมิต่ำภายใต้แรงดันเวลาที่ใช้ประมาณ 10-15 นาที อุณหภูมิ 170-200 องศาเซลเซียส ความดันที่ใช้อู่ระหว่าง 10-12 บาร์ (Mishima และคณะ, 2006) ได้ศึกษา และวิจัยพบว่าประสิทธิภาพในการแยกเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ทำให้ได้เซลลูโลสปริมาณเพิ่มขึ้น จะนิยมใช้ในการผลิตเอทานอลในกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลพร้อมกับการหมัก

2.5 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเพนโทสและเฮกโซสโดยผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสเป็นปฏิกิริยาที่ใช้น้ำเข้าไปสลายพันธะทำให้สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่กลายเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กปฏิกิริยานี้จะทำภายใต้สภาวะความดันและอุณหภูมิสูง ในการไฮโดรไลซิส ลิกโนเซลลูโลสเป็นการทำลายโครงสร้างและทำให้สายพอลิเมอร์ของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสสั้นลง หลังจากไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสจะได้น้ำตาลอิสระหลายชนิดออกมาซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม และ 6 อะตอม เช่น น้ำตาลไซโลส น้ำตาลแมนโนส และน้ำตาลอะราบินอส เป็นต้น น้ำตาลเหล่านี้นำมาใช้ในการหมักด้วยยีสต์เพื่อผลิตเป็นเอทานอลนอกจากนี้การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสจะได้น้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและ น้ำตาลหลายโมเลกุล ได้แก่ เซลโลไบโอส เซลโลไตรโอส และเซลโลเตตระโอส การไฮโดรไลซิสโดยทั่วไปจะมีการไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดและการไฮโดรไลซิสโดยใช้เบส (Hamelinck CN และคณะ, 2005)

2.6 น้ำตาลรีดิวซ์

น้ำตาลรีดิวซ์เป็นน้ำตาลที่สามารถเป็นตัวรีดิวซ์ได้ (Reducing agent) เป็นน้ำตาลที่มีหมู่แอลดีไฮด์ และคีโตนอิสระ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทุกชนิด เช่น ไซโลส กลูโคส และอะราบินอสจัดเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดรวมถึงน้ำตาลโมเลกุลคู่ โอลิโกแซ็กคาไรด์ และน้ำตาลหลายโมเลกุลด้วย น้ำตาลหลายโมเลกุลแบ่งออกเป็นสองกลุ่มได้แก่ กลุ่มแอลโดส ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันเป็น แอลดีไฮด์ และกลุ่มคีโตส ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันเป็นคีโตน นั่นคือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ลิกโนเซลลูโลสจะเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดและเราสามารถรายงานปริมาณน้ำตาลจากลิกโนเซลลูโลส

ที่มีอยู่ในไฮโดรไลเซทในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดได้ (Total reducing sugar, TRS) (Prattc และ Charlotte, 2013; Klein, David., 2012)

2.7 การหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยยีสต์เพื่อผลิตเอทานอล

2.7.1 ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมากจัดเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทยูคาริโอตซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสและสร้างอาหารเองไม่ได้ ยีสต์จัดอยู่ในอาณาจักรฟังไจ (fungi) เช่นเดียวกับเห็ดรา อยู่ในไฟลัมแอสโคไมโคตา ยีสต์ส่วนใหญ่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีการแตกหน่อ (budding) หรือสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์ มักจะพบยีสต์ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน ในน้ำ ในส่วนต่างๆของพืช ยีสต์บางชนิดพบอยู่กับแมลง และพบในกระเพาะของสัตว์บางชนิด แต่แหล่งที่มักจะพบยีสต์เจริญอยู่บ่อยๆ คือแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูงเช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง และผลไม้ที่มีรสหวาน ยีสต์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติมักจะปนเปื้อนในอาหารจนเป็นเหตุทำให้อาหารเน่าเสียได้ (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์, 2558)

ยีสต์ไม่ได้พบทั่วไปแบบไม่มีข้อจำกัดในชีวภาค (biosphere) ในธรรมชาติยีสต์แต่ละชนิดมีแหล่งที่อยู่ (habitat) ที่จำเพาะ (Phaff และ Starmer, 1987) การปรากฏของยีสต์แต่ละชนิดในแหล่งที่อยู่จะขึ้นอยู่กับลักษณะทางสรีระวิทยาของยีสต์ชนิดนั้น เช่น ความสามารถในการเจริญในสภาวะแวดล้อมนั้นๆ และความสามารถในการใช้สารประกอบบางชนิด เป็นต้น เช่นการพบ *Candida sonorensis* ในเนื้อเยื่อของต้นกระบองเพชรเนื่องจากยีสต์ชนิดนี้ใช้สาร propane-2-ol ซึ่งมีมากในเนื้อเยื่อต้นกระบองเพชร และการพบยีสต์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (psychrophilic yeast) คือ *Mrakia frigida* ในดินที่แอนตาร์กติก ดังนั้นสารประกอบอินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนและธาตุอาหารต่างๆและสภาวะแวดล้อมของแหล่งที่อยู่เหล่านั้นจะร่วมกันกำหนดชนิดของยีสต์ที่พบ (Fell และ Kurtzman, 1996) ในปัจจุบันมนุษย์นำยีสต์มาใช้ในกระบวนการหมักโดยเซลล์ยีสต์จะเจริญเติบโตและแพร่ขยายภายใต้สภาวะต่างๆ เช่น อาหาร อุณหภูมิ และปัจจัยแวดล้อมในกระบวนการหมักที่เหมาะสมด้วยการเปลี่ยนแปลงน้ำตาล เช่น ไซโลส (xylose) กลูโคส (glucose) อะราบิโนส (arabinose) มอลโทส (maltose) และซูโครส (sucrose) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งคาร์บอน

2.7.2 ลักษณะทั่วไปของเซลล์ยีสต์

เซลล์ยีสต์ประกอบไปด้วยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่รวมกันเป็นโครงสร้างของเซลล์ เช่น โปรตีน (protein) พอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ไขมัน (lipid) กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) แร่ธาตุต่างๆ และน้ำ ปริมาณของโมเลกุลแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์และภาวะในการเจริญเติบโต เซลล์ยีสต์แต่ละชนิดจะมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ขนาดรูปร่าง

และสี ขนาดของเซลล์ยีสต์มีความยาวตั้งแต่ 2-50 ไมโครเมตรความกว้างตั้งแต่ 1-10 ไมโครเมตร รูปร่างของเซลล์ยีสต์ที่มักจะมีพบโดยทั่วไปมีหลายแบบเช่น รุกกลม (spherical) รูปรี รูปยาว รูปทรงกระบอกปลายโค้งมน (cylindrical) รูปมะนาว รูปหยดน้ำ (ogival) รูปฟลasks (flask-shape) รูปสามเหลี่ยม (triangular) และรูปโค้ง (curve) เป็นต้น (Martile และคณะ, 1969; Walker, 1998)

2.7.3 ลักษณะการเจริญเติบโตของยีสต์ (Growth Curve)

เมื่อเราเลี้ยงยีสต์ในอาหารเหลวโดยเราให้อาหารเหลวเพียงครั้งและนำไปป่มในภาชนะที่เหมาะสมแล้วจะพบว่ายีสต์จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปซึ่งแสดงให้เห็นยีสต์มีการเติบโตตามช่วงระยะเวลาต่างๆ เมื่อนำจำนวนเซลล์ยีสต์ที่เจริญเติบโตที่ระยะเวลาต่างๆมาพลอตกราฟเทียบกับเวลาโดยที่จำนวนของเซลล์ยีสต์อาจใช้เป็นค่าลอการิทึมหรือค่าจำนวนจริงของเซลล์ยีสต์จะพบการเจริญเติบโตของยีสต์ ณ เวลาต่างๆ มีลักษณะแตกต่างกันโดยจะมีการเจริญเติบโตแบ่งออกเป็น 4 ระยะ



รูปที่ 2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการเจริญของยีสต์ระหว่างลอการิทึมของจำนวนเซลล์กับเวลา (Tamara และ Claudia, 2016)

1. ระยะปรับตัว (lag phase)

ระยะนี้เป็นระยะที่ใส่ยีสต์ลงไปในการเลี้ยงเชื้อแล้วให้ยีสต์เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยีสต์จะยังไม่มีการแบ่งเซลล์หรือมีการเพิ่มจำนวนเซลล์น้อยมาก อัตราการเจริญจำเพาะเป็นศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากเป็นระยะที่เซลล์ยีสต์ปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ เซลล์ยีสต์จะมีกิจกรรมหลายอย่าง เพื่อเตรียมความพร้อมสำหรับการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ เช่น มีการสังเคราะห์ โพรโทพลาซึมใหม่ สังเคราะห์ DNA รวมทั้งเอนไซม์เพื่อการเจริญในระยะต่อไป นอกจากนี้ยีสต์จะมี กิจกรรมทางสรีรวิทยาสูง ขนาดของเซลล์จะเพิ่มขึ้นส่วนใหญ่มักจะเป็นการเพิ่มความยาว ในตอน ปลายของระยะปรับตัวยีสต์จะมีการแบ่งตัว ความยาวของระยะนี้จะยาวนานเพียงใดขึ้นอยู่กับ สภาพแวดล้อมและชนิดของยีสต์ เช่น ในกรณีที่เรานำยีสต์ที่เลี้ยงอาหารชนิดหนึ่งไปเพาะเลี้ยงใน อาหารชนิดเดิมระยะปรับตัวจะสั้นหรือถ้าเราใส่เชื้อที่พร้อมจะแบ่งตัวลงในอาหารใหม่ระยะปรับตัวจะ สั้นเข้าแต่ถ้าเชื้อมีความผิดปกติหรือถูกเก็บไว้นานก็จะต้องใช้เวลานานในการปรับตัวให้เข้ากับ สภาพแวดล้อมใหม่จึงทำให้ระยะนี้ยาวนาน

2. ระยะการแบ่งตัวทวีคูณ (Exponential phase หรือ Logarithmic phase)

เป็นระยะที่ต่อจากรยะปรับตัวในระยะนี้ยีสต์จะมีการแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่าง รวดเร็วโดยใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนสั้นที่สุดจะเป็นช่วงเวลาแบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 จะสั้นและคงที่ ทำให้กราฟการเจริญมีความชันเป็นลักษณะเส้นตรง ระยะนี้การแบ่งเซลล์แต่ละครั้งจะใช้เวลาเท่าๆกัน และเป็นระยะที่มีการเจริญมากที่สุดเซลล์จะไวที่สุด (sensitivity) หรือถูกทำลายได้ง่ายด้วยสาร ยับยั้งการเจริญเช่น ยาปฏิชีวนะต่างๆ รังสีหรือความร้อน เป็นต้นสารอาหารจะถูกนำไปใช้อย่าง รวดเร็ว ถ้ายีสต์เจริญในสภาวะที่เหมาะสมและสารอาหารมีความอุดมสมบูรณ์ในระยะนี้ยีสต์จะเพิ่ม จำนวนในลักษณะ exponential หรือ logarithmic

ในระยะนี้จะพบว่าเมื่อจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอัตราการเกิดการเกิดปฏิกิริยาเมตาบอลิซึมก็จะ เพิ่มขึ้นด้วยตามความสัมพันธ์ของสมการ

$$\frac{dy}{dx} \propto y$$

เมื่อ y คือ ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)
 X คือ เวลา(ชั่วโมง)

จากสมการการแปรผันข้างข้างต้นสามารถเปลี่ยนเป็นสมการโดยแทนค่าคงที่ μ ลงในสมการจะได้ สมการคือ

$$\frac{dy}{dx} = \mu y$$

เมื่อ y คือ ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)
 X คือ เวลา(ชั่วโมง)
 μ คือ อัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate) (ชั่วโมง⁻¹)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่ออินทิเกรตสมการข้างต้นจะได้

$$y_x = y_0 e^{\mu x}$$

| | | |
|-------|-------|--|
| เมื่อ | y_0 | คือ ความเข้มข้นของมวลเซลล์เริ่มต้น (กรัมต่อลิตร) |
| | y_x | คือ ความเข้มข้นของมวลเซลล์หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา x ชั่วโมง |
| | e | คือ ฐานลอการิทึมธรรมชาติ |

3. ระยะจำนวนเซลล์คงที่ (stationary phase)

เป็นระยะที่ยีสต์มีจำนวนสูงสุดและคงที่อัตราการเจริญช้าลงกิจกรรมต่างๆในเซลล์ก็ลดลงด้วยจำนวนเซลล์เกิดใหม่เท่ากับจำนวนเซลล์ที่ตายลักษณะกราฟจึงเป็นแนวราบเนื่องจากสารอาหารถูกใช้ไปหมด หรือมีสารพิษหรือของเสียที่ยีสต์ปล่อยออกมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมเมื่อปล่อยออกมามากขึ้นจะทำให้มีผลต่อสภาพแวดล้อมในอาหาร เช่น ความเป็นกรดเป็นด่างเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของยีสต์

4. ระยะเซลล์ตาย (Death phase หรือ decline)

เป็นระยะที่ยีสต์มีการตายอย่างรวดเร็วเซลล์ที่ตายแล้วจะมีมากกว่าจำนวนเซลล์ที่เกิดใหม่และเซลล์ที่เกิดใหม่จะลดลงเรื่อยๆจนไม่เหลือ สาเหตุของการตายเนื่องมาจากอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ยีสต์หมดไปทำให้ไม่สามารถใช้อาหารหรือแหล่งคาร์บอนในการเติบโตได้และเกิดการสะสมของเสียและสารพิษต่างๆที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมในระยะนี้ยีสต์จะมีอัตราการตายที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของยีสต์ เช่น พวกแกรมลบจะตายอย่างรวดเร็วในเวลา 2-3 วัน และเหลือจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่น้อยมาก

2.7.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักไซโลส อะราบีโนส และกลูโคสเพื่อผลิตเอทานอล

ยีสต์แต่ละชนิดเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น ที่ชุ่มชื้น เขตอบอุ่น สภาวะเป็นกรด สภาวะที่มีปริมาณน้ำตาลสูงหรือที่มีออกซิเจน โดยทั่วไปแล้วสภาพแวดล้อมทางกายภาพและทางเคมีจะมีผลต่อการเจริญของยีสต์ เนื่องจากเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเซลล์โดยตรง สภาพแวดล้อมเหล่านี้ เช่น อุณหภูมิ น้ำ ความเป็นกรดเบส แหล่งคาร์บอน ปริมาณออกซิเจนและธาตุอาหารต่างๆ เป็นต้น

1. อุณหภูมิ

ปกติยีสต์จะเจริญได้เร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึงภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์การเลี้ยงยีสต์ส่วนใหญ่มักจะบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ และเมื่อลดอุณหภูมิการบ่มยีสต์ลงไปถึง 20 องศาเซลเซียสพบว่าการเจริญของยีสต์จะลดลงมากและยีสต์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส (Halasz และ Lasztity, 1991)

2. ค่าความเป็นกรด-เบส

ค่าความเป็นกรดเบสมีผลต่อกิจกรรมทางชีววิทยาของเซลล์ยีสต์ได้น้อยกว่าอุณหภูมิเนื่องจากเซลล์ยีสต์สามารถควบคุมความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนภายในเซลล์ได้เป็นอย่างดีเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสภายนอกเซลล์ ยีสต์ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่สภาพความเป็นกรดเบสเล็กน้อยโดยค่า pH ประมาณ 4.5-6.5 อาหารเพาะเลี้ยงยีสต์ที่ปรับสภาพความเป็นกรด-เบสให้ต่ำลงด้วยกรดอินทรีย์เช่น กรดแอสติค และกรดแลคติก จะมีผลยับยั้งการเจริญของยีสต์ (Halasz และ Lasztity, 1991)

3. ปริมาณออกซิเจน

ออกซิเจนเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์เนื่องจากยีสต์ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศถึงแม้ว่ายีสต์จะเกิดกระบวนการหมักได้ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนก็ตามเนื่องจากสภาพที่ไม่มีออกซิเจนยีสต์ต้องการอากาศและสามารถเจริญได้เพียงไม่กี่รุ่นและอัตราการเกิดวิถีไกลโคไลซิสจะไม่เปลี่ยนแปลงทั้งในกรณีที่มีออกซิเจนหรือขาดออกซิเจน ยีสต์ต้องการออกซิเจนเนื่องจากออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจและทำหน้าที่เป็น growth factor ของยีสต์ (Halasz และ Lasztity, 1991)

4. น้ำ

ยีสต์ต้องการน้ำในกระบวนการเมแทบอลิซึมเช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิต สารอาหารและเอนไซม์ภายในเซลล์จะอยู่ในรูปของสารละลายหรือคอลลอยด์ (colloid) ที่มีน้ำล้อมรอบ และนอกจากนี้กิจกรรมต่างๆที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์จะเกิดขึ้นไม่ได้เมื่อขาดน้ำ (walker, GM, 2009)

5. คาร์บอนไดออกไซด์

ในกระบวนการสลายสารอาหารระดับเซลล์ของยีสต์ ยีสต์ต้องการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่ำ มีผู้ศึกษาว่าในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เพียง 2.5 เปอร์เซ็นต์ของอากาศทั้งหมดสามารถเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อากาศ 100 เปอร์เซ็นต์และพบว่าที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญของยีสต์ (Halasz และ Lasztity, 1991)

6. แหล่งของสารอาหารสำหรับยีสต์

ในการเจริญของยีสต์ ยีสต์ต้องการสารอาหารซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอน รวมถึงธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ออกซิเจน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส และธาตุอาหารบางชนิดที่ต้องการในปริมาณมากเช่น แมกนีเซียม และโพแทสเซียม ธาตุอาหารที่ยีสต์ต้องการในปริมาณน้อยเช่น แคลเซียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี นิเกิล โคบอลต์เป็นต้น และนอกจากนี้ มีสารประกอบบางชนิดที่ทำหน้าที่เป็น growth factor เช่น วิตามิน พิวรีน ไพริมิดินและนิวคลีโอไทด์ (Isaac and jenning, 1995; Walker, 1998)

7. แหล่งคาร์บอน

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทเคโมออร์แกโนโทรปที่ได้รับพลังงานและแหล่งคาร์บอนจากปฏิกิริยาของสารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำตาล โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคสยีสต์ส่วนใหญ่จะใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อการเจริญได้ดีมักจะใช้แหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงยีสต์ แต่ในแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติของยีสต์จะไม่พบน้ำตาลกลูโคสอิสระ ส่วนใหญ่จะพบในรูปของพอลิเมอร์ของกลูโคส (glucose polymer) เช่น เซลลูโลส แป้ง พอลิแซ็กคาไรด์อื่นๆ และวัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการหมัก เช่น โซโครส ซูโครส มอลโทส อะราบินอส แล็กโทส ซึ่งการใช้กลูโคสอาจมีผลยับยั้งการใช้น้ำตาลชนิดอื่นๆ ของยีสต์ได้ด้วย

2.7.5 การผลิตเอทานอลจากชีวมวล

เอทานอลถือเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพที่นำมาใช้ทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลและเป็นเชื้อเพลิงที่สามารถลดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมได้

เอทานอล (Ethanol) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลกอฮอล์ มีสูตรโมเลกุลคือ EtOH หรือ CH₃CH₂OH หรือ C₂H₅OH เอทานอลเป็นสารอินทรีย์ซึ่งประกอบไปด้วย ไฮโดรเจน คาร์บอน และออกซิเจน สามารถละลายทั้งในน้ำและสารละลายอินทรีย์อื่นๆ เป็นแอลกอฮอล์ที่สามารถนำมาบริโภค นอกจากนี้สามารถนำมาใช้

เป็นเชื้อเพลิงในรูปเอทานอลไร้น้ำ (Anhydrous ethanol) ที่มีความบริสุทธิ์สูง (เข้มข้นร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร) หรืออาจเป็นเอทานอลที่มีน้ำ (hydrous ethanol) ซึ่งเราสามารถไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่างเช่น

1. แอลกอฮอล์ที่ใช้รับประทานได้โดยตรง ส่วนใหญ่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยา สุรา เป็นต้น

2. แอลกอฮอล์ที่ไม่ใช้รับประทานโดยตรง เช่น กรดน้ำส้ม กรดแอซิติค สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการแพทย์ อุตสาหกรรมเส้นใย อุตสาหกรรมโลหะได้

3. เอทานอลปัจจุบันส่วนใหญ่เอาไปใช้เป็นพลังงานทดแทนหรือเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ เช่น

- ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงเพื่อทดแทนน้ำมันเบนซินและดีเซล

- ใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ (gasohol) หรือผสมกับน้ำมันดีเซล เรียกว่า ดีโซฮอล์ (diesohol) เช่น เช่น แก๊สโซฮอล์ 91 คือ การนำเอาเอทานอลบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 99.5 มาผสมกับน้ำมันเบนซิน 91 ในอัตราส่วนร้อยละ 10 ต่อ 90 โดยปริมาตร ทำให้ราคาน้ำมันถูกลงและเป็นเชื้อเพลิงที่ไร้สารพิษเนื่องจากมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบจึงทำให้การเผาไหม้ในห้องเครื่องยนต์สมบูรณ์ขึ้น

- ใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันโดยการเปลี่ยนรูปเอทานอล เป็น ETBE (Ethyl Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่งเป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินในหลายประเทศมีการประกาศห้ามใช้สารนี้เนื่องจากเป็นสารที่ทำให้เกิดมลภาวะทางอากาศ

เชื้อเพลิงเอทานอล หรือ Ethyl alcohol คือเอทานอลที่แปรรูปมาจากพืช แป้ง น้ำตาล รวมทั้งวัสดุลิกโนเซลลูโลสซึ่งประกอบไปด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน โดยนำมาผ่านกระบวนการหมัก (fermentation) วัตถุดิบที่นำมาผ่านกระบวนการหมักเพื่อผลิตเป็นเอทานอลส่วนใหญ่มักจะเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (Agriculture residue) เช่น อ้อย ฟางข้าว มันสำปะหลัง เป็นต้น ในกระบวนการหมักจะทำโดยการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยใช้จุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่เรามักจะใช้ยีสต์ในกระบวนการหมักมีการคัดเลือกยีสต์ที่เหมาะสมกับวัตถุดิบที่นำมาหมัก ซึ่งจะช่วยให้ประสิทธิภาพในการหมัก

2.8 กลไกและเมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว

2.8.1 เมแทบอลิซึมของยีสต์

กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์จะเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายและการสังเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่ควบคุมปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ภายในเซลล์ เมแทบอลิซึมประกอบไปด้วยสองกระบวนการหลักๆคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. กระบวนการแอนาบอลิซึม (anabolism pathway) เป็นกระบวนการที่อาศัยพลังงานและกระบวนการย่อยสลายสาร

2. กระบวนการแคตาบอลิซึม (catabolism pathway) เป็นกระบวนการที่มีการปล่อยพลังงานออกมา

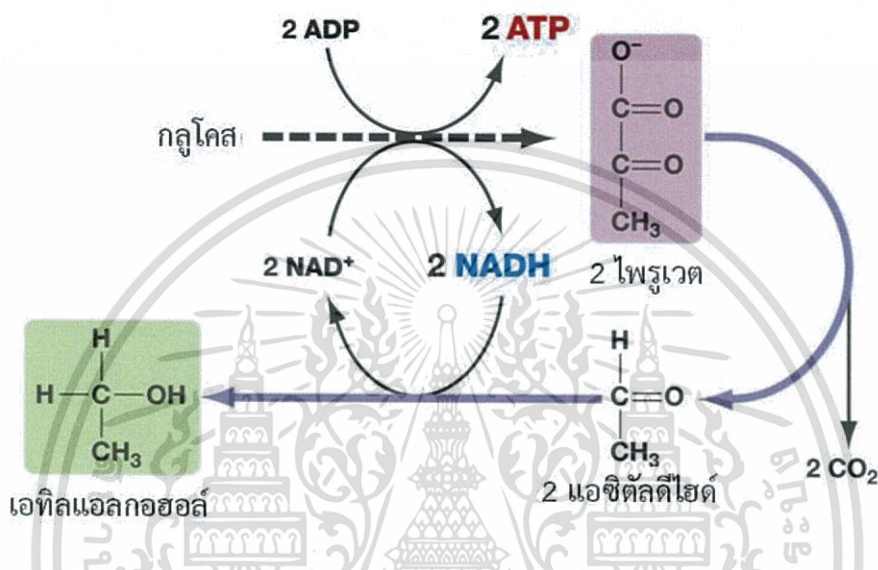
สำหรับปฏิกิริยาในกระบวนการแอนาบอลิซึมเป็นปฏิกิริยาการรับอิเล็กตรอนในขณะที่ปฏิกิริยาในกระบวนการแคตาบอลิซึมเป็นปฏิกิริยาที่มีการให้อิเล็กตรอน ปฏิกิริยาทั้งสองจะต้องอาศัยการทำงานของกลุ่มเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) โดยมีเอ็นเอดีพี (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP) และดีเอ็นเอ (Nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) เป็นโคแฟกเตอร์ ยีสต์จะดำรงชีวิตแบบคีโมออแกโนโทรปซึ่งได้พลังงานจากสารเคมีในรูปของเอทีพีที่เกิดจากปฏิกิริยาการแตกตัวของสารอินทรีย์ เมแทบอลิซึมที่สำคัญในยีสต์ได้แก่ กระบวนการเมแทบอลิซึมของแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน เมแทบอลิซึมของแหล่งไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ (Graeme M.walker, 1998)

