

การปรับสภาพขานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในการผลิต  
ไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการหมักของเชื้อ  
*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
และ *Pichia stipitis* TISTR 5806

MICROWAVE PRETREATMENT OF SUGARCANE  
BAGASSE FOR BIOETHANOL PRODUCTION BY  
*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
AND *Pichia stipitis* TISTR 5806

สิริพัทธ์ วงศ์ชาชม  
อรรรยา ไชยมนัส  
อิงครัต กิ่งแก้ว

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2559

การปรับสภาพขานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในการผลิต  
ไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการหมักของเชื้อ  
*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
และ *Pichia stipitis* TISTR 5806

MICROWAVE PRETREATMENT OF SUGARCANE  
BAGASSE FOR BIOETHANOL PRODUCTION BY  
*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
AND *Pichia stipitis* TISTR 5806



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MICROWAVE PRETREATMENT OF SUGARCANE  
BAGASSE FOR BIOETHANOL PRODUCTION BY  
*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
AND *Pichia stipitis* TISTR 5806



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
INDUSTRIAL MICROBIOLOGY FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หัวข้อโครงการพิเศษ**

การปรับสภาพขานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในการผลิตไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการหมักของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806 MICROWAVE PRETREATMENT OF SUGARCANE BAGASSE FOR BIOETHANOL PRODUCTION BY *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Pichia stipitis* TISTR 5806

**ชื่อนักศึกษา**

นางสาวสิริพัทธ์ วงศ์ชาชม รหัสนักศึกษา 56051086  
นางสาวอรรรญา