2.8.2 แคตาบอลิซึมของน้ำตาล

ยีสต์ส่วนใหญ่จะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เมื่อยีสต์นำโมเลกุลของน้ำตาลเข้าสู่เซลล์จะเกิดกระบวนการย่อยน้ำตาลจากกระบวนการหายใจ (respiration) และกระบวนการหมัก (fermentation) โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลและปริมาณออกซิเจนในสิ่งแวดล้อมมีผลต่อกระบวนการทั้งสอง ยีสต์จะใช้การหมักและการหายใจเพื่อสร้างพลังงานเอทีพีสำหรับสังเคราะห์สารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตหรือใช้ในการสร้างองค์ประกอบของเซลล์ น้ำตาลที่มีความสำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์ส่วนใหญ่ คือน้ำตาลกลูโคส ถือเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานพื้นฐานของยีสต์ ยีสต์ส่วนใหญ่ใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้นหรือสารตัวกลางเพื่อสร้างพลังงานผ่านปฏิกิริยาในวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis pathway) และพลังงานจะถูกใช้ในวิถีการสังเคราะห์ชีวภาพ (biosynthesis pathway)

ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากกลูโคสยีสต์จะใช้กลูโคสผ่านกระบวนการหมักโดยไม่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนแต่จะใช้สารอินทรีย์อื่นเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการหมักนี้จะเป็นการสลายโมเลกุลของสารแบบไม่ใช้ออกซิเจน ในภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจนจะทำให้ NADH และ FADH₂ ไม่สามารถถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้กับตัวรับอิเล็กตรอนต่างๆที่ฝังตัวอยู่ที่เยื่อหุ้มชั้นในของไมโทคอนเดรียได้ เนื่องจากขาดออกซิเจนซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในขั้นตอนสุดท้ายจึงไม่สามารถสร้าง ATP ได้และมีการสะสม NADH และ FADH₂ มากขึ้นทำให้ขาดแคลน NAD⁺ และ FAD มีผลให้ปฏิกิริยาในไกลโคไลซิสวัฏจักรเครปส์ และการถ่ายทอดอิเล็กตรอนดำเนินต่อไปไม่ได้ และยังทำให้เซลล์ขาด ATP เซลล์จึงมีกระบวนการผันกลับให้ NADH กลายเป็น NAD⁺ เพื่อให้กระบวนการไกลโคไลซิสไม่หยุดชะงักและสามารถสร้าง ATP ต่อไปได้

ในภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจนจะเกิดกระบวนการไกลโคไลซิสในเซลล์ของยีสต์และถ้ามีกลูโคสเป็นสารตั้งต้นจะทำให้ได้กรดไพรูวิก 2 โมเลกุลได้ ATP 2 โมเลกุลและมี NADH 2 โมเลกุลจากนั้นกรดไพรูวิกจะปล่อยคาร์บอนออกมาในรูปของ CO₂ และเปลี่ยนเป็นแอซิติลดีไฮด์แล้วแอซิติลดีไฮด์จะมาเป็นตัวรับอิเล็กตรอนจาก NADH กลายเป็นเอทิลแอลกอฮอล์และมีการผันกลับของ NADH เป็น NAD⁺ ซึ่งสามารถกลับไปรับอิเล็กตรอนในกระบวนการไกลโคไลซิสได้ใหม่ (Graeme M.walker, 1998)



รูปที่ 2.4 การสลายกลูโคสในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนของยีสต์

(ที่มา : <http://biorespiration502.blogspot.com/2011/08/oxygen.html>)

ผลจากการหมักเอทิลแอลกอฮอล์จากกลูโคส



จากสมการที่ 2.1 จะเห็นได้ว่ากลูโคส 1 โมลสามารถเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้ 2 โมล

2.8.3 การขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ของยีสต์ (Graeme M.walker, 1998)

ยีสต์มีโครงสร้างของเซลล์ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันโมเลกุลของสารไม่ให้เข้าสู่เซลล์อย่างอิสระได้แก่ ผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ ชั้นแคปซูลและบริเวณเพอริพลาซิม โดยเยื่อหุ้มเซลล์ของยีสต์ทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่านซึ่งทำหน้าที่กำหนดชนิดของสารเข้าสู่เซลล์และควบคุมสารเมแทบอไลต์ (Metabolite) ออกจากเซลล์กลไกการขนส่งสารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์จะมีความสำคัญต่ออัตราเร็วในการย่อยสลายและการสร้างสารจึงมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ของยีสต์ โดยทั่วไปวิธีการที่ยีสต์จะนำสารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ได้แก่ การแพร่แบบฟาซิลิเทต (facilitated diffusion) และ การขนส่งแบบใช้พลังงาน (active transport)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การแพร่แบบฟาซิลิเทต (facilitated diffusion)

เป็นวิธีการขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ของยีสต์โดยอาศัยหลักของความเข้มข้นที่แตกต่างกันระหว่างภายในเซลล์และภายนอกเซลล์โดยจะอาศัยเอนไซม์เพอร์มิเอสในการขนส่ง นอกจากนี้ยังใช้ตัวพา (carrier) หรือตัวช่วยให้สารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ง่ายขึ้น การขนส่งวิธีนี้จะดำเนินไปเรื่อยๆ จนกระทั่งความเข้มข้นของสารภายในเซลล์เท่ากับความเข้มข้นของสารภายนอกเซลล์

2. การขนส่งแบบใช้พลังงาน (active transport)

เป็นวิธีการขนส่งสารเข้าออกจากเซลล์จากบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงโดยใช้พลังงานจากการสลายสารอาหารระดับเซลล์คือ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟตหรือเอทีพี (Adenosine triphosphate, ATP) ไปเป็นอะดีโนซีนไดฟอสเฟตหรือเอดีพี (Adenosine diphosphate, ADP) เป็นแรงขับ ในการขนส่งแบบใช้พลังงานจะอาศัยออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนเพื่อเปลี่ยนอะดีโนซีนไตรฟอสเฟตไปเป็นอะดีโนซีนไดฟอสเฟต

2.8.4 เมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากไซโลส

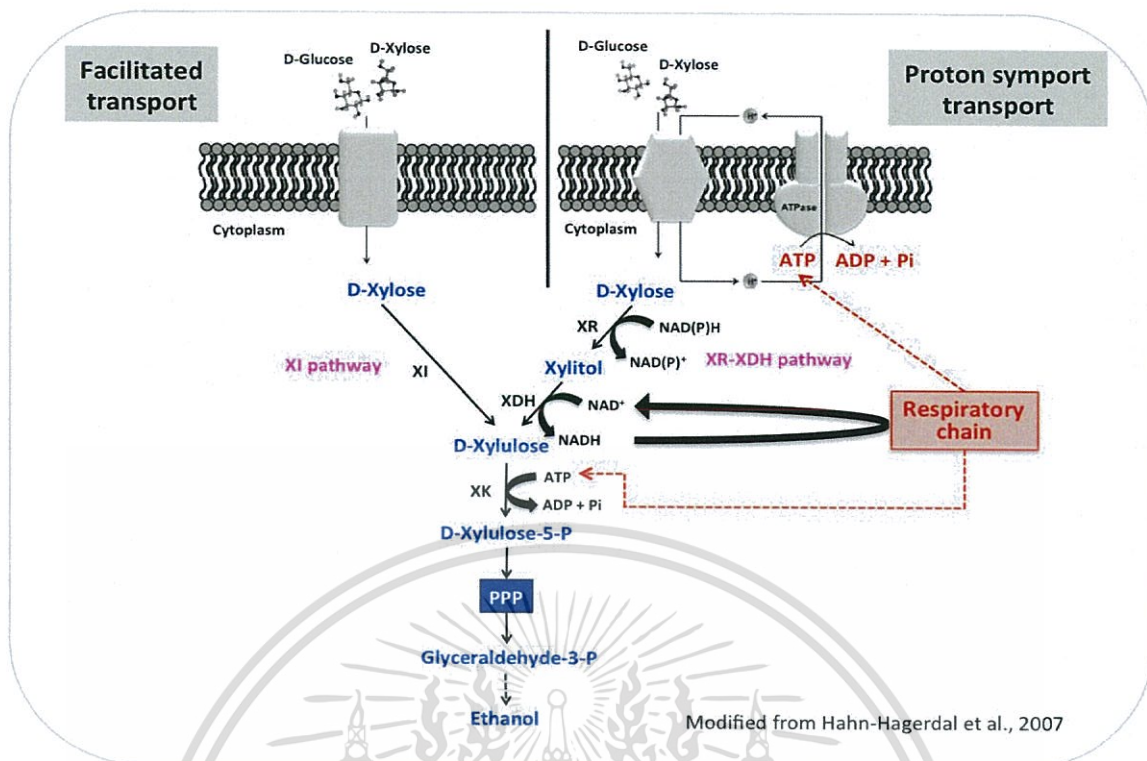
กระบวนการผลิตเอทานอลจากไซโลสจะมีกระบวนการขนส่งสารผ่านเข้าออกจากเซลล์แบบใช้พลังงาน (Active transport) ยีสต์จะใช้พลังงานจากการสลายอะดีโนซีนไตรฟอสเฟตหรือเอทีพีไปเป็นเป็นอะดีโนซีนไดฟอสเฟตหรือเอดีพีและจะมีออกซิเจนทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนในการให้ไซโลสเข้าสู่เซลล์หลังจากไซโลสเข้าสู่เซลล์ไซโลสจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นไซลิตอล (xylitol) โดยใช้เอนไซม์ไซโลสรีดักเตส (xylose reductase, XR) ในขั้นตอนนี้จะใช้โคโรตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) เป็นโคแฟกเตอร์ จากนั้นไซลิตอลจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไซลูโลส (xylulose) โดยใช้เอนไซม์ไซลิตอลดีไฮโดรจีเนส (Xylitol dehydrogenase, XDH) ในขั้นตอนนี้จะใช้โคโรตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (Nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) เป็นโคแฟกเตอร์ ไซลูโลสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลส 5 ฟอสเฟต (Xylulose-5-phosphate, X5P) โดยใช้เอนไซม์ไซลูโลไคเนส (Xululokinase, XK) ในขั้นตอนนี้อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate, ATP) จะถูกสลายไปเป็นอะดีโนซีนไดฟอสเฟต (Adenosine diphosphate, ADP) โดยใช้เอนไซม์เอทีพีเอส (ATPase) และมีการเติมหมู่ฟอสเฟตลงไป จากนั้นไซลูโลส 5 ฟอสเฟตจะเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต (Pentose phosphate pathway, PPP) แล้วจะถูกสร้างไปเป็นเอทานอลต่อไป (Chiang และ Knight, 1960)

สมการในการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นเอทานอลแสดงดังนี้



จากสมการที่ 2.2 จะพบว่าไซโลส 3 โมลสามารถเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล 5 โมลได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากไซโลส (N Lertwattanasakul และคณะ, 2013)

2.8.5 เมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากอะราบิโนส

กระบวนการผลิตเอทานอลจากอะราบิโนสจะคล้ายกับไซโลสโดยอะราบิโนสจะมีกระบวนการขนส่งสารผ่านเข้าออกจากเซลล์แบบใช้พลังงาน (Active transport) ซึ่งยีสต์จะใช้พลังงานจากการสลายอะดีโนซีนไตรฟอสเฟตหรือเอทีพีไปเป็นเป็นอะดีโนซีนไดฟอสเฟตหรือเอดีพี และจะมีออกซิเจนทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนในการให้อะราบิโนสเข้าสู่เซลล์ จากนั้นอะราบิโนส จะถูกรีดิวซ์ไปเป็นอะราบิทอลโดยใช้เอนไซม์แอลโดสรีดักเตส (Aldose reductase) โดยในขั้นตอนนี้จะใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) เป็นโคแฟกเตอร์ หลังจากนั้นอะราบิทอลจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไซลูโลสโดยใช้เอนไซม์อะราบิโนล 4 ดีไฮโดรจีเนส (L-arabinol 4-dehydrogenase) และใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (Nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) เป็นโคแฟกเตอร์ หลังจากนั้นไซลูโลสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลิตอลโดยใช้เอนไซม์ไซลูโลสรีดักเตส (L-xylulose reductase) และใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) เป็นโคแฟกเตอร์ จากนั้นไซลิตอลจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลสโดยใช้เอนไซม์ไซลิตอลดีไฮโดรจีเนส (xylitol dehydrogenase) และใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (Nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) เป็นโคแฟกเตอร์ หลังจากนั้นไซลูโลสจะถูก

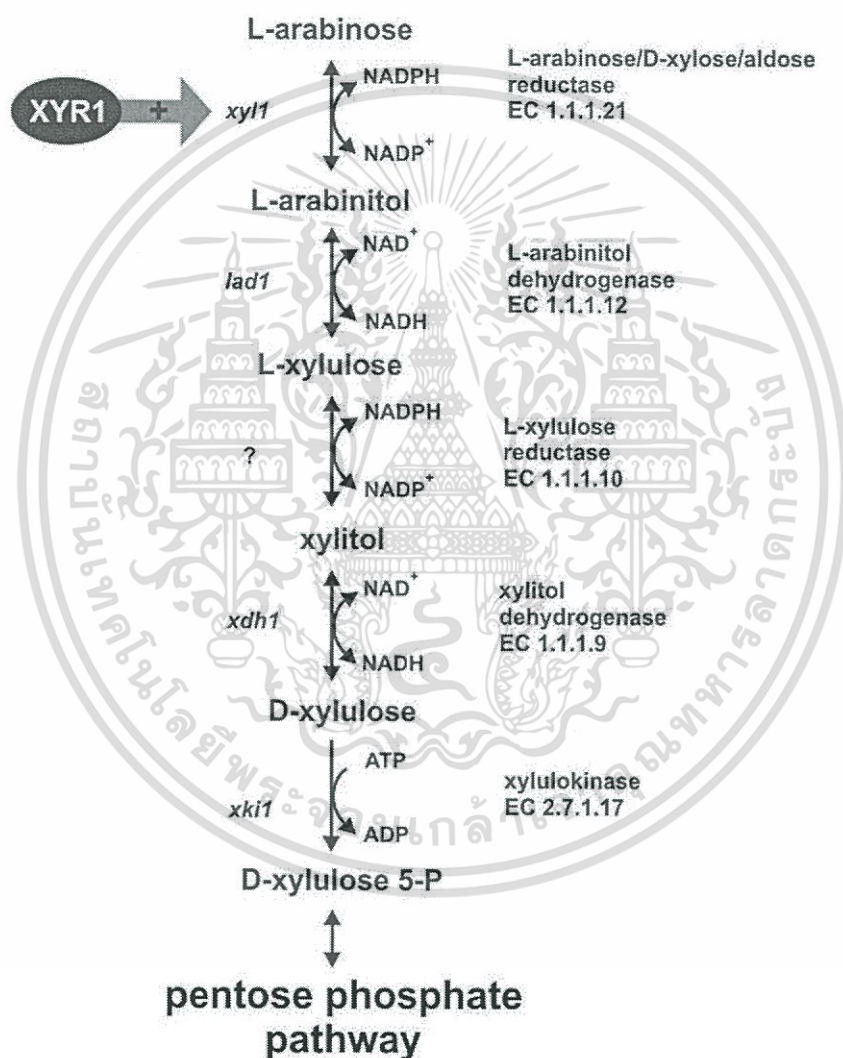
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนเป็นไซลูโลส 5 ฟอสเฟตโดยใช้เอนไซม์ไซลูโลโคเนส (xylulokinase) และใช้พลังงานเอทีพีที่เข้าร่วมในขั้นตอนนี้หลังจากนั้นไซลูโลสจะเข้าสู่ไซลูโลส 5 ฟอสเฟตและเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต (Pentose phosphate pathway, PPP) แล้วจะถูกสร้างไปเป็นเอทานอลต่อไป (Banerjee และคณะ, 1994)

สมการในการเปลี่ยนอะราบิโนสไปเป็นเอทานอลแสดงดังนี้



จากสมการที่ 2.3 จะพบว่าอะราบิโนส 3 โมลสามารถเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล 5 โมลได้



รูปที่ 2.6 กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ในการผลิตเอทานอลจากอะราบิโนส (Eda Akel และคณะ Eukaryotic Cell 2009;8:1837-1844)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Frank K. Agbogbo และคณะ (2006) ศึกษาการหมักกลูโคสและไซโลสรวมกันโดยใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* ในการศึกษาได้ใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* CBS 6054 และใช้น้ำตาลกลูโคสและไซโลสรวมกัน 60 กรัมต่อลิตรซึ่งใช้เวลาในการหมัก 5 วันโดยเก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิิตรที่เวลา 0, 5, 12, 24, 36, 49, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงแล้วนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของกลูโคส ไซโลส และเอทานอลโดยใช้เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) และนำไปหาความหนาแน่นของเชื้อเพื่อวัดการเจริญของเชื้อโดยใช้ UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เริ่มต้น 0.23 กรัมต่อลิตรของเซลล์แห้งพบว่าได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดของกลูโคส 22.7 กรัมต่อลิตรและไซโลส 24.3 กรัมต่อลิตรซึ่งจะพบว่ายีสต์ *Pichia stipitis* จะใช้ไซโลสในการเติบโตมากกว่าการใช้กลูโคสโดยสังเกตได้จากปริมาณเอทานอลที่ได้

J.N. Nigam (2000) ศึกษาการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซทจากข้าวสาลีซึ่งในการหมักโดยใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* สายพันธุ์ NRRL Y-7124 ในกระบวนการปรับสภาพไฮโดรไลเซทจากข้าวสาลีใช้วิธีการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาทีและใช้วิธี overliming กับ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ควบคุมค่า pH ประมาณ 10 ± 0.1 และในการเตรียมไฮโดรไลเซทเตรียมที่ 90 องศาเซลเซียสกรดซัลฟูริก 1.85% (w/v) เป็นเวลา 18 ชั่วโมงในอัตราส่วนของกรดซัลฟูริกต่อไฮโดรไลเซทเป็น 20:1 โดยมีการสกัดเพื่อเอาตัวยับยั้งการหมักเช่นเพอร์ฟูริล น้ำตาลที่เป็นกรด และลิกนินที่ละลายอยู่ออกในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำตาลและไซลิทอลจะใช้เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) และหาความเข้มข้นของเอทานอลโดยใช้ gas chromatography ผลการศึกษาพบว่าหลังจากการปรับสภาพไฮโดรไลเซทจากข้าวสาลีพบว่าผลได้ของเอทานอลและผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็น 2.4 ± 0.1 และ 5.7 ± 0.24 folds และเมื่อเติมตัวยับยั้งลงไปเช่นกรดอะซิติก เพอร์ฟูริล และลิกนินจะพบว่าได้ผลได้ของเอทานอลจะลดลงและเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจะพบว่ามี ไซโลส 12.8 ± 0.25 , กลูโคส 1.7 ± 0.3 , อะราบิโนส 2.6 ± 0.21 และกรดแอสซิติค 2.7 ± 0.33

Mujgan Telli-Okur และ Nurden Eken-Saracoglu (2007) ศึกษาการหมักไฮโดรไลเซทจากเปลือกเมล็ดทานตะวันโดยใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* สายพันธุ์ NRRL Y-7124 เตรียมไฮโดรไลเซทโดยใช้กรดซัลฟูริก 0.7 โมลาร์ที่ 90 องศาเซลเซียสและเขย่าโดยใช้ shaking bath ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในกระบวนการหมักจะเขย่าในเครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ pH 6 ใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น 1.92 และ 1.98 กรัมต่อลิตรจากการศึกษาพบว่าจะได้ความเข้มข้นของเอทานอล 11 กรัมต่อลิตรจากไฮโดรไลเซทที่เข้มข้น 48 กรัมต่อลิตรและได้ร้อยละของเอทานอลเป็น 0.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hamidimotlaug Rouhollah และคณะ (2007) ศึกษาการหมักน้ำตาลรวมกันโดยใช้ยีสต์ *Pichia stipitis*, *Sacharomyces cerevisiae* และศึกษาการหมักไซโลสโดยใช้ *Kluyveromyces marxianus* และยีสต์สายพันธุ์อื่นๆคือ *P. stipitis* CCUG18492 ในกระบวนการหมักจะนำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เวลา 100 ชั่วโมงโดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมงควบคุมค่า pH ประมาณ 4.5 ในการศึกษาใช้น้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร น้ำตาลไซโลส 30 กรัมต่อลิตร น้ำตาลแมนโนส 12 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลกาแลคโทส 8 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* หมักจะให้เอทานอล 30.23 กรัมต่อลิตรและเมื่อใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* หมักรวมกับยีสต์ *K. marxianus* จะให้เอทานอล 31.87 กรัมต่อลิตร เนื่องจากว่ายีสต์ *K. marxianus* สามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสได้ดีกว่ายีสต์ *Pichia stipitis* จึงให้ผลได้ของเอทานอลสูงกว่า

Wen-Heng Chen และคณะ (2012) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากไฮโดรไลเซทจากฟางข้าวโดยใช้ยีสต์ *Pichia stipitis* สายพันธุ์ BCRC 21777 (CBS 6054) ในการทดลองได้เตรียมไฮโดรไลเซทจากฟางข้าวโดยสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีและใช้วิธีการ overliming ในการกำจัดสารพิษออก ในกระบวนการหมักจะใช้ไฮโดรไลเซท 50 ml มาหมักด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* โดยนำไปเข้าเครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH 6 และใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น 0.4 กรัมต่อลิตร จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อนำไฮโดรไลเซทมาเจือจางด้วยกรดจะได้ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลกลูโคสเป็น 32.5 g/L และ 66.2 g/L ตามลำดับและให้ผลิตเอทานอลออกมา 20.8 g/L ร้อยละผลได้โดยมวลเป็น 0.37-0.42 ในการทดลองโดยใช้กระบวนการ overliming จะได้ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลกลูโคสเป็น 10.3 g/L และ 66.2 g/L ตามลำดับ ผลิตเอทานอลออกมา 30.8 g/L และร้อยละผลได้โดยมวลเป็น 0.50

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

โครงการนี้ศึกษาการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ โซโลส อะราบิโนส และ กลูโคส และการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมเทียบกับการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย ด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* เพื่อผลิตเอทานอล โดยมีวิธีการดำเนินงานดังต่อไปนี้

3.1 การเตรียมไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย

3.1.1 การเตรียมขานอ้อยปราศจากสารสกัด

ขานอ้อยที่ใช้ในการทดลองเป็นอ้อยพันธุ์สิงคโปร์ที่ หลังหีบนำอ้อยออกจนหมดนำมาล้าง น้ำกรองจนไม่มีกลิ่นน้ำอ้อยเหลือ ผึ่งแดดให้แห้ง แล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนแห้งสนิท จากนั้นปั่นด้วยเครื่องบดอาหารจนขานอ้อยมีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตรและนำไปคัดแยกด้วยตะแกรงร่อน (Mesh sieving) ระหว่าง 425-850 ไมโครเมตร นำขานอ้อยที่ได้ไปสกัดสารไม่มีช้ำออกด้วยชุดสกัดแบบซ็อกเล็ต (Soxhlet extraction) โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย เมื่อครบเวลา 8 ชั่วโมงนำออกผึ่งในตู้ดูดควันและอบที่ 60 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยอะซิโตนออกจนหมด ทำการสกัดสารที่มีช้ำเป็นขั้นตอนสุดท้ายโดยปั่นขานอ้อยในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองแยก และอบขานอ้อยที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างขานอ้อยในถุงซิปล็อกเพื่อป้องกันความชื้น ก่อนใช้ในการทดลองอบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมงและชั่งน้ำหนักขานอ้อยอบแห้ง

3.1.2 การไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

จากการศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันของกลุ่มวิจัย พบว่า อุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมซึ่งพิจารณาจากผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์จาก เฮมิเซลลูโลสสูงสุด คือ 210 องศาเซลเซียส ที่ 0 นาที (หยุดปฏิกิริยาเมื่ออุณหภูมิภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะเท่ากับ 210 องศาเซลเซียส) จึงใช้สภาวะดังกล่าวเพื่อผลิตไฮโดรไลเซทและนำแหล่งคาร์บอนมาใช้ในการหมัก

3.2 การเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อ

ฆ่าเชื้ออุปกรณ์การทดลองที่ต้องสัมผัสเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งประเภทเหลวและแข็งด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น การเพาะเลี้ยงเชื้อและเตรียมเชื้อก่อนการหมักทำในตู้ปลอดเชื้อ

(Clean bench) สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นแรกนำยีสต์ *Pichia stipitis* (ATC.58376) ในรูปเชื้อแห้งที่ซื้อมาจากบริษัท ไบโอมิเดีย (ประเทศไทย) จำกัด มาละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Broth media) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดจากยีสต์ 10 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร เปปโตน 10 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 20 กรัมต่อลิตร ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยม (Spender glass rod) ที่เผาไฟและทิ้งให้เย็นเกลี้ยงเชื้อจนทั่วผิวหน้าอาหารแข็งปิดจานเพาะเลี้ยงโดยพันด้วยฟิล์มพาราฟิน จากนั้นนำไปเก็บในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสโดยคว่ำจานเพาะเลี้ยงเชื้อลงเพื่อแยกน้ำที่เกิดจากกระบวนการเติบโตของยีสต์ ยีสต์จะเกิดเป็นโคโลนี (Colony) ภายใน 1 สัปดาห์และสามารถนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับเตรียมเชื้อก่อนการหมักได้ หากต้องการกล้าเชื้อในปริมาณมากหรือยีสต์โตเต็มจานเพาะเลี้ยงเชื้อแล้ว สามารถขยายกล้าเชื้อใส่อาหารแข็งจานใหม่และเก็บรักษาในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิได้

3.3 การเตรียมเชื้อก่อนหมัก

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (Inoculating loop) ที่เผาไฟและทิ้งให้เย็นเขี่ยกล้าเชื้อที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ปริมาณ 150 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดรูปชมพู่ฝาเกลียวขนาด 500 มิลลิลิตร ปิดฝาและนำเชื้อในอาหารเหลวไปใส่เครื่องเขย่า (Shaking incubator) ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อในอาหารเหลวมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) เพื่อบันทึกปริมาณเซลล์ยีสต์แห่งผ่านกราฟมาตรฐาน (หัวข้อ 3.4) ในการหมัก ใช้ความเข้มข้นเซลล์ยีสต์แห่งในการหมักเริ่มต้น 0.01 กรัมต่อลิตรเท่ากันทุกการทดลอง เนื่องจากในอาหารเหลวที่ใช้เตรียมเชื้อก่อนหมักประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนที่เป็นกลูโคสซึ่งยีสต์สามารถใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลได้ ดังนั้นในขั้นตอนนี้หมักสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนเพื่อตรวจสอบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นหลังจากเตรียมเชื้อก่อนหมัก 1 วันและเพื่อตรวจสอบร้อยละผลได้ของเอทานอลที่เกิดขึ้นจริงในการหมัก

3.4 การสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณของเซลล์ยีสต์แห่ง

นำเชื้อที่เตรียมได้ในหัวข้อ 3.3 เจือจางด้วยอาหารเหลวเพื่อใช้เป็นของผสมมาตรฐานที่มีความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห่งที่แตกต่างกัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรจากนั้นนำของผสมดังกล่าวที่ทราบปริมาณแน่นอนไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum filter) ใช้กระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร (ยีสต์มีขนาดเซลล์ 3-4 ไมโครเมตร) จากนั้นนำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำกระดาษกรองที่ผ่านการอบมาชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งเพื่อคำนวณน้ำหนักของเซลล์ยีสต์แห่ง สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห่ง (กรัมต่อลิตร) และค่าการดูดกลืนแสง

3.5 การหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคส

- 3.5.1 ทำการควบคุมปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 150 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 3.5.2 แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมัก ได้แก่ สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยที่ได้จากข้อ 3.1.2
- 3.5.3 นำแหล่งคาร์บอนในการหมักได้แก่ สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยมาเติมสารสกัดจากยีสต์ 3 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากมอลต์ 3 กรัมต่อลิตร และเปป्टอน 5 กรัมต่อลิตร โดยปรับให้มีปริมาตรรวมเป็น 150 มิลลิลิตร
- 3.5.4 ฆ่าเชื้อสารละลายในข้อ 3.5.3 ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ ทิ้งให้เย็นในตู้ปลอดเชื้อภายใต้อุณหภูมิห้อง
- 3.5.5 จากนั้นเติมเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 3.3 ลงในสารละลายในข้อ 3.5.4 ด้วยอัตราส่วนของน้ำหนักเซลล์ยีสต์แห้ง 0.01 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร
- 3.5.6 ระหว่างการหมักเขย่าด้วยอัตราเร็ว 100 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ระหว่างทำการหมักเก็บปริมาตร 3 มิลลิลิตรทุกๆ 12 ชั่วโมง
- 3.5.7 นำตัวอย่างปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ไปตรวจหาความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อหาการเจริญของยีสต์
- 3.5.8 นำตัวอย่างปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ที่เหลือฉีดผ่านหัวกรองขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography , HPLC) รายละเอียดการวิเคราะห์อธิบายในหัวข้อ 3.7 การทดลองหมักภายใต้สภาวะที่ศึกษาทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

3.6 การหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย

- 3.6.1 ทำการควบคุมปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 150 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 3.6.2 เตรียมแหล่งคาร์บอนที่ใช้หมักได้แก่ สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่ความเข้มข้นเท่ากับ ความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย และไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย
- 3.6.3 นำแหล่งคาร์บอนในการหมัก ได้แก่ สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่ความเข้มข้นเท่ากับ ความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยแล้วเติมสารสกัด

จากยีสต์ 3 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากมอลต์ 3 กรัมต่อลิตร และเปปโติน 5 กรัมต่อลิตร โดยปรับให้มีปริมาตรรวมเป็น 150 มิลลิลิตร

- 3.6.4 ฆ่าเชื้อสารละลายในข้อ 3.6.3 ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ ทิ้งให้เย็นในตู้ปลอดเชื้อภายใต้ อุณหภูมิห้อง
- 3.6.5 จากนั้นเติมเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 3.3 ลงในสารละลายในข้อ 3.6.4 ด้วยอัตราส่วนของ น้ำหนักเซลล์ยีสต์แห้ง 0.01 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร
- 3.6.6 ระหว่างการหมักเขย่าด้วยอัตราเร็ว 100 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศา เซลเซียส หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ระหว่างทำการหมักเก็บปริมาตร 3 มิลลิลิตรทุกๆ 12 ชั่วโมง
- 3.6.7 นำตัวอย่างปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ไปตรวจหาความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อหาการเจริญของยีสต์
- 3.6.8 นำตัวอย่างปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ที่เหลือฉีดผ่านหัวกรองขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม ด้วยเทคนิคโครมาโท กราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography , HPLC) รายละเอียดการวิเคราะห์หรืออธิบายในหัวข้อ 3.7 การทดลองหมักภายใต้สภาวะที่ศึกษา ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

3.7 การวัดการเจริญของยีสต์

นำตัวอย่างที่เก็บได้จากการหมักมาหาความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์ของเซลล์ยีสต์แห้งด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยการส่องตัวอย่างเทียบกับอาหารที่ใช้ใน การหมักโดยไม่เติมยีสต์ (Blank) และนำมาพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งกับ เวลาเพื่อทราบการเจริญของยีสต์

3.8 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอล

ไฮโดรไลเซทที่ได้จากการไฮโดรไลซิสซันอ้อย และผลิตภัณฑ์ของเหลวที่ได้จากการหมักจะถูก นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง รายละเอียดการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงมีดังนี้

- คอลัมน์วิเคราะห์ shodex KS 801
- สารพา คือ น้ำปราศจากไอออน
- อัตราการไหลของสารพา 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

- อุณหภูมิคอลัมน์ 80 องศาเซลเซียส
- หัววัดสัญญาณดัชนีหักเห (Refractive index detector, RID)

สร้างกราฟมาตรฐานด้วยสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมาตรฐานและเอทานอลที่ทราบความเข้มข้น 3 ค่าคือ 0.2, 5.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอล จากนั้นใช้กราฟมาตรฐานที่ได้ในการคำนวณปริมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และเอทานอลจากพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และเอทานอลในตัวอย่างไฮโดรไลเซทและผลิตภัณฑ์ของเหลวจากการหมักที่ตรวจวัดได้จากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

3.9 การคำนวณร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี

$$\text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล} = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้}}{\text{ความเข้มข้นของไซโลสที่เวลาเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี} = \frac{\text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล}}{\text{ร้อยละผลได้โดยมวลทางทฤษฎี}} \times 100$$

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ในบทนี้จะแสดงผลการทดลองและอภิปรายผลที่ได้จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของการหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และศึกษาเปรียบเทียบการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยและการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* โดยแบ่งออกเป็น 4 หัวข้อ ได้แก่ (4.1) ปริมาณของผลิตภัณฑ์ต่างๆในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย (4.2) ผลของชนิดและความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ในการหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคส (4.3) สมการอย่างง่ายความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี (4.4) การหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมเปรียบเทียบกับไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.1 ปริมาณของผลิตภัณฑ์ต่างๆในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย

จากผลการศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยวิธีน้ำร้อนอัดความดันเพื่อย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส จะพบว่าที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที (เปิดสวิตซ์ให้ความร้อนเครื่องปฏิกรณ์แบบกะเพื่อหยุดปฏิกิริยาทันทีที่อุณหภูมิภายในของเครื่องปฏิกรณ์เท่ากับ 210 องศาเซลเซียส) เป็นภาวะที่เหมาะสมซึ่งจะพบว่าผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์จากเฮมิเซลลูโลสสูงสุด ซึ่งเฮมิเซลลูโลสถูกแยกสลายกลายเป็นน้ำตาลรีดิวซ์หลายชนิด ทั้งที่อยู่ในรูปน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลหลายโมเลกุล ซึ่งจากกระบวนการหมักด้วยยีสต์ *Pichia stipitis* สามารถเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น ไซโลส อะราบิโนส กลูโคส หรือน้ำตาลหลายโมเลกุลเช่น เซลโลโอบีโอส เป็นเอทานอลได้ ในการศึกษาปริมาณของผลิตภัณฑ์ต่างๆในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยจึงได้วิเคราะห์องค์ประกอบของไฮโดรไลเซทโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและรายงานชนิดและปริมาณน้ำตาล เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลง และศึกษาผลิตภัณฑ์อื่นๆในไฮโดรไลเซทที่มีผลยับยั้งการผลิตเอทานอลของยีสต์ ดังตารางที่ 4.1 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ได้

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย

| ผลิตภัณฑ์ที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|--|---------------------------|--------|
| น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว | ไซโลส | 0.3158 |
| | อะราบิโนส | 0.0308 |
| | กลูโคส | 0.0394 |
| น้ำตาลหลายโมเลกุล | ไซโลโอลิโกแซ็กคาร์ไรด์ | 7.1487 |
| | เซลโลโอลิโกแซ็กคาร์ไรด์ | 0.6354 |
| สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ | เฟอร์ฟูรัล | 0.0144 |
| | ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล | 0.0323 |

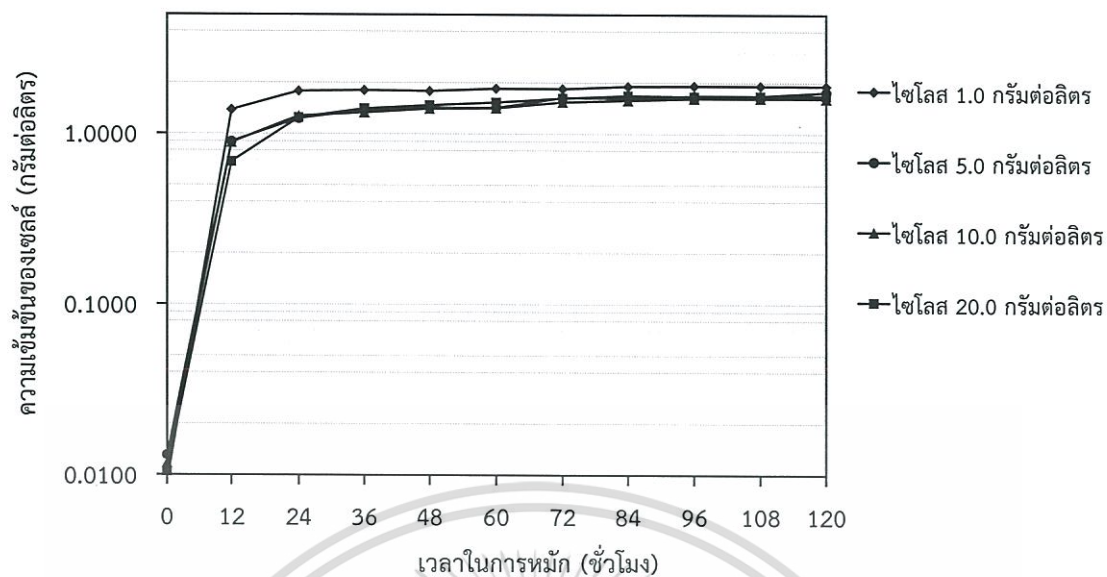
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของชนิดและความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ในการหมักสารละลายไซโลส ออราบินอส และกลูโคส

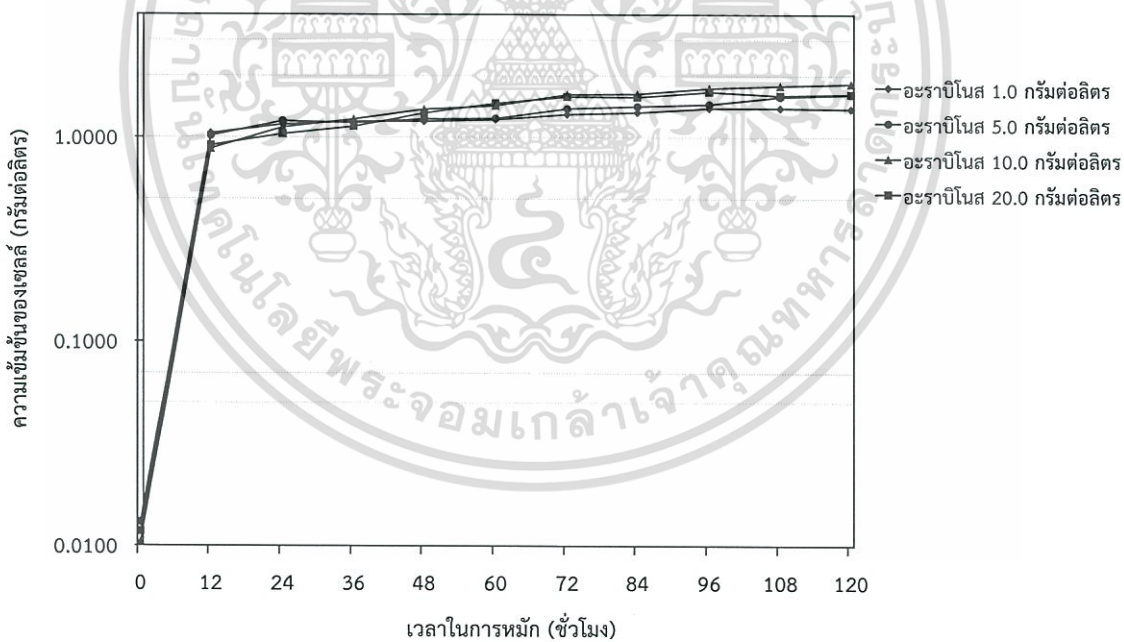
4.2.1 การเจริญเติบโตของยีสต์

จากการวัดการเจริญเติบโตของยีสต์ที่เวลาต่างๆตั้งแต่ที่เวลา 0 ชั่วโมงวัดไปทุกๆ 12 ชั่วโมง จนกระทั่งถึง 120 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์พบว่า เมื่อพลอตกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้ง (จำนวนจุลินทรีย์) และเวลาที่ใช้ในการหมักดังแสดงในรูปที่ 4.1 – 4.6 พบว่าในกราฟเกิดเส้นตรงที่มีความชันแตกต่างกันออกไป ความชันที่พบในกราฟจะแบ่งออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงแรก คือ เวลาในการหมักตั้งแต่ 0 ถึง 12 ชั่วโมง และช่วงที่สองเวลาในการหมัก 12 ถึง 120 ชั่วโมง ช่วงแรกกราฟจะมีความชันมาก เป็นระยะแบ่งตัวทวีคูณของยีสต์ในระยะนี้ยีสต์จะมีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วด้วย อัตราที่คงที่การแบ่งเซลล์ในแต่ละครั้งจะใช้เวลาเท่าๆกันในระยะนี้สามารถหาอัตราการเจริญของยีสต์ได้จากอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) ได้จากสมการในหัวข้อ 2.8.3 แสดงดังตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในระยะการแบ่งตัวทวีคูณของการหมักโดยใช้สารละลายไซโลส ออราบินอส และกลูโคส รายละเอียดของการคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์จะแสดงไว้ในภาคผนวก ก

ในช่วงที่สองที่เวลาการหมักตั้งแต่ 12 ถึง 120 ชั่วโมงจะเป็นช่วงระยะคงจำนวนเซลล์ของยีสต์ เมื่อวัดอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์จะมีค่าเข้าใกล้ 0 สังเกตได้จากความชันของกราฟจะไม่แตกต่างกันมาก ในระยะนี้เป็นระยะที่ยีสต์มีจำนวนสูงสุดและคงที่กล่าวคือ อัตราการเกิดของยีสต์เท่ากับอัตราการตายของยีสต์สังเกตได้จากความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งมีค่าคงที่ อย่างไรก็ตามในการศึกษาในครั้งนี้จะพบเพียงระยะการแบ่งตัวทวีคูณของยีสต์ และระยะคงจำนวนเซลล์ของยีสต์จึงไม่พบระยะพัก และระยะเซลล์ตายเนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมเชื้อก่อนหมักและการเพาะเลี้ยงยีสต์ให้โตในอาหารแข็งยีสต์เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยีสต์มีการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ อีกทั้งยีสต์ถูกทำให้อยู่ในภาวะพร้อมแบ่งตัวภายใต้สิ่งแวดล้อมที่ใกล้เคียงกับการหมักจึงทำให้ระยะพักสั้นซึ่งไม่สามารถสังเกตเห็นได้ในระหว่างทำการทดลอง นอกจากนี้ในระยะเซลล์ตายของยีสต์ เนื่องจากในการทดลองหมักเราใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 120 ชั่วโมงในระยะเซลล์ตายยีสต์จะมีการตายอย่างรวดเร็วเซลล์ยีสต์ที่ตายแล้วจะมีจำนวนมากกว่าเซลล์ที่เกิดใหม่ ในการทดลองนี้ไม่พบระยะเซลล์ตายเนื่องจากเวลาในการหมัก 120 ชั่วโมงยังคงมีอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหลืออยู่และอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้ยีสต์เข้าสู่ระยะเซลล์ตาย

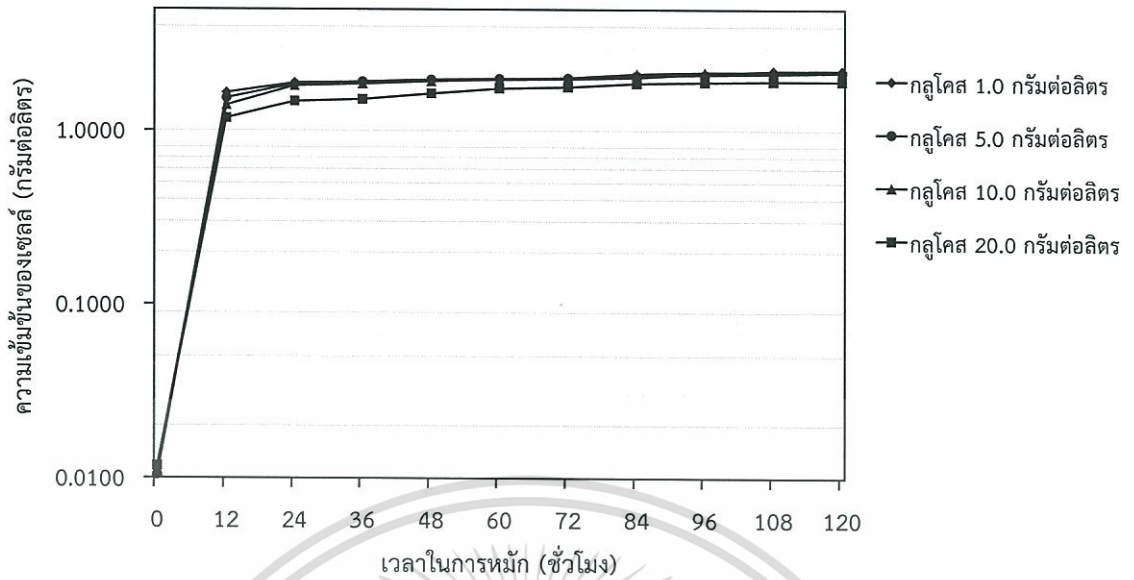


รูปที่ 4.1 กราฟลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4.2 กราฟลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักสารละลายอะราบีโนสความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟลอการิทึมความเข้มข้นของเซลลูโลสแห้งและเวลาในการหมักสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

จากกราฟรูปที่ 4.1-4.3 เป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลลูโลสแห้งและเวลาในการหมักแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลาย ไชโลส อะราบิโนส และกลูโคสความเข้มข้นต่างๆตามลำดับจะพบว่าอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์มีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย ไชโลส อะราบิโนส และกลูโคสเพิ่มขึ้นพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำที่ 1.0 กรัมต่อลิตรของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจะมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดเท่ากับ 0.4181, 0.3653 และ 0.4221 ต่อชั่วโมงของสารละลายน้ำตาล ไชโลส อะราบิโนส และกลูโคสตามลำดับ ถ้าเราเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสารละลายน้ำตาลกลูโคสจะมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดรองลงมาเป็นสารละลายน้ำตาล ไชโลส และอะราบิโนส ตามลำดับและพบว่าอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆสูงกว่าสารละลายอื่นๆ เนื่องจากยีสต์ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตได้ดี

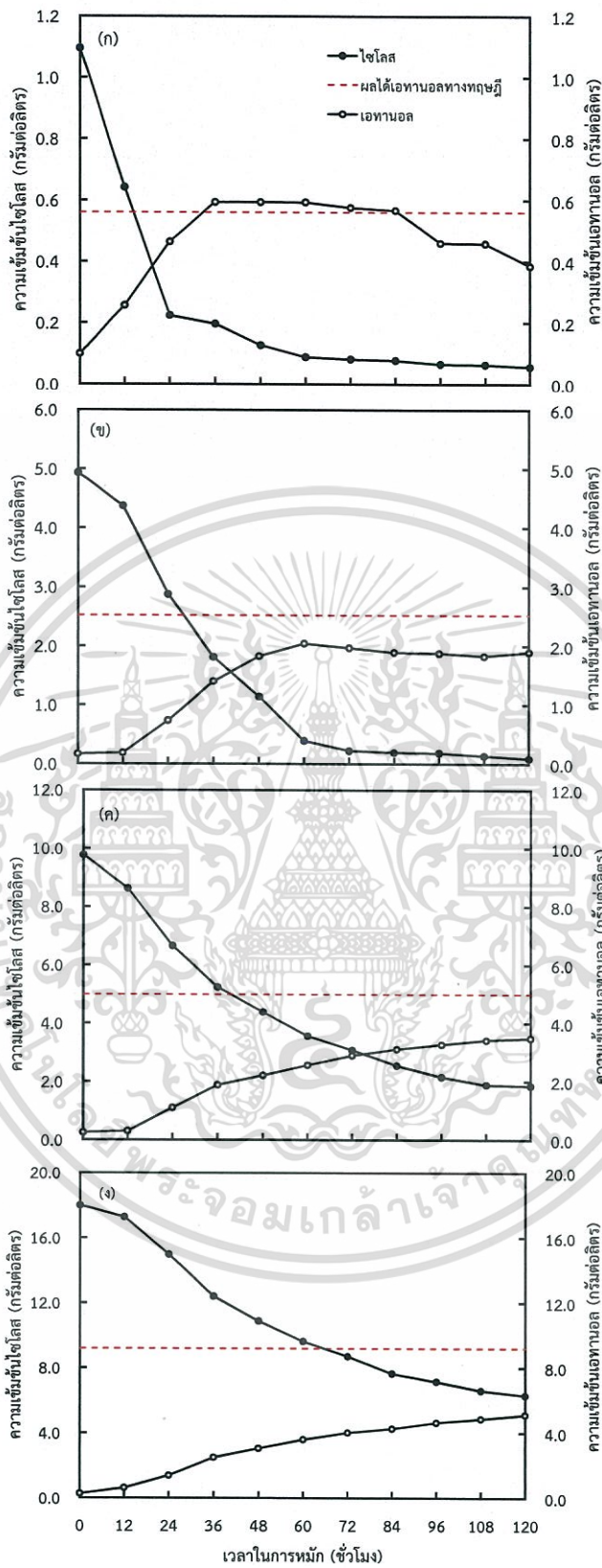
จากการทดลองหมักสารละลาย ไชโลส อะราบิโนส และกลูโคส สามารถหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของยีสต์ที่แหล่งคาร์บอนในการหมักต่างๆกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคส

| แหล่งคาร์บอนในการหมัก | อัตราการเจริญจำเพาะ (1/ชั่วโมง) |
|------------------------------|---------------------------------|
| สารละลายไซโลส | |
| ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 0.4181 |
| ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 0.3826 |
| ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 0.3604 |
| ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 0.3485 |
| สารละลายอะราบิโนส | |
| ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 0.3653 |
| ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 0.3628 |
| ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 0.3425 |
| ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 0.3300 |
| สารละลายกลูโคส | |
| ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 0.4221 |
| ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 0.4162 |
| ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 0.3985 |
| ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 0.3840 |

4.2.2 การหมักสารละลายไซโลส

จากรูปที่ 4.4 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไซโลสและเอทานอลที่เปลี่ยนไปเทียบกับเวลา พบว่ายีสต์มีรูปแบบการผลิตเอทานอลที่คล้ายกัน คือ น้ำตาลไซโลสจะถูกย่อยสลายและเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลโดยผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ ในการหมักจะใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการหมักสารละลายไซโลสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.4ก พบว่าในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการหมักยีสต์จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วแบบทวีคูณทำให้ปริมาณไซโลสที่เป็นแหล่งคาร์บอนลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 12 ชั่วโมงแรก ในขณะที่เดียวกันปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเนื่องจากไซโลสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนถูกใช้ไปจนเกือบหมด จนถึงเวลาในการหมักที่ 36 ชั่วโมง พบว่ายีสต์จะมีการผลิตเอทานอลได้สูงสุดโดยจะพบว่าความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเป็น 0.5934 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการหมัก 36 ชั่วโมงซึ่งคิดเป็นร้อยละผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 54.20 หรือร้อยละ 106.27 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎีการคำนวณร้อยละผลได้ของเอทานอลและร้อยละผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีจะแสดงไว้ในภาคผนวก ก หลังจากเวลาการหมักที่ 36 ชั่วโมงปริมาณเอทานอลจะลดลงเรื่อยๆจนถึงเวลาการหมัก 120 ชั่วโมง หากทดลองหมักต่อไปปริมาณเอทานอลจะลดลงเนื่องจากไซโลส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนถูกใช้ไปเกือบหมด



รูปที่ 4.4 ปริมาณไซโลสและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายไซโลสความเข้มข้น (ก) 1.0 กรัมต่อลิตร (ข) 5.0 กรัมต่อลิตร (ค) 10.0 กรัมต่อลิตร (ง) 20.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาเหตุที่ผลได้โดยมวลของเอทานอลมีค่าเกินกว่าทางทฤษฎีเกิดจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่อยู่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น กลูโคส และมอลโทส เป็นต้น ซึ่งยีสต์สามารถนำน้ำตาลเหล่านี้มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเอทานอลได้ นอกจากนี้ความเข้มข้นของไซโลสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักที่มีค่าต่ำ ทำให้ร้อยละความผิดพลาดจากการหมักน้ำตาลองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อมีนัยสำคัญต่อผลได้ของเอทานอลที่ควรเกิดขึ้นจริงจากการใช้ไซโลสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมัก

รูปที่ 4.4ข แสดงกราฟการหมักสารละลายไซโลสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ายีสต์ใช้น้ำตาลไซโลสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต และการผลิตเอทานอล การใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตคล้ายกับกรณีที่ใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร จากการทดลองได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 2.0423 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 60 ชั่วโมง ซึ่งคิดเป็นร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 41.40 หรือร้อยละ 81.18 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี

ในการหมักสารละลายไซโลสความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร จากรูปที่ 4.4ค และ 4.4ง พบว่าในช่วง 12 ชั่วโมงแรก เป็นช่วงที่มีการแบ่งตัวแบบทวีคูณของยีสต์ในช่วงนี้ยีสต์จะมีอัตราการผลิตเอทานอลที่ช้ากว่าการหมักสารละลายน้ำตาลไซโลสที่ความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 กรัมต่อลิตร สังเกตได้จากความชันของกราฟในช่วง 12 ชั่วโมงแรกปริมาณน้ำตาลจะลดลงช้าๆ ในขณะที่เดียวกันปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ สำหรับการหมักสารละลายไซโลสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตรจะได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 3.488 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการหมัก 120 ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 35.69 หรือร้อยละ 69.98 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี และการหมักสารละลายไซโลสที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรจะได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเป็น 5.1108 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 120 ชั่วโมงซึ่งคิดเป็นร้อยละผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 28.40 หรือร้อยละ 55.69 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี จากการหมักสารละลายไซโลสความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร พบว่าหากเพิ่มระยะเวลาในการหมักต่อไปคาดว่าจะได้ผลได้ของเอทานอลเพิ่มขึ้นอีก

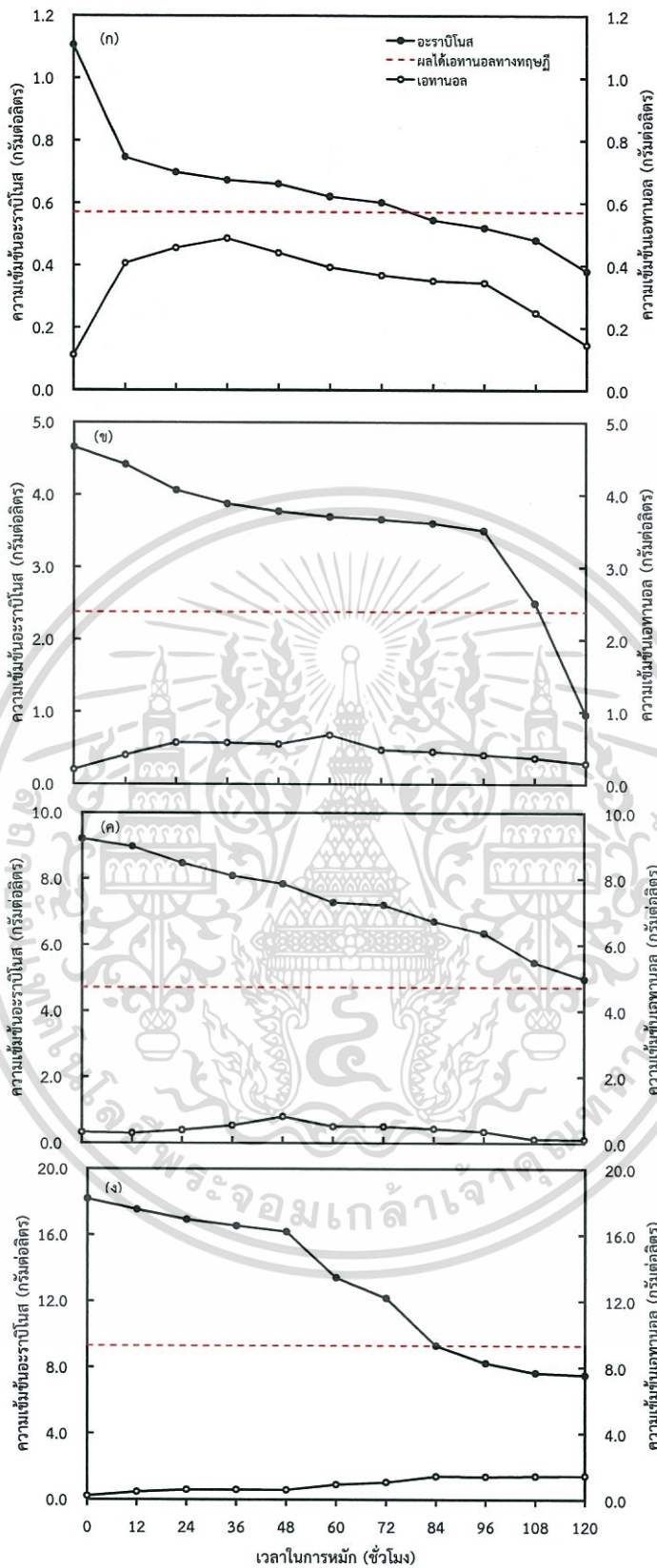
4.2.3 การหมักสารละลายอะราบิโนส

จากรูปที่ 4.5 เป็นกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของอะราบิโนสและเอทานอลเทียบกับเวลา จากการทดลองหมักสารละลายอะราบิโนสพบว่ายีสต์มีการผลิตเอทานอลคล้ายกันคือ อะราบิโนสจะถูกย่อยโดยยีสต์และเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลเมื่อเวลาผ่านไปโดยผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึมของยีสต์ หากพิจารณาการหมักโดยใช้สารละลายอะราบิโนสที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.5ก เป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการหมักน้ำตาลอะราบิโนสจะลดลงอย่างรวดเร็วในขณะเดียวกันเกิดเอทานอลขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณของยีสต์ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลอะราบิโนสจะค่อยๆลดลงจนถึงเวลาการหมัก 120 ชั่วโมง พบว่ายังมีน้ำตาลอะราบิโนสเหลืออยู่ในระบบและพบว่าเวลาการหมักที่ 36 ชั่วโมง ยีสต์มีการผลิตเอทานอลได้สูงสุด หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะค่อยๆลดลงจนถึงเวลาการหมัก 120 ชั่วโมงยังคงมีเอทานอลเหลืออยู่ในระบบถ้าหากหมักต่อไปคาดว่าปริมาณน้ำตาลและเอทานอลในระบบจะลดลงไป จะได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเป็น 0.4865 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 36 ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละโดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 43.98 หรือร้อยละ 86.25 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี

การหมักโดยใช้สารละลายอะราบิโนสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน แสดงดังรูปที่ 4.5ข พบว่ายีสต์มีการผลิตเอทานอลอย่างช้าๆจนถึงที่เวลาการหมัก 60 ชั่วโมง ยีสต์ผลิตเอทานอลได้สูงสุดในขณะเดียวกันปริมาณน้ำตาลอะราบิโนสจะลดลงอย่างช้าๆจนถึงที่เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมงน้ำตาลอะราบิโนสจะถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 0.6793 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 60 ชั่วโมง ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละโดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 14.58 หรือร้อยละ 28.59 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี

กราฟการหมักโดยใช้สารละลายน้ำตาลอะราบิโนสความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนแสดงดังรูปที่ 4.5ค และ 4.5ง พบว่ายีสต์มีการผลิตเอทานอลที่ช้ากว่าการหมักสารละลายน้ำตาลอะราบิโนสที่ความเข้มข้นต่ำ (1.0 และ 5.0 กรัมต่อลิตร) สังเกตได้จากกราฟการหมักจะพบว่าปริมาณเอทานอลที่ยีสต์ผลิตมีปริมาณน้อยทำให้ได้ร้อยละผลได้ของเอทานอลใกล้เคียงกับการหมักสารละลายอะราบิโนสความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร

การหมักสารละลายอะราบิโนสที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร พบว่าได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 0.8020 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละโดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 8.71 หรือร้อยละ 17.07 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี และการหมักสารละลายน้ำตาลอะราบิโนสที่ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร ได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 1.4309 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 120 ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละโดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 7.87 หรือร้อยละ 15.43 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี หากใช้ความเข้มข้นในการหมักสารละลายน้ำตาลอะราบิโนสมากกว่า 20 กรัมต่อลิตรคาดว่าจะได้ร้อยละผลได้ของเอทานอลที่ลดลง



รูปที่ 4.5 ปริมาณอะราบินอสและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายอะราบินอส ความเข้มข้น (ก) 1.0 กรัมต่อลิตร (ข) 5.0 กรัมต่อลิตร (ค) 10.0 กรัมต่อลิตร (ง) 20.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

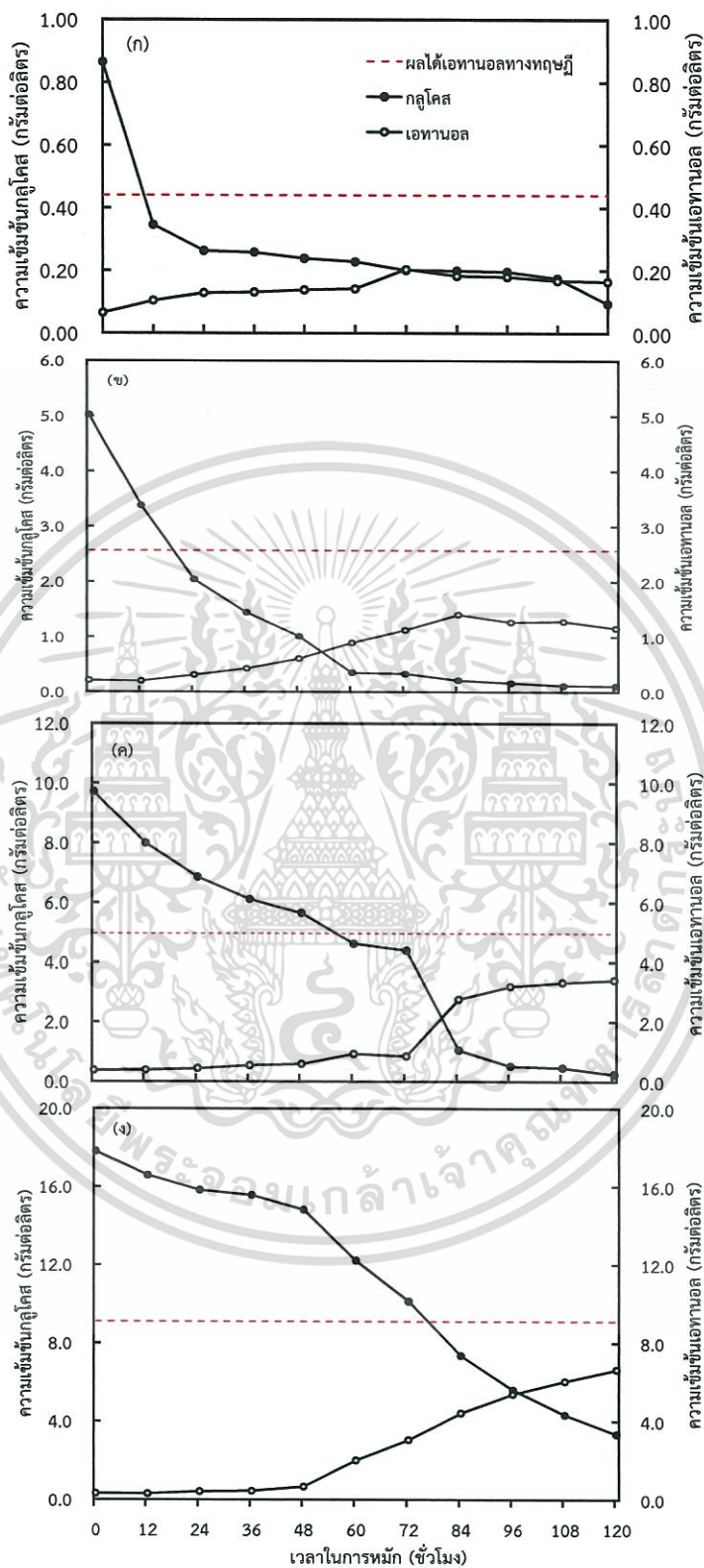
4.2.4 การหมักสารละลายกลูโคส

จากรูปที่ 4.6 เป็นกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและเอทานอลเทียบกับเวลา น้ำตาลกลูโคสจะถูกลดลงโดยยีสต์และเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลเมื่อเวลาผ่านไป โดยผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ เมื่อพิจารณาการหมักสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.6ก ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมัก พบว่าที่เวลาการหมัก 12 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นช่วงของการเจริญเติบโตแบบทวีคูณของยีสต์ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะค่อยๆลดลง ในขณะที่ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆจนถึงเวลาการหมัก 72 ชั่วโมงพบว่าได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 0.2040 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ โดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 23.58 หรือร้อยละ 46.23 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี

การหมักสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตรแสดงดังรูปที่ 4.6ข พบว่ายีสต์มีรูปแบบการผลิตเอทานอลและการใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตคล้ายกับกรณีที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็วที่เวลาการหมัก 24 ชั่วโมงและจะลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ปริมาณเอทานอลก็จะเพิ่มขึ้นจนถึงเวลาการหมัก 84 ชั่วโมง พบว่ายีสต์มีการผลิตเอทานอลสูงสุดความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 1.4018 กรัมต่อลิตรคิดเป็นร้อยละโดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 27.89 หรือร้อยละ 54.69 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี

การหมักสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.6ค พบว่ายีสต์มีการผลิตเอทานอลในลักษณะคล้ายกันเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้นสังเกตได้จากความชันของความเข้มข้นของเอทานอลที่เวลาเพิ่มขึ้น ในช่วงแรกปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นและขณะเดียวกันปริมาณน้ำตาลจะลดลงแสดงว่าในช่วงแรกยีสต์ใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลเมื่อเวลาผ่านไป

การหมักสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรพบว่าในช่วงแรกยีสต์จะผลิตเอทานอลขึ้นอย่างช้าๆจนถึงเวลาการหมัก 72 ชั่วโมงยีสต์จะผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และปริมาณน้ำตาลกลูโคสซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอนจะค่อยๆลดลงจนถึงเวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็วและลดลงอย่างคงที่ จะได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 3.3979 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 120 ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละโดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 34.99 หรือร้อยละ 68.61 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี และการหมักสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.6ง เป็นไปในทำนองเดียวกันกับสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร พบว่าที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมงยีสต์จะเริ่มผลิตเอทานอลขึ้นอย่างต่อเนื่อง และปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็วที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง จะได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 6.6398 กรัมต่อลิตรที่เวลาการหมัก 120 ชั่วโมง คิดเป็นร้อยละโดยมวลของเอทานอลเท่ากับ 37.28 หรือร้อยละ 73.10 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี



รูปที่ 4.6 ปริมาณกลูโคสและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายกลูโคสความเข้มข้น (ก) 1.0 กรัมต่อลิตร (ข) 5.0 กรัมต่อลิตร (ค) 10.0 กรัมต่อลิตร (ง) 20.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามหากเพิ่มระยะเวลาในการหมักสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตรคาดว่าจะได้ผลได้ของเอทานอลเพิ่มขึ้นอีก หากเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสคาดว่าจะได้ผลได้ของเอทานอลเพิ่มขึ้น

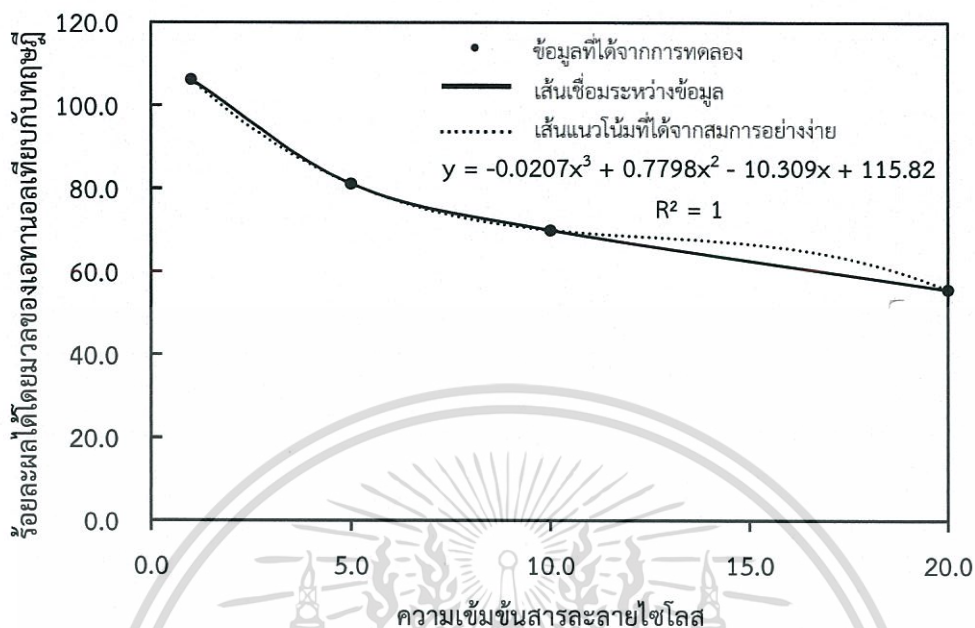
ตารางที่ 4.3 ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลและร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี

| แหล่งคาร์บอนในการหมัก | ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล | ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี |
|------------------------------|-----------------------------|--|
| สารละลายไซโลส | | |
| ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 54.20 | 106.27 |
| ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 41.40 | 81.18 |
| ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 35.69 | 69.98 |
| ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 28.40 | 55.69 |
| สารละลายอะราบิโนส | | |
| ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 43.98 | 86.25 |
| ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 14.58 | 28.59 |
| ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 8.71 | 17.07 |
| ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 7.87 | 15.43 |
| สารละลายกลูโคส | | |
| ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 23.58 | 46.23 |
| ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 27.89 | 54.69 |
| ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 34.99 | 68.61 |
| ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 37.28 | 73.10 |

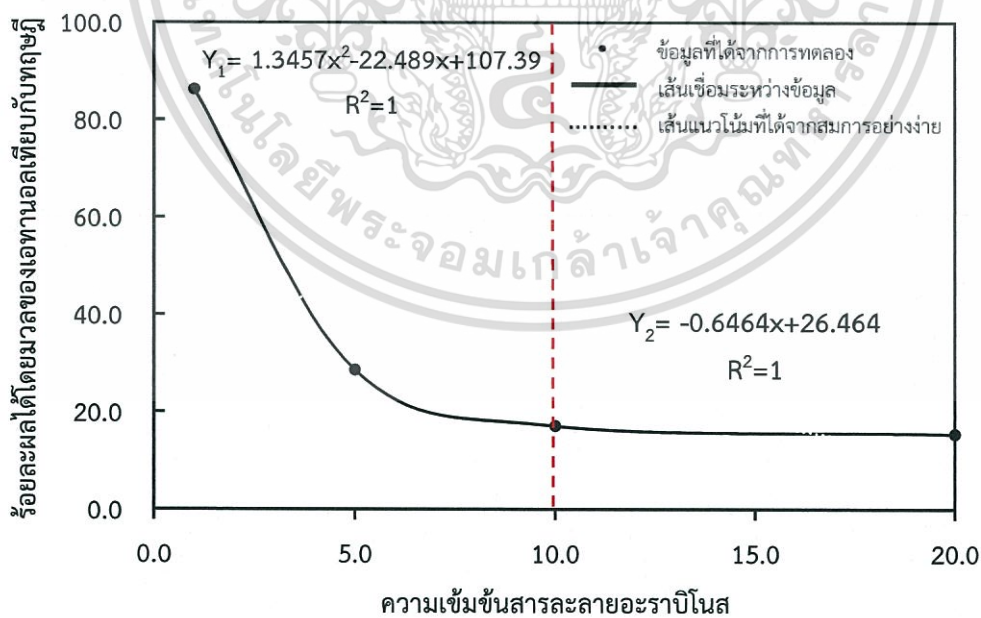
4.3 สมการอย่างง่ายความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี

จากการหมักสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคสในหัวข้อ 4.7-4.9 ที่ผ่านมาสามารถคำนวณหาร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีได้ดังสรุปไว้ในตารางที่ 4.3 จากข้อมูลดังตารางที่ 4.3 นำมาสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีและความเข้มข้นของสารละลายไซโลส อะราบิโนส และกลูโคสเพื่อหาสมการอย่างง่าย (Empirical equation) และเพื่อใช้สมการอย่างง่ายในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่ความเข้มข้นไซโลส อะราบิโนส และกลูโคสคล้ายคลึงกับในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย และการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย จากการทดลองหมักสารละลาย

น้ำตาลโมลกุลเดี่ยว เพื่อใช้ทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีที่เกิดขึ้นจากการหมัก แสดงดังกราฟรูปที่ 4.7-4.9

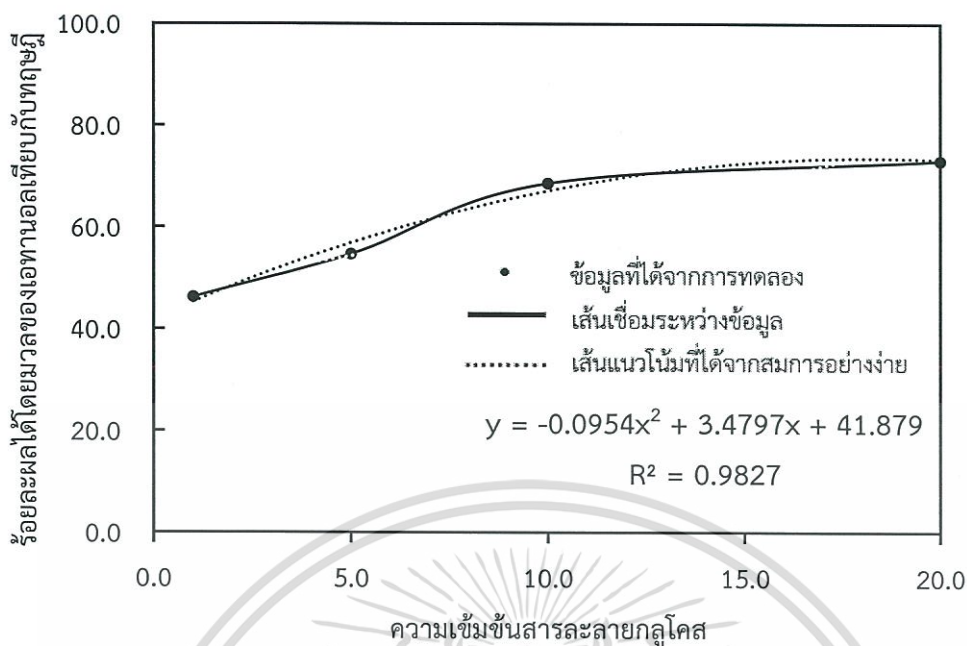


รูปที่ 4.7 สมการอย่างง่ายของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซโลสและร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี



รูปที่ 4.8 สมการอย่างง่ายของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายอะราบิโนสและร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 สมการอย่างง่ายของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสและร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี

จากกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีข้างต้นจะได้สมการอย่างง่าย (Empirical equation) ในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี ดังนี้

1. สารละลายน้ำตาลไซโลสจะได้สมการเป็น

$$y = -0.0207x^3 + 0.7798x^2 - 10.309x + 115.82 \quad (4.1)$$

2. สารละลายน้ำตาลอะราบิโนสจะได้สมการการทำนายแบ่งออกเป็น 2 ช่วง

ช่วงแรก ความเข้มข้น 1.0-10.0 กรัมต่อลิตร

$$y = 1.3457x^2 - 22.489x + 107.39 \quad (4.2)$$

ช่วงที่สอง ความเข้มข้น 10.0-20.0 กรัมต่อลิตร

$$y = -0.6464x + 26.464 \quad (4.3)$$

3. สารละลายน้ำตาลกลูโคสจะได้สมการเป็น

$$y = -0.0954x^2 + 3.4797x + 41.879 \quad (4.4)$$

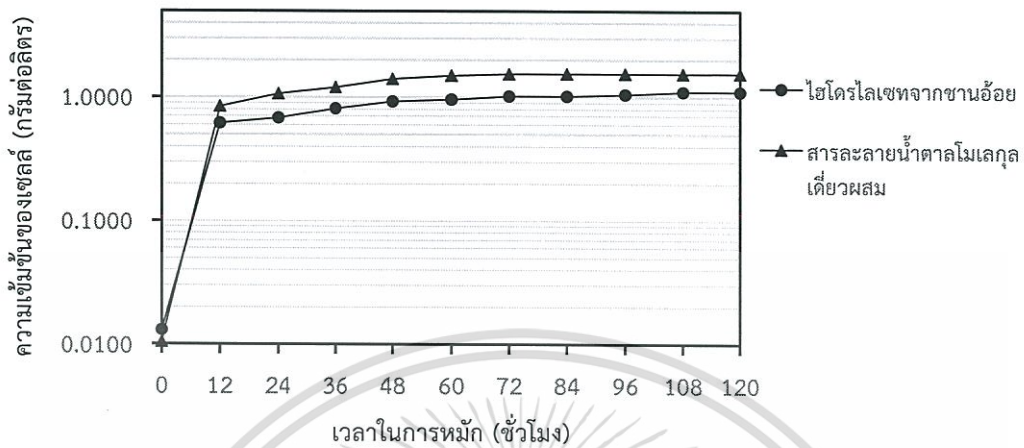
หมายเหตุ

y : ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎี

X : ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (กรัมต่อลิตร)

4.4 การหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมเปรียบเทียบกับไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย

4.4.1 การเจริญเติบโตของยีสต์



รูปที่ 4.10 กราฟลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยความเข้มข้นต่างๆ

จากรูปที่ 4.10 เป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย และสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม ในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยแม้ว่าจะมีความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในปริมาณต่ำ แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยดังตารางที่ 4.1 แต่ในไฮโดรไลเซทของชานอ้อยยังประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ชนิดอื่นๆ ซึ่งยีสต์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักได้จึงทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่หมักได้มากกว่าความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในไฮโดรไลเซท เมื่อวัดอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.3212 ต่อชั่วโมงซึ่งมีค่าต่ำกว่าอัตราการเจริญจำเพาะของการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม เนื่องจาก องค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยนอกจากประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ชนิดต่างๆ ยังมีผลพลอยได้อื่นๆ เช่น เพอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล ซึ่งส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ทำให้อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักมีค่าต่ำ ในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมประกอบด้วย ไชโลส อะราบิโนส และกลูโคส ซึ่งองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเท่ากับองค์ประกอบของน้ำตาลที่มีอยู่ในไฮโดรไลเซทของชานอ้อยจะพบว่า มีอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักมีค่าเท่ากับ 0.3659 ต่อชั่วโมงซึ่งสูงกว่าในการหมักไฮโดรไลเซทยีสต์จะใช้น้ำตาลไชโลสและกลูโคสในการเจริญเติบโตซึ่งน้ำตาลกลูโคสจะใช้ในการเติบโตและแบ่งเซลล์ของยีสต์ น้ำตาลไชโลสใช้ในการเติบโตและผลิตเอทานอล และน้ำตาลอะราบิโนสจะยังหลงเหลืออยู่ในระบบการหมัก จึงสรุปได้ว่าผลพลอยได้อื่นในไฮโดรไลเซทเช่น เพอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล ส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ จากการทดลองหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยและสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สามารถหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของยีสต์ที่แหล่งคาร์บอนในการหมักต่างๆกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยและสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว

| แหล่งคาร์บอนในการหมัก | อัตราการเจริญจำเพาะ (1/ชั่วโมง) |
|--------------------------------|---------------------------------|
| สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม | 0.3659 |
| ไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย | 0.3212 |

4.4.2 ปริมาณน้ำตาลและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลาในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย

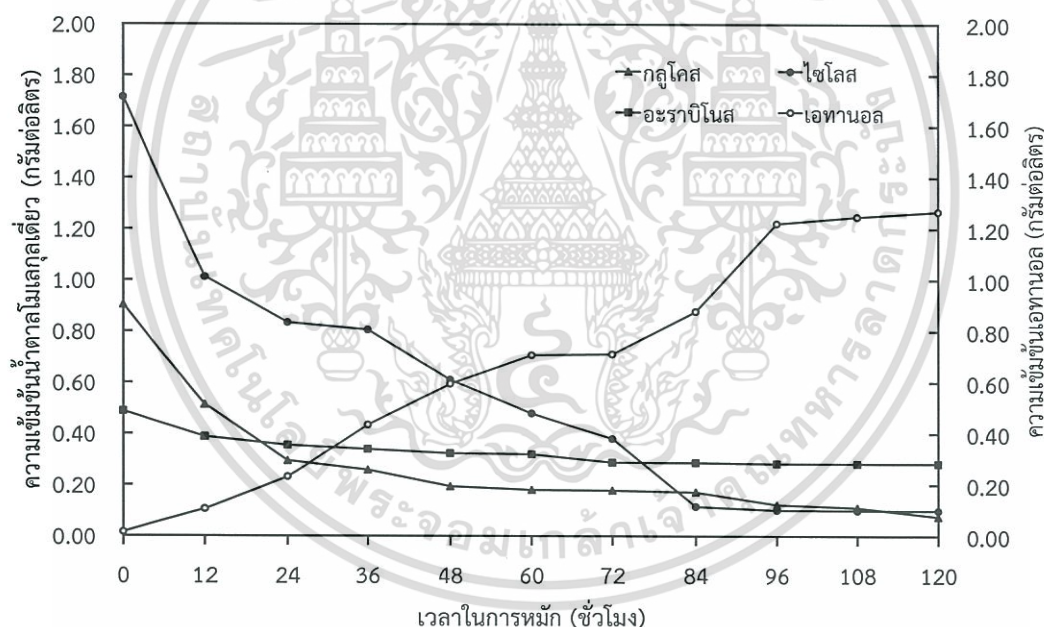
กราฟการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมแสดงดังรูปที่ 4.11 จากตารางที่ 4.1 แสดงผลิตภัณฑ์ที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย จากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เป็นองค์ประกอบของไฮโดรไลเซทชานอ้อย พบว่ามีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ไซโลส 0.3158 กรัมต่อลิตร อะราบิโนส 0.0308 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 0.0394 กรัมต่อลิตร โดยหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคล้ายคลึงกับองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย จากการหมักพบว่าในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการหมักหากพิจารณาความชันของกราฟพบว่าน้ำตาลกลูโคสจะถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว และหลังจากเวลาการหมักที่ 24 ชั่วโมงกลูโคสจะลดลงอย่างคงที่จนหมด น้ำตาลกลูโคสยีสต์จะใช้ในการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ ส่วนน้ำตาลไซโลสจะพบว่าที่เวลาการหมักในช่วง 12 ชั่วโมงแรก น้ำตาลไซโลสจะลดลงอย่างรวดเร็วและหลังจาก 12 ชั่วโมงน้ำตาลไซโลสจะลดลงจนถึงเวลาการหมัก 84 ชั่วโมงน้ำตาลไซโลสจะคงที่ ในขณะที่ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงเวลาการหมักที่ 84 ชั่วโมงและคงที่ที่เวลาการหมัก 96 ชั่วโมงและในการหมักยีสต์จะใช้น้ำตาลไซโลสในการผลิตเอทานอล และการลดลงของน้ำตาลไซโลสกับการเพิ่มขึ้นของเอทานอลจะมีความสัมพันธ์กัน และน้ำตาลอะราบิโนสจะลดลงอย่างคงที่ซึ่งจะหลงเหลืออยู่ในระบบการหมัก จึงสรุปได้ว่าการที่น้ำตาลกลูโคสถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วในตอนแรกและลดลงเรื่อยๆจนหมดในเวลาต่อมาแสดงว่ายีสต์ใช้กลูโคสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต ในขณะที่เดียวกันยีสต์ใช้ไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเอทานอลสังเกตได้จากกราฟปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น

จากการสร้างกราฟมาตรฐานในหัวข้อ 4.3 เป็นความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ใช้สมการอย่างง่าย (Empirical Equation) ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม และเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลที่การทำนายจากสมการอย่างง่ายกับความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการทดลองหมัก รายละเอียดการคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวก ก ได้ผลดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลจากการทดลองหมัก การประมาณค่าจากสมการอย่างง่าย และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับค่าประมาณจากสมการอย่างง่าย

| แหล่งคาร์บอน | ความเข้มข้นเอทานอล (กรัมต่อลิตร) | | ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับค่าประมาณจากสมการอย่างง่าย |
|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---|
| | การทดลองหมัก | การประมาณค่าจากสมการอย่างง่าย | |
| สารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม | 1.2676 | 1.3250 | 95.67 |
| ไฮโดรไลเซตจากชานอ้อย | 1.1354 | 1.7594 | 64.54 |

จากตารางที่ 4.5 แสดงร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับค่าประมาณจากสมการอย่างง่ายพบว่าเป็น 95.67 %

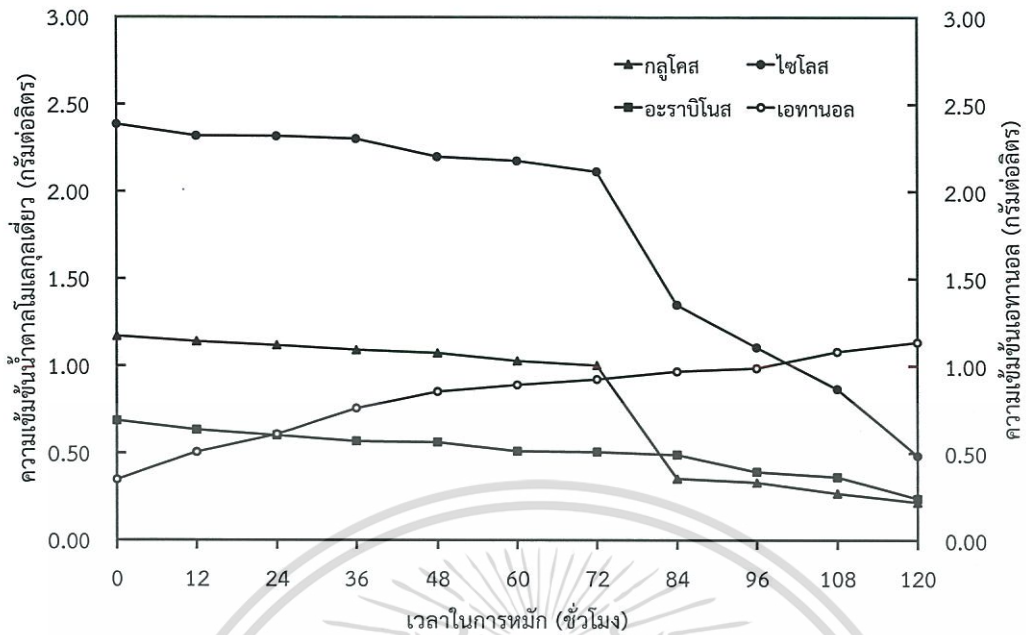


รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม

กราฟการหมักไฮโดรไลเซตจากชานอ้อยดังแสดงดังรูปที่ 4.11 จากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เป็นองค์ประกอบของไฮโดรไลเซตชานอ้อยในตารางที่ 4.1 พบว่ามีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบได้แก่ ซูโครส 0.3158 กรัมต่อลิตร อะราบิโนส 0.0308 กรัมต่อลิตร และกลูโคส

0.0394 กรัมต่อลิตร จากกราฟการหมักไฮโดรไลเซชันจากชานอ้อย พบว่าน้ำตาลไซโลสมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาเป็นน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลอะราบินอส ตามลำดับ จากกราฟจะพบว่าน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างช้าๆ ในอัตราการลดลงที่คงที่เมื่อถึงเวลาการหมัก 72 ชั่วโมงพบว่าน้ำตาลกลูโคสถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วจนถึงเวลาการหมักที่ 84 ชั่วโมงน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างช้าจนเกือบหมดที่เวลาการหมัก 120 ชั่วโมงซึ่งยีสต์จะใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ในขณะเดียวกัน ปริมาณเอทานอลก็จะเพิ่มขึ้น น้ำตาลไซโลสในช่วงแรกจะลดลงอย่างช้าๆ ในอัตราที่คงที่คล้ายกับ น้ำตาลกลูโคสซึ่งปริมาณเอทานอลจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนถึงเวลาการหมักที่ 72 ชั่วโมง ไซโลส จะถูกย่อยสลายโดยยีสต์อย่างรวดเร็วโดยผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึมของยีสต์และในช่วงนี้ยีสต์จะ ใช้น้ำตาลไซโลสในการเจริญเติบโตโดยปริมาณน้ำตาลไซโลสจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงเวลาการหมัก ที่ 120 ชั่วโมง ในขณะเดียวกันปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงนี้ยีสต์จะใช้กลูโคสใน การผลิตเอทานอล จากการไฮโดรไลเซชันชานอ้อยด้วยวิธีน้ำร้อนอัดความดันพบว่าน้ำตาลไซโลสมี ปริมาณมากที่สุดหากเปรียบเทียบกับน้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยวตัวอื่นๆ และน้ำตาลอะราบินอสจะพบว่า ลดลงอย่างช้าๆ ในอัตราที่คงที่และหลงเหลืออยู่ในระบบการหมัก จึงสรุปได้ว่าในการหมักไฮโดรไลเซชัน จากชานอ้อยยีสต์จะใช้น้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยวซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอล พบว่ายีสต์ใช้กลูโคสในการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ในช่วงแรกหากเปรียบเทียบระหว่างการหมัก น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่เวลาการหมัก 72 ชั่วโมงจะพบว่ากลูโคสถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วจน หมดแสดงว่ายีสต์ใช้กลูโคสในการเจริญเติบโตในขณะเดียวกันน้ำตาลไซโลสจะค่อยๆ ลดลงและเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วถ้าหมักต่อไปยีสต์จะใช้น้ำตาลไซโลสในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลขึ้น อีก และน้ำตาลอะราบินอสจะค่อยๆ ลดลงซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อยหากพิจารณาจากความ ชันแสดงว่ายีสต์ไม่ใช้น้ำตาลอะราบินอสในการผลิตเอทานอลและยังคงเหลืออยู่ในระบบการหมัก

จากการสร้างกราฟมาตรฐานในหัวข้อ 4.3 เป็นความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้โดยมวล ของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยว ใช้สมการ ง่าย (Empirical Equation) ของน้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยวทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของ เอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีของน้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยวในการหมักไฮโดรไลเซชันจากชานอ้อย และ เปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลเทียบที่ได้จากการทำนายจากสมการอย่างง่ายกับปริมาณ เอทานอลที่ได้จากการทดลองหมัก รายละเอียดการคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวก ก ได้ผลดังตารางที่ 4.5 จากตารางที่ 4.5 แสดงร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับค่าประมาณจากสมการ ง่ายพบว่า เป็น 64.54 %



รูปที่ 4.12 ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย

จากการศึกษาการเปรียบเทียบการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยในหัวข้อ 4.4.2 ที่ผ่านมาโดยวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซทของชานอ้อย ได้แก่ น้ำตาลไซโลส น้ำตาลอะราบิโนส และน้ำตาลกลูโคสดังตารางที่ 4.1 และหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกับในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยพบว่าการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีซึ่งได้จากการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในหัวข้อ 4.3 ที่ผ่านมาเพื่อหาสมการอย่างง่าย (Empirical equation) ในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่อยู่ในสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม และในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยพบว่าเมื่อใช้สมการอย่างง่ายในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีจากการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม จึงนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของเอทานอลจากการใช้สมการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีพบว่าได้ความเข้มข้นของเอทานอล 1.3250 กรัมต่อลิตร จากการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมได้ความเข้มข้นของเอทานอล 1.2676 กรัมต่อลิตร เมื่อคำนวณหาร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับค่าประมาณจากสมการอย่างง่ายพบว่าเป็น 95.67 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจากการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยพบว่าเมื่อใช้กราฟมาตรฐานในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีจากการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย จึงนำไปคำนวณหาปริมาณของเอทานอลจากการใช้สมการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีพบว่าได้ความเข้มข้นของเอทานอล 1.7594 กรัมต่อลิตร จากการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยได้ความเข้มข้นของเอทานอล 1.1354 กรัมต่อลิตร เมื่อคำนวณหาร้อยละ ผลได้โดยมวลของเอทานอลเปรียบเทียบกับค่าประมาณจากสมการอย่างง่ายพบว่า เป็น 64.54 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จึงสรุปได้ว่าการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมผลได้โดยมวลของเอทานอลสูงกว่าการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย เนื่องจากในไฮโดรไลเซทมีสารอินทรีย์อื่นที่เป็น องค์ประกอบ เช่น สารประกอบฟิวแรน ได้แก่ เฟอร์ฟูรัล (furfural) และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (5-hydroxymethylfurfural, 5HMF) ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทสตามลำดับ จากงานวิจัยของ Jonsson และ Martin ปี 2016 พบว่าสารประกอบฟิวแรนจะส่งผลยับยั้งต่ออัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ เนื่องจากความเป็นพิษของอนุพันธ์ของฟิวแรนที่เกิดจากเฟอร์ฟูรัลถูก เปลี่ยนรูปไปเป็นเฟอร์ฟูรัลแอลกอฮอล์ (Furfuryl alcohol) และจากงานวิจัยพบว่าเฟอร์ฟูรัล แอลกอฮอล์ส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ *Pichia stipitis* หากเปรียบเทียบกราฟอัตราการ เจริญเติบโตของยีสต์ดังรูปที่ 4.10 เป็นกราฟอัตราการเจริญเติบโตของยีสต์ในการหมักสารละลาย น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม และการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย พบว่าอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ ในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย เป็น 0.3659 และ 0.3212 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าการหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยมีอัตราการเจริญจำเพาะที่ต่ำกว่า แสดงให้เห็นว่าผลจากสารประกอบฟิวแรนที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซทจากขานอ้อยเป็นตัวยับยั้งการ เจริญเติบโตของยีสต์และส่งผลกระทบต่อร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบทฤษฎีที่เกิดขึ้น



บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการทดลองศึกษาการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ ไฮโลส อะราบิโนส และ กลูโคส และศึกษาเปรียบเทียบการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย และการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย พบว่า ยีสต์มีลักษณะการเจริญเติบโตเหมือนกันในทุกภาวะในการทดลองหมัก ช่วงเวลาการหมัก 12 ชั่วโมงแรกเป็นระยะการแบ่งตัวทวีคูณของยีสต์ ในช่วงนี้ยีสต์จะมีอัตราการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วโดยใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต หลังจากนั้นยีสต์จะมีอัตราการเจริญเติบโตแบบคงที่ ตั้งแต่เวลาการหมักชั่วโมงที่ 12 จนถึงเวลาการหมักชั่วโมงที่ 120 จากการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์โดยยีสต์จะมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ เมื่อพิจารณาความเข้มข้นเดียวกันอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ในการหมักสารละลายกลูโคส สูงกว่าไฮโลส และอะราบิโนส ตามลำดับ ส่วนการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมเปรียบเทียบกับไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยพบว่าในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะต่ำกว่า เนื่องจากในไฮโดรไลเซทมีสารประกอบฟลูแรน เช่น เฟอร์ฟูรัล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล ซึ่งสามารถส่งผลยับยั้งต่อการเจริญของยีสต์

จากการทดลองหมักสารละลายไฮโลสความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 กรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์สามารถเปลี่ยนไฮโลสไปเป็นเอทานอลได้อย่างรวดเร็วและมีผลได้ของเอทานอลใกล้เคียงกับค่าทางทฤษฎี ในช่วงเวลาการหมัก 24 ชั่วโมงแรกร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 54.20 และ 41.10 ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 106.27 และ 81.18 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎีตามลำดับ สำหรับการหมักสารละลายไฮโลสที่ความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์เปลี่ยนไฮโลสเป็นเอทานอลได้ช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายไฮโลสที่ความเข้มข้นต่ำ และยังพบว่ามียีสต์ตายหลังจากเสร็จสิ้นการหมักที่เวลา 120 ชั่วโมง ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 35.69 และ 28.40 ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 69.98 และ 55.69 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี ตามลำดับ

จากผลการทดลองหมักสารละลายอะราบิโนส พบว่ายีสต์สามารถเปลี่ยนอะราบิโนสไปเป็นเอทานอลได้ดีที่ภาวะความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ในช่วงเวลาการหมัก 12 ชั่วโมงแรก อะราบิโนสถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว และเกิดเป็นเอทานอลมีร้อยละผลได้สูงสุดเท่ากับ 43.98 ที่เวลาการหมัก 36 ชั่วโมง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 86.25 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลงอย่างช้าๆ เนื่องจากยีสต์ใช้เอทานอลที่ผลิตได้ในการเจริญเติบโตร่วมกับการบริโภคน้ำตาลอะราบิโนส แต่เมื่อหมักสารละลายอะราบิโนสที่ภาวะความเข้มข้น 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณน้ำตาลจะลดลงอย่างช้าๆ และเกิดเอทานอลเพียงเล็กน้อย ร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลได้เอทานอลสูงสุดเท่ากับ 14.58, 8.71 และ 7.87 ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 28.59, 17.07 และ 15.43 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี

สำหรับผลการทดลองหมักสารละลายกลูโคส พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ยีสต์จะย่อยกลูโคสอย่างรวดเร็วจนเกือบหมดภายในระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมงแรก แต่ผลิตเอทานอลได้อย่างช้าๆ โดยเกิดร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลสูงสุดที่เวลาการหมัก 72 ชั่วโมง เท่ากับ 23.58 คิดเป็นร้อยละ 46.23 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี เมื่อหมักสารละลายกลูโคส ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร ยีสต์จะใช้เวลาในการย่อยกลูโคสนานขึ้นเป็น 24 ชั่วโมง และผลิตเอทานอลอย่างช้าๆ เกิดร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลสูงสุดที่เวลาการหมัก 84 ชั่วโมง เท่ากับ 27.89 คิดเป็นร้อยละ 54.69 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี แต่ที่ความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลจะค่อยๆ ลดลงและเกิดเป็นเอทานอลอย่างช้าๆ โดยมีร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลสูงสุดที่เวลาการหมัก 120 ชั่วโมง เท่ากับ 34.99 และ 37.28 คิดเป็นร้อยละ 68.61 และ 73.10 เมื่อเปรียบเทียบกับผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเสร็จสิ้นระยะเวลาการหมักยังมีกลูโคสหลงเหลืออยู่ จากการเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอลที่ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสต่างๆ พบว่ายีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่ภาวะความเข้มข้นของเอทานอลสูงๆ

จากผลการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีและความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ พบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวมีลักษณะเป็นสมการเชิงเส้นทั้งแบบเส้นตรงและพหุนาม และสามารถใช้เป็นสมการอย่างง่ายในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยซึ่งทราบความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบได้

จากผลการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคล้ายคลึงกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซท และการทดลองหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย พบว่าเกิดเอทานอลความเข้มข้นเท่ากับ 1.268 และ 1.135 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อนำความเข้มข้นของไซโลส อะราบินอส และกลูโคสที่เป็นองค์ประกอบในสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสมและในไฮโดรไลเซทไปทำนายความเข้มข้นของเอทานอลโดยใช้สมการอย่างง่าย จะได้เอทานอลความเข้มข้นเท่ากับ 1.325 และ 1.759 กรัมต่อลิตร หากเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ทำนายด้วยสมการอย่างง่าย พบว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 95.67 และ 64.54 โดยมวล ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการทดลองหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยเกิดเอทานอลความเข้มข้นต่ำกว่า และผลได้ของเอทานอลเบี่ยงเบนจากค่าที่ใช้สมการอย่างง่ายทำนาย ทั้งนี้เนื่องจากผลของสารประกอบฟลูแรน ได้แก่ เฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล ในไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย ซึ่งส่งผลยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของยีสต์และประสิทธิภาพการหมักเอทานอลของยีสต์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการทดลองหมักไฮโดรไลเซทจากขานอ้อย พบว่ามีอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ และเกิดร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลต่ำกว่าการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม เนื่องจากสารประกอบฟิวแรนที่เป็นองค์ประกอบในไฮโดรไลเซท ผู้วิจัยเสนอว่าควรกำจัดสารยับยั้งเหล่านี้ออกจากไฮโดรไลเซท และทดลองหมักเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการหมักเอทานอลของยีสต์ เพื่อพัฒนาวิธีการหมักและเกิดผลได้ของเอทานอลสูง ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ในการหมักไฮโดรไลเซทจากวัสดุลิกโนเซลลูโลสอื่นๆ ได้

5.2.2 เนื่องจากในไฮโดรไลเซทมีน้ำตาลหลายโมเลกุลเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถใช้วิธีการไฮโดรไลซิสด้วยกรดเจือจางเปลี่ยนน้ำตาลหลายโมเลกุลให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ ผู้วิจัยเสนอให้ศึกษาการหมักไฮโดรไลเซทที่ผ่านวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยกรดเจือจางเพื่อเพิ่มร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลจากปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เพิ่มขึ้น

5.2.3 ในการหมักสารละลายไซโลสความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร พบว่าในช่วงการเจริญแบบทวีคูณของยีสต์ที่เวลาการหมัก 12 ชั่วโมง ยีสต์มีอัตราการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นเอทานอลได้ช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายไซโลสที่ความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 กรัมต่อลิตร ผู้วิจัยเสนอให้เพิ่มปริมาณยีสต์ในการหมักแหล่งคาร์บอนความเข้มข้นสูงเพื่อปรับปรุงผลได้ของเอทานอล

5.2.4 จากการทดลองหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว พบว่ายีสต์ย่อยน้ำตาลไม่หมดภายในระยะเวลาการหมัก 120 ชั่วโมง ผู้วิจัยเสนอให้เพิ่มระยะเวลาในการหมักจนน้ำตาลถูกใช้หมดเพื่ออธิบายผลการหมักและเมทาบอลิซึมของยีสต์ได้อย่างชัดเจน

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. “ศักยภาพพลังงานทดแทน.” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.dede.go.th/ewt_news.php?nid=41272 (สืบค้นเมื่อวันที่ 18 กันยายน 2560)

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. “คู่มือการพัฒนาและการลงทุนผลิตพลังงานทดแทน เชื้อเพลิงเอทานอล.” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: webkc.dede.go.th/webmax/sites/default/files/เชื้อเพลิง%20เอทานอล.pdf (สืบค้นเมื่อวันที่ 18 กันยายน 2560)

“การสลายสารอาหารระดับเซลล์” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.bs.ac.th/2548/e_bs/G3/sumalee2/page.htm (สืบค้นเมื่อวันที่ 1 ตุลาคม 2560)

“การหมักเอทานอลจากน้ำตาลไซโลส(Bioethanol from xylose)” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://omnimicrobes.wordpress.com/2013/08/24/การหมักเอทานอลจากน้ำตาล/> (สืบค้นเมื่อวันที่ 1 ตุลาคม 2560)

รัชพล พวงศรีรัตน์. “กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส.” *Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University*. 2,2558: 143-157.

เฉลิม เรื่องวิริยะชัย. “ไบโอเอทานอล (ลิกโนเซลลูโลสเอทานอล) จากต้นมันสำปะหลัง.” *Energy Plus กระทรวงพลังงาน*. 33,2555: 22-23.

อรุณ ชาญชัยเขาวีวัฒน์. *ยีสต์และเทคโนโลยีของยีสต์*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : ก้าวไทยแอดเวอร์ไทซิ่ง, 2558.

สาวิตรี ลีมหอง. *ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2549.

J.N. Nigam. “Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*.” *Journal of Biotechnology*, vol. 87,2001. pp. 17-27.

Frank K. Agbogbo, Guiiermo Coward-Kelly, Mads Torry-Smith, Kevin S. Wenger. “Fermentation of glucose/xylose mixtures using *Pichia stipitis*.” *Process Biochemistry*, Vol. 41, 2006. pp.2333-2336.

Mujan telli-Okur, Nurdan Eken-Saracoglu. “Fermentation of sunflower seed hull hydrolysate to ethanol by *Pichia stipitis*.” *Biosource technology*, Vol. 99, 2008. pp. 2162-2169.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Wen-Heng Chen, Ting-Shiang Lin, Gia-Leun Guo, Wen-Song Huang. "Ethanol production from rice straw hydrolysates by *Pichia stipitis*." *Energy Procedia*, vol. 14, 2012. pp. 1261-1266.
- Hamidimotlagh Rouhollah, Nahvi Iraj, Emtiazi Giti and Abedinifar Sorah. "Mixed sugar fermentation by *Pichia stipitis*, *Sacharomyces cerevisiaea*, and an isolated xylose fermenting *Kluyveromyces marxianus* and their cocultures." *African Journal of Biotechnology*, Vol. 6, 2007. pp. 1110-1114.
- Darrel Sarvesh Naidu, Shanganyane Percy Hlangothi, Maya Jacob john. "Bio-based products from xylan: A review." *Carbohydrate polymers*, Vol. 179, 2018. pp. 28-41.
- H. Zabed, J.N. Sahu, A.N. Boyce, G. Faruq. "Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: An overview on feedstocks and technological approaches." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 66, 2016. pp. 751-774.
- F.M. Girio, C. Fonseca, F. Carvalheiro, L.C. Duarte, S. Marques, R. Bogel-Lukasik. "Hemicelluloses for fuel ethanol: A review." *Biosource technology*, Vol. 101, 2010. pp. 4775-4800.
- Siti Hajar Mohd Azhar, Rahmath Abdulla, Siti Azmah Jambo, Hartinie Marbawi, Jualang Azlan Gansau, Ainol Azifa mohd Faik, Kenneth Francis Rodrigues. "Yeasts in sustainable bioethanol production: A review." *Biochemistry and Biophysics Reports*, Vol. 10, 2017. pp.52-61.
- McMillan, J.D. "Xylose fermentation to ethanol: A review." Publish by NREL. ISBN.B0006QLMFU. (<http://www.nrel.gov>), 1993.
- Barbel Hahn-Hagerdal, Kaisa Karhumaa, Cesar Fonseca, Isabel Spencer-Martins, Marie F. Gorwa-Grauslund. "Towards industrial pentose-fermenting yeast strains." *Appl Microbial Biotechnol*, 74, 2007. pp.937-953
- Anubhuti Gupta, Jay Prakash Verma. "Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 2015. pp.550-567.
- Carolina Bellido, Silvia Bolado, Monica Coca, Susana Lucas, Gerado Gonzalez-Benito, Maria Teresa Garcia-Cubero. "Effect of inhibitors formed during wheat straw pretreatment on ethanol fermentation by *Pichia stipitis*." *Biosource technology*, 102, 2011. pp.10868-10874.

Jun-Jun Zhu, Qiang Yong, omg Xu, Shang-Xing Chen, Shi-Yuan Yu. "Adaptation fermentation of *Pichia stipitis*." *Natural Science*, 1, 2009. pp.47-54.

Peter Richard, Ritva Verho, Mikko Putkonen, John Londesborough, Merja Penttila. "Production of ethanol from L-arabinose by *Saccharomyces cerevisiae* containing a fungal arabinose pathway." *FEMS Yeast Research*, 3, 2003. pp.185-189

Joao Paulo A. Silva, Solange I. Mussatto, Ines C. Roberto, Jose A. Teixeira. "Fermentation medium and oxygen transfer conditions that maximize the xylose conversion to ethanol by *Pichia stipitis*." *Renewable Energy*, 37, 2012. pp.259-265.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การคำนวณ

1. การคำนวณค่าร้อยละผลได้ทางทฤษฎีของการหมักด้วยยีสต์

จากสมการที่ 2.1 การเปลี่ยนกลูโคสเป็นเอทานอลของยีสต์



มวลโมเลกุลของเอทานอล = 46 กรัมต่อโมล

มวลโมเลกุลของกลูโคส = 180 กรัมต่อโมล

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ร้อยละผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี} &= (2\text{Ethanol} / \text{Glucose}) \times 100 \\ &= (2 \times 46 / 180) \times 100 \\ &= 51.11 \% \end{aligned}$$

จากสมการที่ 2.2 การเปลี่ยนไซโลสเป็นเอทานอลของยีสต์

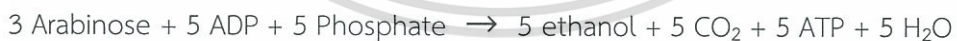


มวลโมเลกุลของเอทานอล = 46 กรัมต่อโมล

มวลโมเลกุลของไซโลส = 150 กรัมต่อโมล

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ร้อยละผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี} &= (5\text{Ethanol} / 3\text{Xylose}) \times 100 \\ &= (5 \times 46 / 3 \times 150) \times 100 \\ &= 51.11 \% \end{aligned}$$

จากสมการที่ 2.3 การเปลี่ยนอะราบินโนสเป็นเอทานอลของยีสต์



มวลโมเลกุลของเอทานอล = 46 กรัมต่อโมล

มวลโมเลกุลของอะราบินโนส = 150 กรัมต่อโมล

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ร้อยละผลได้ของเอทานอลทางทฤษฎี} &= (5\text{Ethanol} / 3\text{Arabinose}) \times 100 \\ &= (5 \times 46 / 3 \times 150) \times 100 \\ &= 51.11 \% \end{aligned}$$

2. การคำนวณค่าร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล และร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี

$$\text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล} = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้}}{\text{ความเข้มข้นของไซโลสที่เวลาเริ่มต้น}} \times 100$$

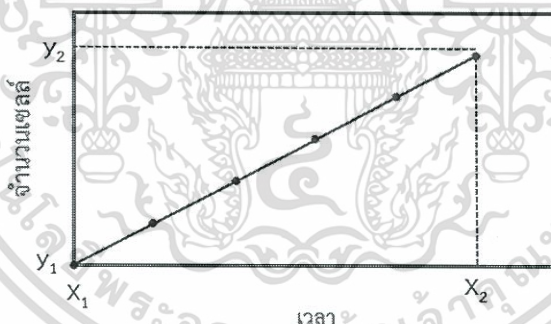
$$\text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี} = \frac{\text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล}}{\text{ร้อยละผลได้โดยมวลทางทฤษฎี}} \times 100$$

ตัวอย่าง หมักสารละลายน้ำตาลไซโลสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร จากผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง) มีไซตลสความเข้มข้น 19.52 กรัมต่อลิตร หลังจากการหมักเป็นเวลา 120 ชั่วโมง เกิดเอทานอลความเข้มข้น 5.54 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล} &= (5.54 / 19.52) \times 100 \\ &= 28.38 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี} &= (5.54 / 0.51 \times 19.52) \times 100 \\ &= 55.64 \% \end{aligned}$$

3. การคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์



ระยะการแบ่งตัวของแบบทวีคูณจะเป็นระยะที่จุลินทรีย์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วในอัตราที่คงที่ การแบ่งเซลล์แต่ละครั้งจะระยะเวลาเท่าๆกัน โดยที่อัตราการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์จะแปรผันตามความเข้มข้นของเซลล์ในขณะนั้น ดังความสัมพันธ์

$$\frac{dy}{dx} \propto y$$

เมื่ออินทิเกรตสมการข้างต้นจะได้

$$\int_{y_1}^{y_2} \frac{dy}{y} = \int_{x_1}^{x_2} \mu dx$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\ln y_2 - \ln y_1 = \mu (x_2 - x_1)$$

ที่ $X_1 = 0$ วินาที

$$\ln (y_2/y_1) = \mu (x_2 - 0)$$

จะได้สมการการเจริญของยีสต์ในระยะทวีคูณ ดังนี้

$$y_2 = y_1 e^{\mu x}$$

4. การคำนวณหาร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีจากสมการอย่างง่ายในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับผลได้ทางทฤษฎีจากการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และการหาปริมาณเอทานอลที่ได้จากสมการอย่างง่าย

จากหัวข้อ 4.4 สามารถหาสมการอย่างง่ายจากการสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีได้สมการอย่างง่ายในการทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีเป็นดังสมการที่ 4.1 - 4.4 ดังนี้

1. สารละลายน้ำตาลไซโลสจะได้สมการเป็น

$$y = -0.0207x^3 + 0.7798x^2 - 10.309x + 115.82 \quad (4.1)$$

2. สารละลายน้ำตาลอะราบินอสจะได้สมการการทำนายแบ่งออกเป็น 2 ช่วง
ช่วงแรก

$$y = 1.3457x^2 - 22.489x + 107.39 \quad (4.2)$$

ช่วงที่สอง

$$y = -0.6464x + 26.464 \quad (4.3)$$

3. สารละลายน้ำตาลกลูโคสจะได้สมการเป็น

$$y = -0.0954x^2 + 3.4797x + 41.879 \quad (4.4)$$

ตัวอย่าง การหาร้อยละผลได้โดยมวลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย

วิธีทำ จากการทดลองหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อยพบว่าได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบที่เวลาเริ่มต้นประกอบไปด้วย ไซโลส, อะราบินอส และกลูโคส 2.3860, 0.6862 และ 1.1710 กรัมต่อลิตร ตามลำดับนำความเข้มข้นของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปแทนค่าในสมการอย่างง่ายสมการที่ 4.1 - 4.4 ข้างต้นเพื่อทำนายร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎีที่เกิดขึ้น จะได้

ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี

ไซโลส 95.38, อะราบินอส 92.58 และกลูโคส 45.82

ตัวอย่าง การหาปริมาณเอทานอลที่ได้จากสมการอย่างง่าย

จากการคำนวณหาร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอลเทียบกับทฤษฎี

จากความสัมพันธ์ข้างต้นจะหาปริมาณเอทานอลได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้} = \frac{\text{ร้อยละผลได้โดยมวลของเอทานอล}}{\text{เทียบกับทฤษฎีจากสมการทำนาย}} \times 0.51 \times \text{ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น}$$

หาปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว

1. น้ำตาลไซโลส

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณเอทานอล} &= (95.38 / 100) \times 0.51 \times 2.3860 \\ &= 1.161 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

2. น้ำตาลอะราบินอส

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณเอทานอล} &= (92.58 / 100) \times 0.51 \times 0.6862 \\ &= 0.324 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

3. น้ำตาลกลูโคส

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณเอทานอล} &= (45.82 / 100) \times 0.51 \times 1.1710 \\ &= 0.274 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

ดังนั้น ปริมาณเอทานอลที่ได้จากสมการทำนาย = 1.161 + 0.324 + 0.274 = 1.759 กรัมต่อลิตร

เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการทดลองหมักไฮโดรไลเซตจากชานอ้อยกับปริมาณเอทานอลที่ได้จากสมการทำนาย จะได้ว่า

ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการทดลองหมักไฮโดรไลเซตจากชานอ้อย 1.135 กรัมต่อลิตร

ปริมาณเอทานอลที่ได้จากสมการ 1.759 กรัมต่อลิตร

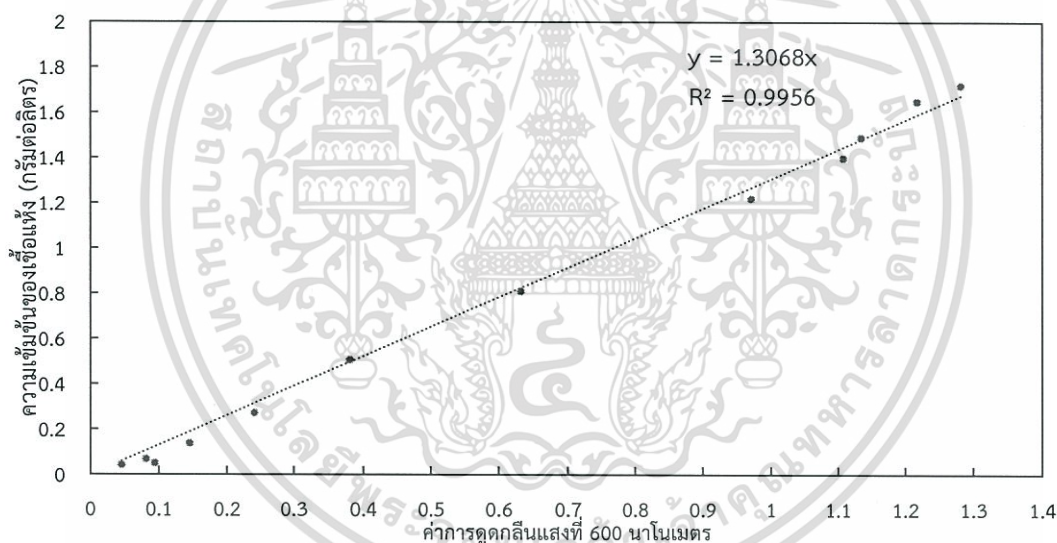
$$(1.135 / 1.759) \times 100 = 64.54 \%$$

ภาคผนวก ข

ข้อมูลดิบ

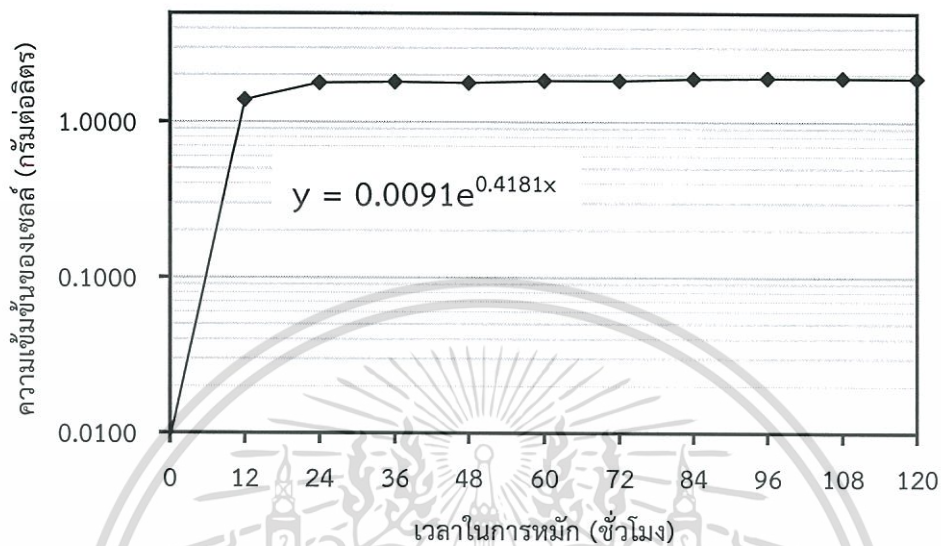
1. กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเชื้อแห้งกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

จากหัวข้อ 3.4 เป็นการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณของเซลล์ยีสต์แห้ง เมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เจือจางด้วยอาหารเหลวทำให้เซลล์ยีสต์แห้งมีความเข้มข้นต่างกัน จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และหาน้ำหนักของเซลล์ยีสต์แห้งโดยกรองและอบแห้ง สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และค่าการดูดกลืนแสง พบว่าได้กราฟเส้นตรงที่มีสมการ $y = 1.3068x$ ดังรูป ข.1

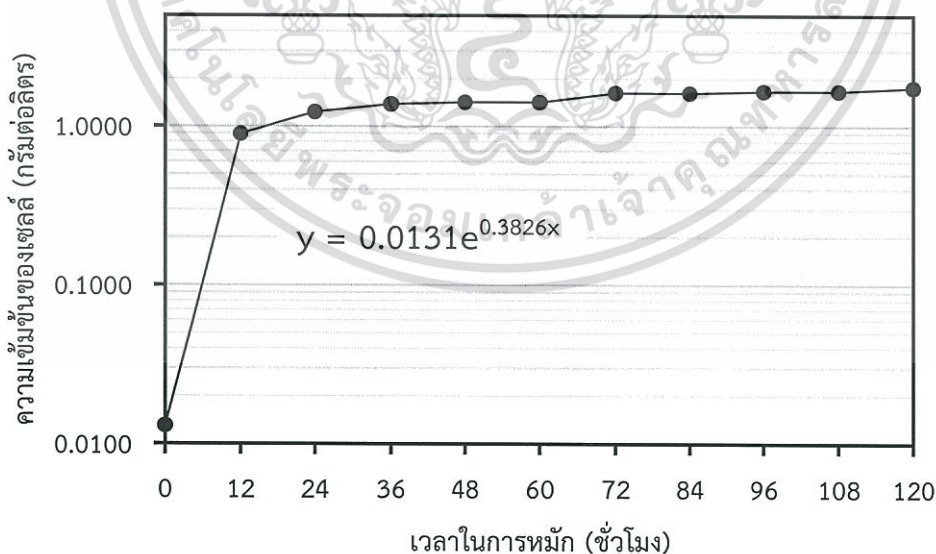


รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

2. กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนต่างๆที่ใช้ในการหมัก

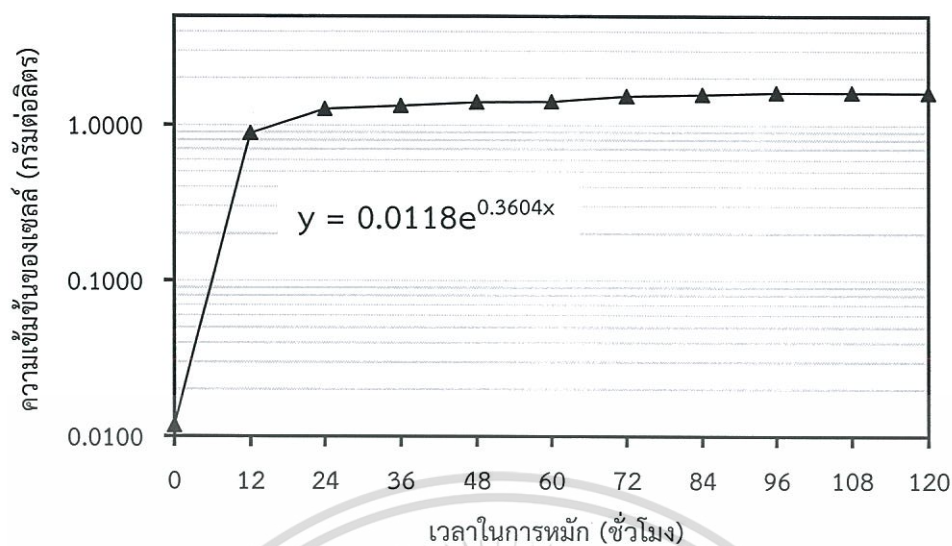


รูปที่ ข.2 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

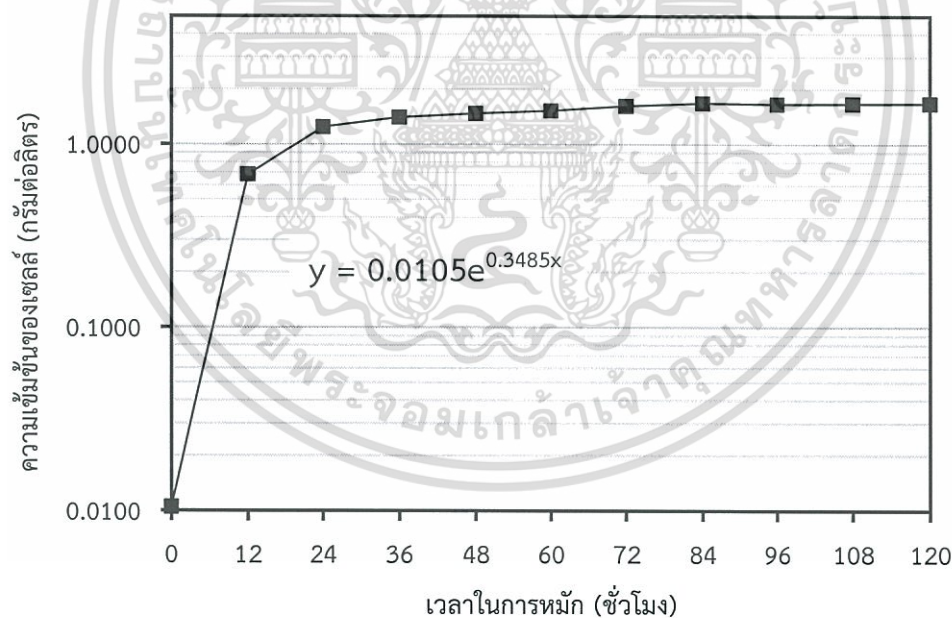


รูปที่ ข.3 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายไซโลสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

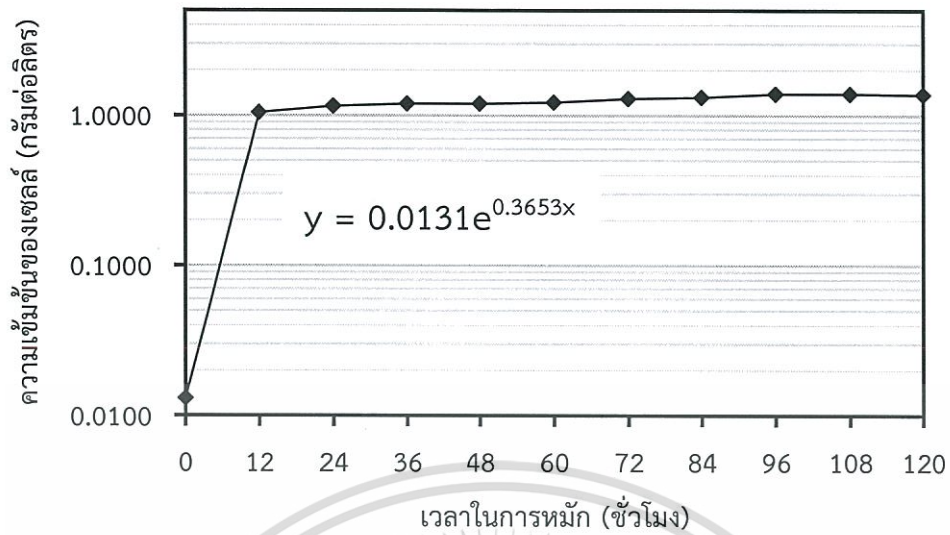


รูปที่ ข.4 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายโซลอสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร

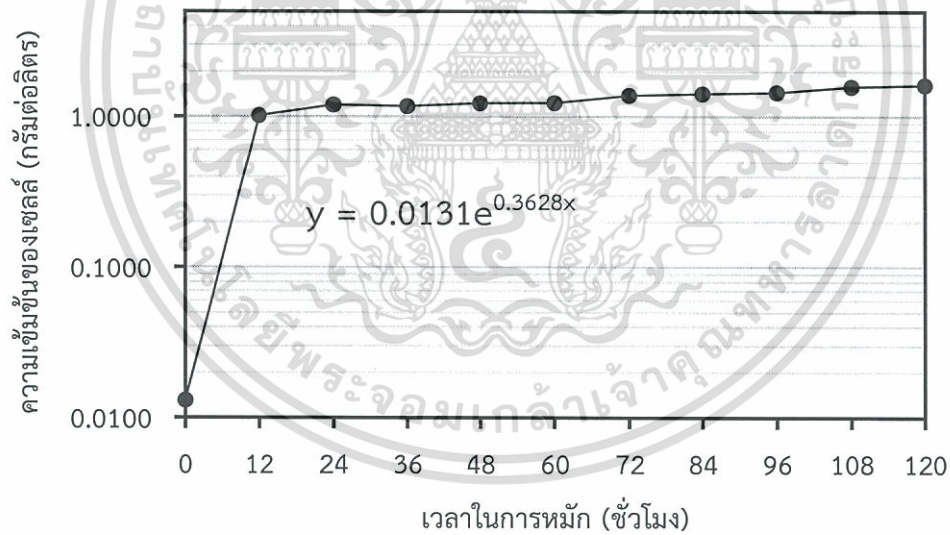


รูปที่ ข.5 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายโซลอสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

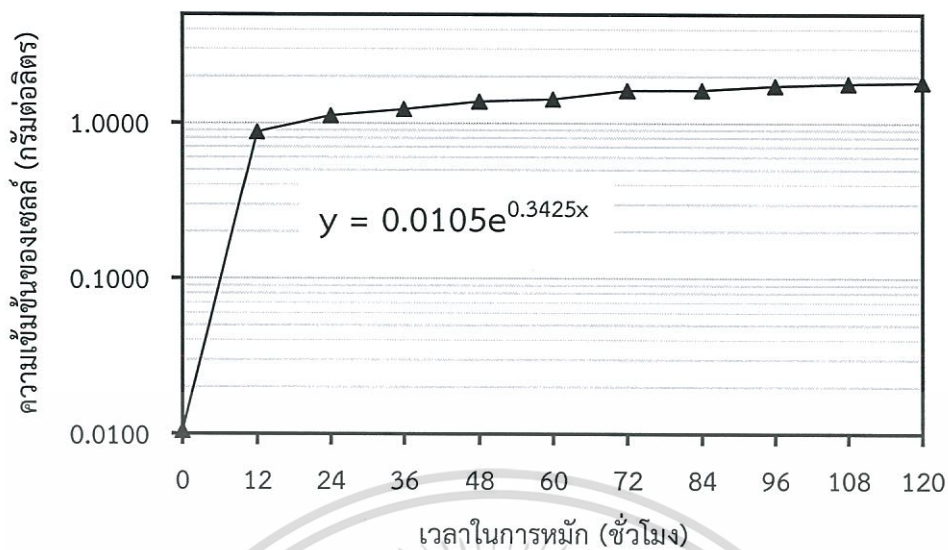


รูปที่ ข.6 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลลูโลสแห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบินอสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

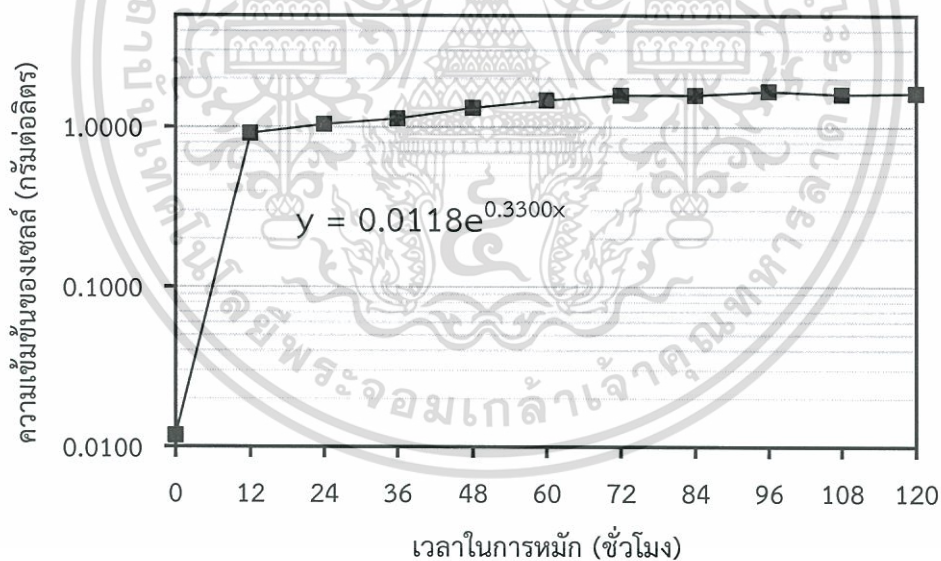


รูปที่ ข.7 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลลูโลสแห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบินอสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

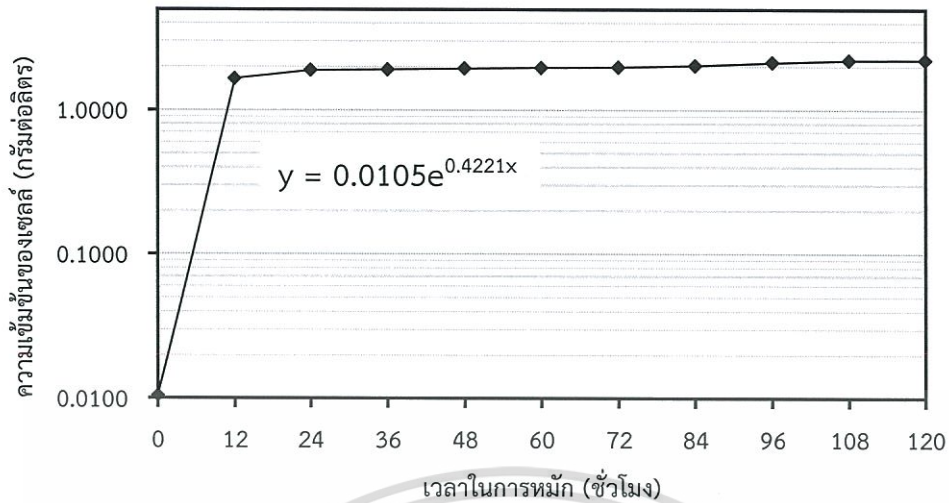


รูปที่ ข.8 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร

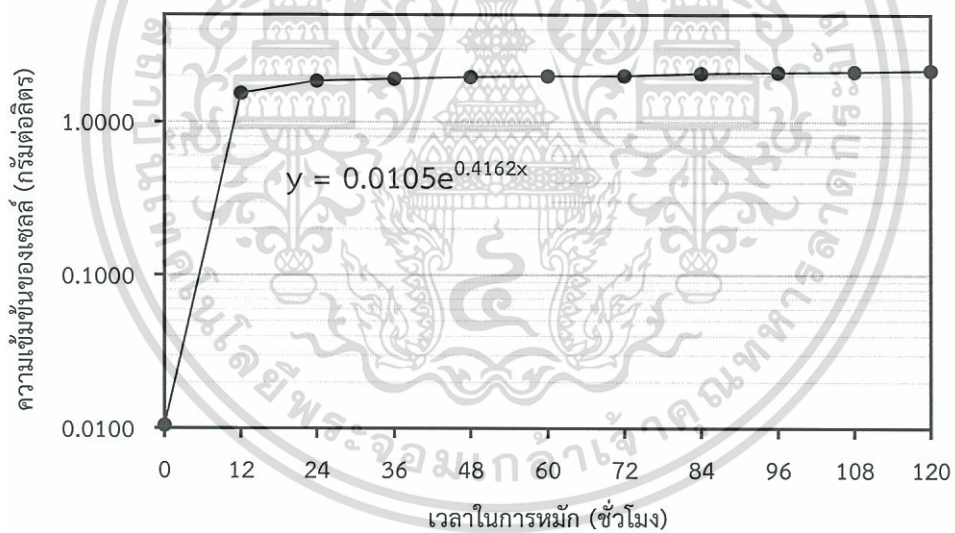


รูปที่ ข.9 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

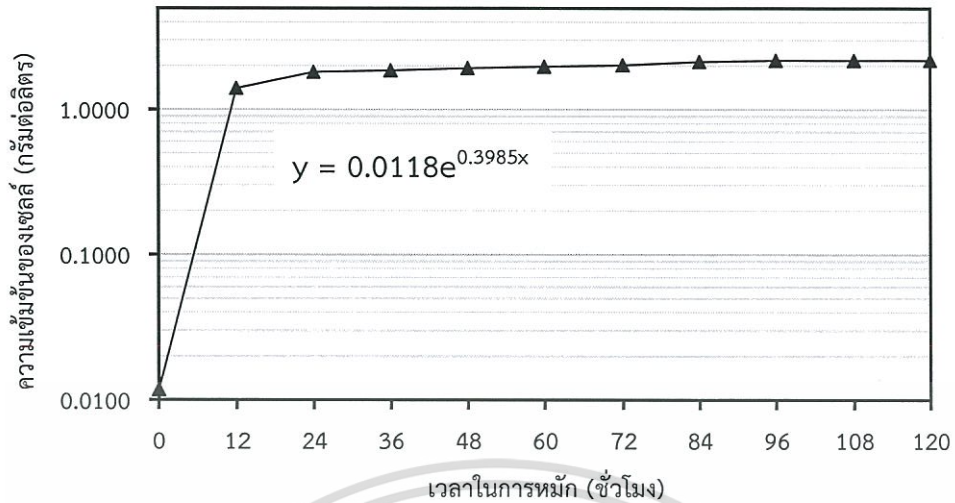


รูปที่ ข.10 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลลูโลสแห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

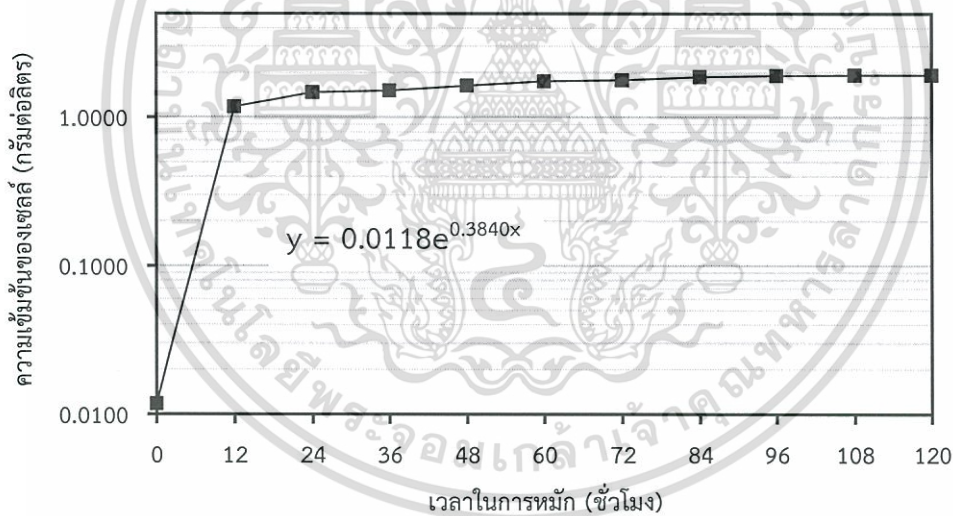


รูปที่ ข.11 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลลูโลสแห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

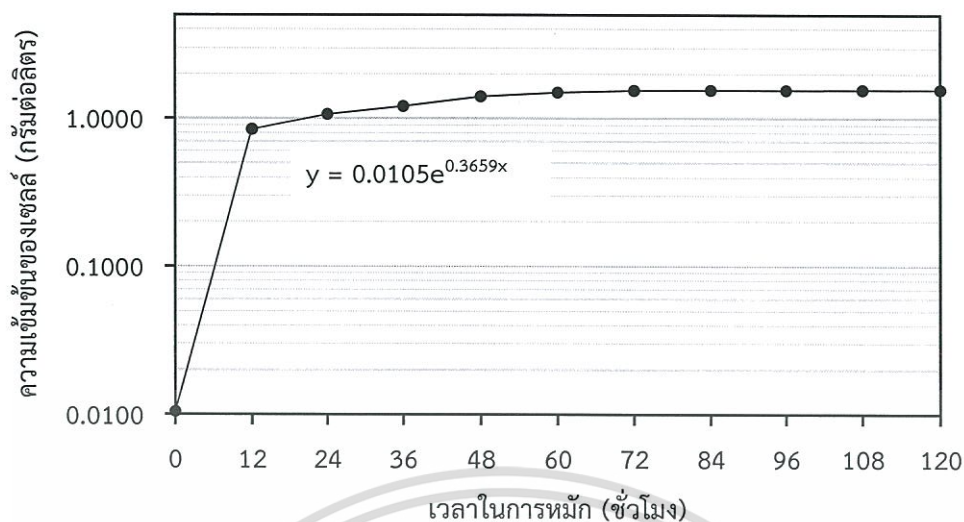


รูปที่ ข.12 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร

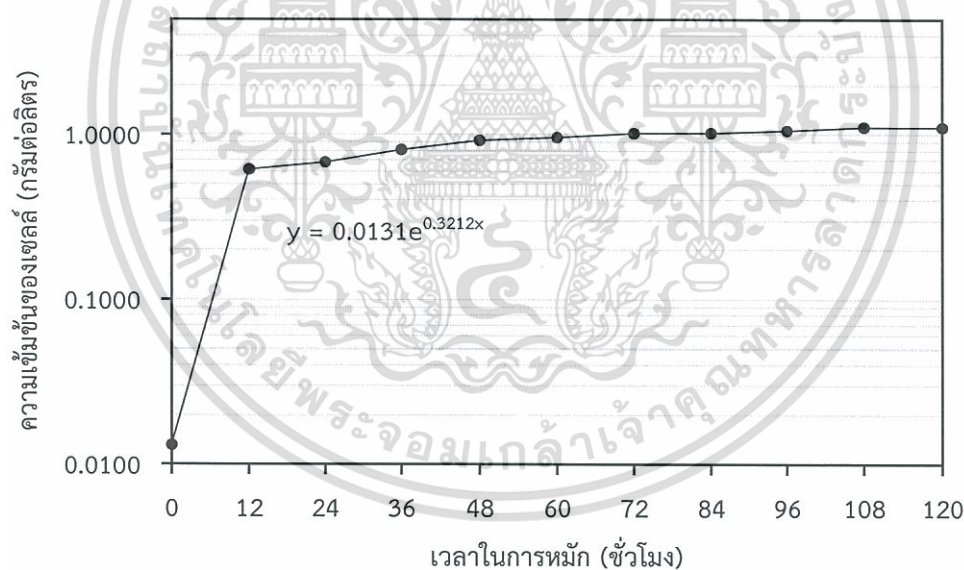


รูปที่ ข.13 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.14 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สารละลายน้ำตาลโมลกุลเดี่ยวผสม

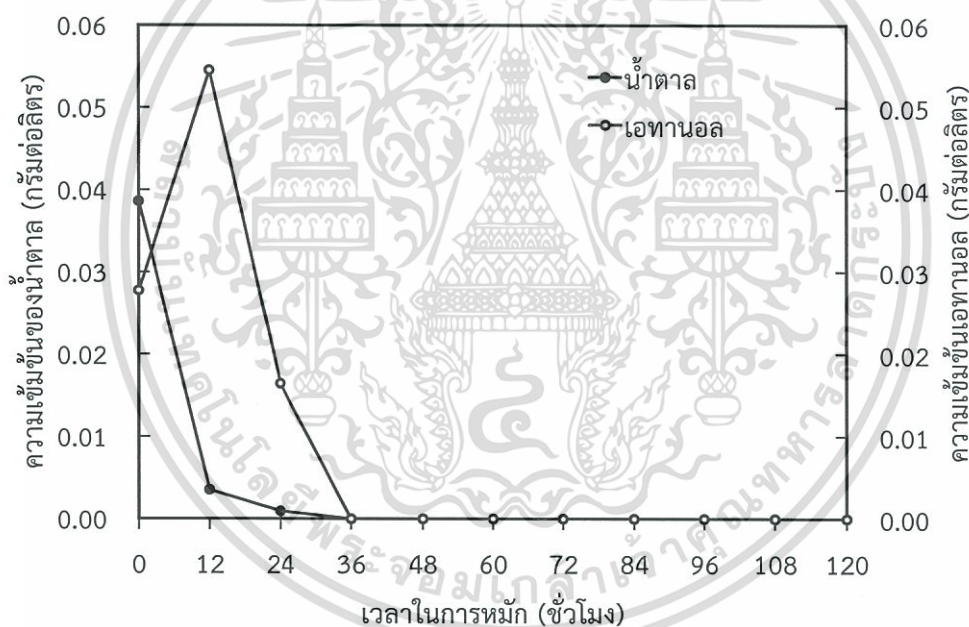


รูปที่ ข.15 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ไฮโดรไลเซตจากชานอ้อย

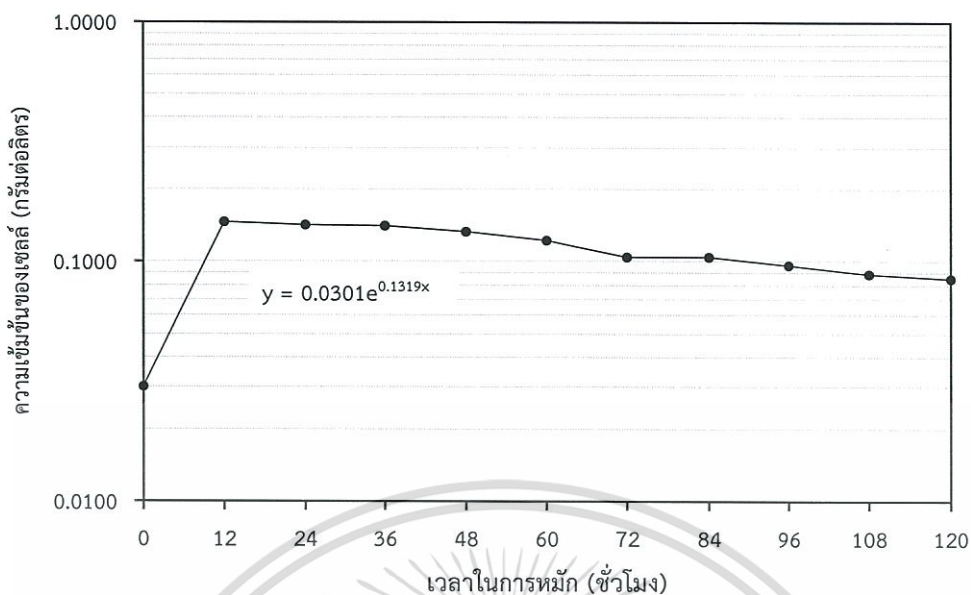
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การหมักสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน

จากกราฟรูปที่ ข.16 แสดงปริมาณน้ำตาลและเอทานอลในการหมักสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนในการหมักจะใช้น้ำเปล่าจากการทดลองหมักพบว่าในสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนพบว่ามีปริมาณน้ำตาลจะลดลงอย่างรวดเร็วและยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดที่เวลาการหมัก 12 ชั่วโมงจากนั้นปริมาณเอทานอลและปริมาณน้ำตาลลดลงจนเป็นศูนย์น้ำตาลที่ยีสต์ใช้ในการผลิตเอทานอลในช่วง 12 ชั่วโมงแรกมาจากอาหารเหลวที่ใช้ในการเลี้ยงยีสต์ให้โต 1 วันก่อนทำการทดลองหมักในอาหารเหลวประกอบไปด้วย ยีสต์สกัด มอลต์สกัด เปปโตน และกลูโคส ยีสต์จะใช้กลูโคสและน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในมอลต์สกัดได้แก่ มอลโทส ซูโครสและฟรุคโทส เป็นแหล่งแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตและยีสต์ผลิตเอทานอลขึ้นในช่วงที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวสังเกตได้จากที่เวลาการหมักเริ่มต้น 0 ชั่วโมงมีเอทานอลเกิดขึ้น ในการหมักสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนเพื่อปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นซึ่งมาจากเหตุผลที่ได้กล่าวไปข้างต้น

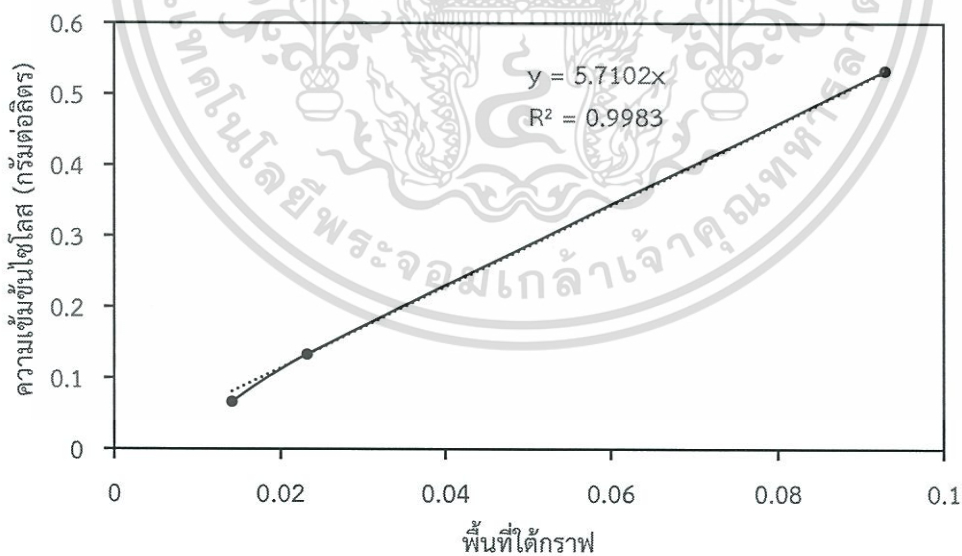


รูปที่ ข.16 ปริมาณน้ำตาลและเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาในการหมักสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน



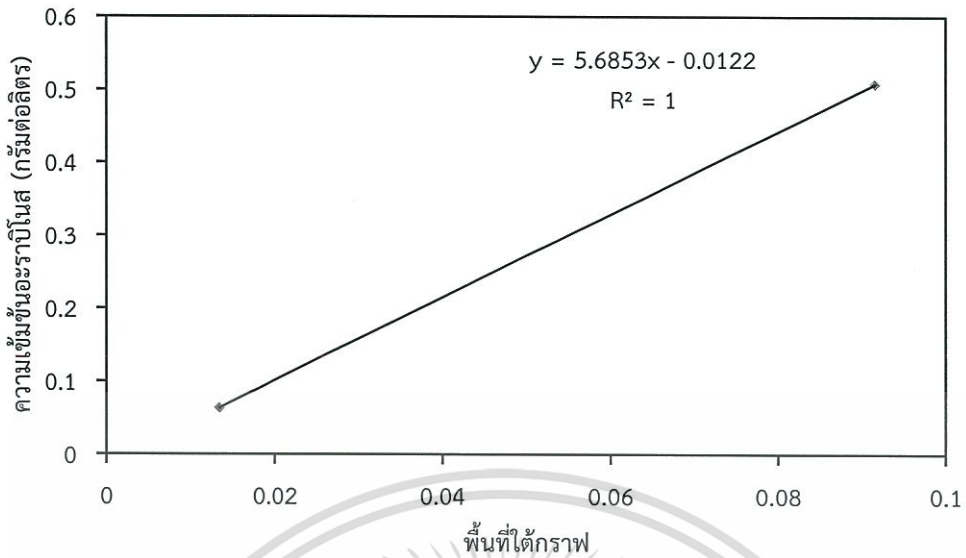
รูปที่ ข.17 กราฟระหว่างลอการิทึมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์แห้งและเวลาในการหมักของสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน

4. กราฟมาตรฐานพื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมกับความเข้มข้นของไซโลส อะราบิโนส กลูโคส และเอทานอล

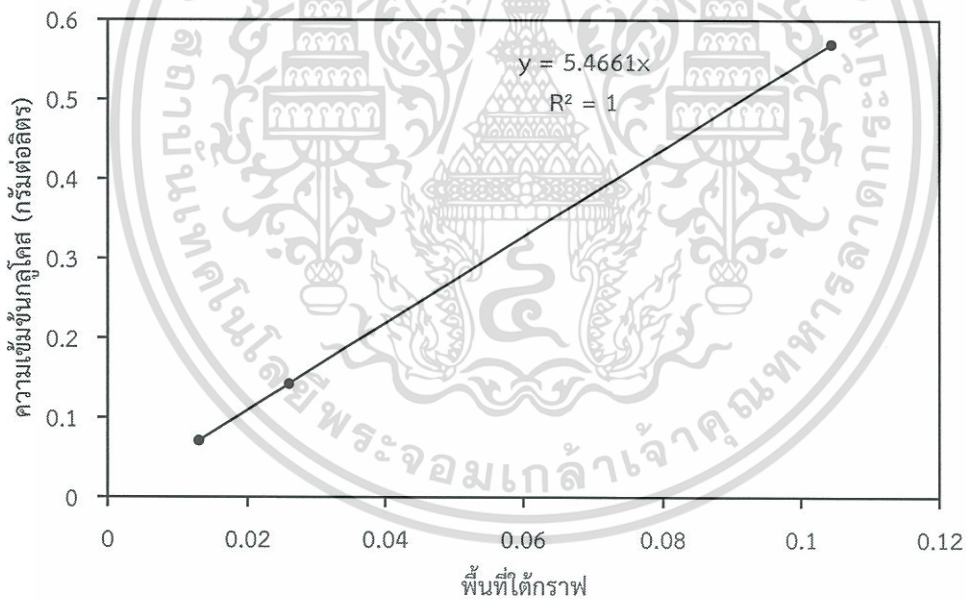


รูปที่ ข.18 กราฟมาตรฐานพื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

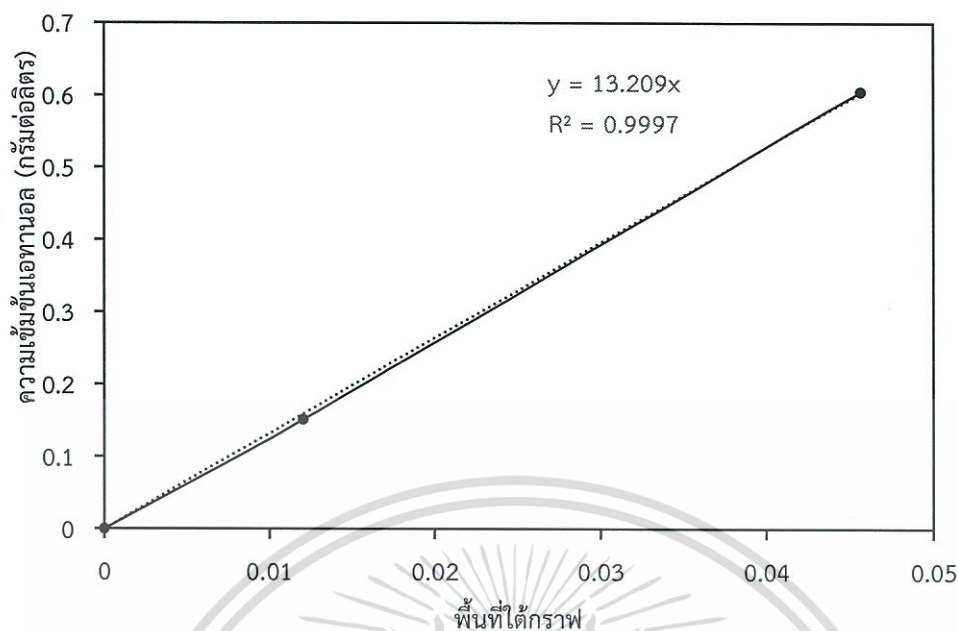


รูปที่ ข.19 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของอะราบิโนส



รูปที่ ข.20 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.21 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของเอทานอล

5.พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม

ตารางที่ ข.1 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายไซโลสในการหมักต่างกัน

| แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมัก | เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|--|-------------------------|--|---------|---------------------------|---------|
| | | ไซโลส | เอทานอล | ไซโลส | เอทานอล |
| สารละลายไซโลสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 191753 | 7531 | 1.0949 | 0.0955 |
| | 12 | 112401 | 19449 | 0.6418 | 0.2569 |
| | 24 | 39246 | 35169 | 0.2241 | 0.4645 |
| | 36 | 24422 | 44923 | 0.1966 | 0.5934 |
| | 48 | 22197 | 44917 | 0.1267 | 0.5933 |
| | 60 | 15439 | 44905 | 0.0882 | 0.5932 |
| | 72 | 14277 | 43582 | 0.0815 | 0.5757 |
| | 84 | 13501 | 42872 | 0.0771 | 0.5663 |
| | 96 | 11434 | 34830 | 0.0653 | 0.4601 |
| | 108 | 11116 | 34672 | 0.0635 | 0.4580 |
| | 120 | 9866 | 29166 | 0.0563 | 0.3853 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายไซโลสในการหมักต่างกัน (ต่อ)

| แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมัก | เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|---|-------------------------|--|---------|---------------------------|---------|
| | | ไซโลส | เอทานอล | ไซโลส | เอทานอล |
| สารละลายไซโลสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 863846 | 12779 | 4.9327 | 0.1688 |
| | 12 | 766208 | 14311 | 4.3752 | 0.1890 |
| | 24 | 503802 | 55715 | 2.8768 | 0.7359 |
| | 36 | 317207 | 105941 | 1.8113 | 1.3994 |
| | 48 | 199945 | 138348 | 1.1417 | 1.8274 |
| | 60 | 68777 | 154618 | 0.3927 | 2.0423 |
| | 72 | 39301 | 149009 | 0.2244 | 1.9683 |
| | 84 | 34176 | 143196 | 0.1952 | 1.8915 |
| | 96 | 32751 | 142115 | 0.1870 | 1.8772 |
| | 108 | 23699 | 138306 | 0.1353 | 1.8269 |
| | 120 | 15950 | 143611 | 0.0911 | 1.8970 |
| สารละลายไซโลสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 1711600 | 19485 | 9.7736 | 0.2574 |
| | 12 | 1510293 | 22945 | 8.6241 | 0.3031 |
| | 24 | 1165444 | 83572 | 6.6549 | 1.1039 |
| | 36 | 917197 | 142570 | 5.2373 | 1.8832 |
| | 48 | 768146 | 167687 | 4.3863 | 2.2149 |
| | 60 | 624227 | 194131 | 3.5645 | 2.5643 |
| | 72 | 539267 | 219424 | 3.0793 | 2.8984 |
| | 84 | 446272 | 235691 | 2.5483 | 3.1132 |
| | 96 | 377853 | 247797 | 2.1576 | 3.2732 |
| | 108 | 331232 | 259021 | 1.8914 | 3.4214 |
| | 120 | 323817 | 264090 | 1.8491 | 3.4884 |
| สารละลายไซโลสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 3151177 | 20704 | 17.9939 | 0.2650 |
| | 12 | 3027728 | 48173 | 17.2861 | 0.6166 |
| | 24 | 2622157 | 107973 | 14.9730 | 1.3821 |
| | 36 | 2170193 | 194250 | 12.3922 | 2.4864 |
| | 48 | 1904292 | 238476 | 10.8739 | 3.0525 |
| | 60 | 1685256 | 280668 | 9.6231 | 3.5926 |
| | 72 | 1524498 | 313589 | 8.7052 | 4.0139 |
| | 84 | 1340031 | 332334 | 7.6518 | 2.2539 |
| | 96 | 1252928 | 362045 | 7.1545 | 4.6342 |
| | 108 | 1155748 | 379352 | 6.5996 | 4.8557 |
| | 120 | 1103065 | 399279 | 6.2987 | 5.1108 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายอะราบินอสในการหมัก
ต่างกัน

| แหล่งคาร์บอนที่ ใช้ในการหมัก | เวลาใน การหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|--|--|---|---------|------------------------------|---------|
| | | อะราบินอส | เอทานอล | อะราบินอส | เอทานอล |
| สารละลายอะราบิน โนสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 194512 | 8531 | 1.1059 | 0.1127 |
| | 12 | 131324 | 30789 | 0.7466 | 0.4067 |
| | 24 | 122864 | 34499 | 0.6985 | 0.4557 |
| | 36 | 118408 | 36829 | 0.6732 | 0.4865 |
| | 48 | 116260 | 33296 | 0.6610 | 0.4398 |
| | 60 | 109161 | 29805 | 0.6206 | 0.3937 |
| | 72 | 105782 | 27895 | 0.6014 | 0.3685 |
| | 84 | 95923 | 26532 | 0.5454 | 0.3505 |
| | 96 | 91526 | 26036 | 0.5204 | 0.3439 |
| | 108 | 84649 | 18748 | 0.4813 | 0.2476 |
| | 120 | 67093 | 10963 | 0.3814 | 0.1448 |
| | สารละลายอะราบิน โนสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 819252 | 15266 | 4.6577 |
| 12 | | 777103 | 30458 | 4.4181 | 0.4023 |
| 24 | | 714772 | 43617 | 4.0637 | 0.5761 |
| 36 | | 681948 | 43416 | 3.8771 | 0.5735 |
| 48 | | 663543 | 41898 | 3.7724 | 0.5534 |
| 60 | | 649775 | 51427 | 3.6942 | 0.6793 |
| 72 | | 643325 | 35845 | 3.6575 | 0.4735 |
| 84 | | 634007 | 33887 | 3.6045 | 0.4476 |
| 96 | | 616693 | 30574 | 3.5061 | 0.4039 |
| 108 | | 439893 | 27391 | 2.5009 | 0.3618 |
| 120 | | 169185 | 21519 | 0.9619 | 0.2842 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายอะราบีโนสในการหมัก
ต่างกัน (ต่อ)

| แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมัก | เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|---|---|--|---------|---------------------------|---------|
| | | อะราบีโนส | เอทานอล | อะราบีโนส | เอทานอล |
| สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 1620489 | 24513 | 9.2130 | 0.3238 |
| | 12 | 1579688 | 22556 | 8.9810 | 0.2979 |
| | 24 | 1491196 | 29790 | 8.4779 | 0.3935 |
| | 36 | 1423136 | 40524 | 8.0910 | 0.5353 |
| | 48 | 1380480 | 60717 | 7.8484 | 0.8020 |
| | 60 | 1281558 | 38090 | 7.2860 | 0.5031 |
| | 72 | 1267430 | 37962 | 7.2057 | 0.5014 |
| | 84 | 1179573 | 32536 | 6.7062 | 0.4298 |
| | 96 | 1117741 | 25905 | 6.3547 | 0.3422 |
| | 108 | 962208 | 8990 | 5.4704 | 0.1187 |
| | 120 | 874113 | 8373 | 4.9696 | 0.1106 |
| | สารละลายอะราบีโนสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 3197282 | 15945 | 18.1775 |
| 12 | | 3085038 | 35107 | 17.5394 | 0.4637 |
| 24 | | 2977342 | 44243 | 16.9271 | 0.5844 |
| 36 | | 2910477 | 44556 | 16.5469 | 0.5885 |
| 48 | | 2847727 | 43810 | 16.1902 | 0.5787 |
| 60 | | 2357334 | 68201 | 13.4022 | 0.9009 |
| 72 | | 2140817 | 79341 | 12.1712 | 1.0480 |
| 84 | | 1635217 | 105962 | 9.2967 | 1.3997 |
| 96 | | 1450382 | 104898 | 8.2459 | 1.3856 |
| 108 | | 1346739 | 107608 | 7.6566 | 1.4214 |
| 120 | | 1323232 | 108331 | 7.5230 | 1.4309 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสในการหมักต่างกัน

| แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมัก | เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|---|---|--|---------|---------------------------|---------|
| | | กลูโคส | เอทานอล | กลูโคส | เอทานอล |
| สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 158306 | 4589 | 0.8653 | 0.0654 |
| | 12 | 63270 | 7312 | 0.3458 | 0.1042 |
| | 24 | 48213 | 9048 | 0.2635 | 0.1289 |
| | 36 | 47324 | 9208 | 0.2587 | 0.1312 |
| | 48 | 43717 | 9704 | 0.2390 | 0.1383 |
| | 60 | 41791 | 9976 | 0.2284 | 0.1422 |
| | 72 | 36861 | 14313 | 0.2015 | 0.2040 |
| | 84 | 36489 | 12843 | 0.1995 | 0.1830 |
| | 96 | 35888 | 12654 | 0.1962 | 0.1803 |
| | 108 | 32110 | 11739 | 0.1755 | 0.1673 |
| | 120 | 17318 | 11568 | 0.0947 | 0.1648 |
| | สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 919427 | 14665 | 5.0257 |
| 12 | | 618212 | 14111 | 3.3792 | 0.2011 |
| 24 | | 373118 | 21582 | 2.0395 | 0.3075 |
| 36 | | 263631 | 29828 | 1.4410 | 0.4250 |
| 48 | | 184490 | 42351 | 1.0084 | 0.6035 |
| 60 | | 63360 | 62476 | 0.3463 | 0.8903 |
| 72 | | 60206 | 78492 | 0.3291 | 1.1185 |
| 84 | | 38490 | 98375 | 0.2104 | 1.4018 |
| 96 | | 29479 | 88708 | 0.1611 | 1.2641 |
| 108 | | 21052 | 89691 | 0.1151 | 1.2781 |
| 120 | | 19998 | 81171 | 0.1093 | 1.1567 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสในการหมักต่างกัน
(ต่อ)

| แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมัก | เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|--|--|--|---------|---------------------------|---------|
| | | กลูโคส | เอทานอล | กลูโคส | เอทานอล |
| สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 1776336 | 26584 | 9.7096 | 0.3788 |
| | 12 | 1461891 | 27308 | 7.9908 | 0.3891 |
| | 24 | 1254023 | 30847 | 6.8546 | 0.4396 |
| | 36 | 1117918 | 38159 | 6.1107 | 0.5438 |
| | 48 | 1032958 | 41468 | 5.6463 | 0.5909 |
| | 60 | 845302 | 64896 | 4.6205 | 0.9248 |
| | 72 | 803806 | 59643 | 4.3937 | 0.8499 |
| | 84 | 192281 | 193588 | 1.0510 | 2.7586 |
| | 96 | 94136 | 223348 | 0.5146 | 3.1827 |
| | 108 | 84075 | 232769 | 0.4596 | 3.3170 |
| | 120 | 43296 | 238451 | 0.2367 | 3.3979 |
| | สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร | 0 | 3258245 | 22051 | 17.8099 |
| 12 | | 3034713 | 21409 | 16.5880 | 0.3051 |
| 24 | | 2895843 | 28976 | 15.8290 | 0.4129 |
| 36 | | 2848378 | 30682 | 15.5695 | 0.4372 |
| 48 | | 2711660 | 46297 | 14.8222 | 0.6597 |
| 60 | | 2233520 | 140351 | 12.2086 | 2.0000 |
| 72 | | 1855339 | 213805 | 10.1415 | 3.0467 |
| 84 | | 1345601 | 309977 | 7.3552 | 4.4172 |
| 96 | | 1026067 | 378004 | 5.6086 | 5.3866 |
| 108 | | 792125 | 424206 | 4.3298 | 6.0449 |
| 120 | | 610395 | 465949 | 3.3365 | 6.6398 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.4 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในการหมักสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวผสม

| เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|----------------------------|---|-----------|------------------------------|-----------|
| | ไซโลส | อะราบิโนส | ไซโลส | อะราบิโนส |
| 0 | 296521 | 85468 | 1.7150 | 0.4879 |
| 12 | 175035 | 67969 | 1.0123 | 0.3880 |
| 24 | 144246 | 62143 | 0.8343 | 0.3547 |
| 36 | 139313 | 59389 | 0.8057 | 0.3390 |
| 48 | 105580 | 56636 | 0.6106 | 0.3233 |
| 60 | 82814 | 56009 | 0.4790 | 0.3197 |
| 72 | 65706 | 50410 | 0.3800 | 0.2878 |
| 84 | 20000 | 50253 | 0.1157 | 0.2869 |
| 96 | 17496 | 49552 | 0.1012 | 0.2829 |
| 108 | 17330 | 49542 | 0.1002 | 0.2828 |
| 120 | 17141 | 49536 | 0.0991 | 0.2828 |

| เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|----------------------------|---|---------|------------------------------|---------|
| | กลูโคส | เอทานอล | กลูโคส | เอทานอล |
| 0 | 163270 | 1075 | 0.9040 | 0.0162 |
| 12 | 92780 | 7055 | 0.5137 | 0.1061 |
| 24 | 53201 | 15429 | 0.2946 | 0.2319 |
| 36 | 46610 | 28885 | 0.2581 | 0.4342 |
| 48 | 35087 | 39565 | 0.1943 | 0.5948 |
| 60 | 32593 | 47028 | 0.1805 | 0.7070 |
| 72 | 32212 | 47261 | 0.1784 | 0.7105 |
| 84 | 31081 | 58394 | 0.1721 | 0.8778 |
| 96 | 22152 | 81242 | 0.1227 | 1.2213 |
| 108 | 20126 | 82985 | 0.1114 | 1.2475 |
| 120 | 13684 | 84323 | 0.0758 | 1.2676 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.5 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในการหมักไฮโดรไลเซทจากชานอ้อย

| เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|----------------------------|---|-----------|------------------------------|-----------|
| | ไซโลส | อะราบิโนส | ไซโลส | อะราบิโนส |
| 0 | 412554 | 120199 | 2.3860 | 0.6862 |
| 12 | 401004 | 110846 | 2.3192 | 0.6328 |
| 24 | 400690 | 105367 | 2.3174 | 0.6015 |
| 36 | 398126 | 99474 | 2.3026 | 0.5679 |
| 48 | 380339 | 98493 | 2.1997 | 0.5623 |
| 60 | 376291 | 89365 | 2.1763 | 0.5101 |
| 72 | 365502 | 88621 | 2.1139 | 0.5059 |
| 84 | 233283 | 85854 | 1.3492 | 0.4901 |
| 96 | 191212 | 68611 | 1.1059 | 0.3917 |
| 108 | 149937 | 63465 | 0.8672 | 0.3623 |
| 120 | 83852 | 41831 | 0.4850 | 0.2388 |

| เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|----------------------------|---|---------|------------------------------|---------|
| | กลูโคส | เอทานอล | กลูโคส | เอทานอล |
| 0 | 211501 | 23142 | 1.1710 | 0.3479 |
| 12 | 205823 | 33623 | 1.1396 | 0.5055 |
| 24 | 201933 | 40446 | 1.1181 | 0.6080 |
| 36 | 197136 | 50340 | 1.0915 | 0.7568 |
| 48 | 193896 | 56695 | 1.0736 | 0.8523 |
| 60 | 185732 | 59276 | 1.0284 | 0.8911 |
| 72 | 181148 | 61370 | 1.0030 | 0.9226 |
| 84 | 63746 | 64394 | 0.3529 | 0.9680 |
| 96 | 59811 | 65635 | 0.3312 | 0.9867 |
| 108 | 48617 | 71899 | 0.2692 | 1.0809 |
| 120 | 39395 | 75528 | 0.2181 | 1.1354 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลจากการหมัก
สารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน

| เวลาในการหมัก (ชั่วโมง) | พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม ($\times 10^{-6}$) | | ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | |
|----------------------------|---|---------|------------------------------|---------|
| | น้ำตาล | เอทานอล | น้ำตาล | เอทานอล |
| 0 | 6977 | 1846 | 0.0386 | 0.0278 |
| 12 | 637 | 3628 | 0.0035 | 0.0545 |
| 24 | 170 | 1094 | 0.0009 | 0.0164 |
| 36 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |
| 48 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |
| 60 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |
| 72 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |
| 84 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |
| 96 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |
| 108 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |
| 120 | 0 | 0 | 0.0000 | 0.0000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้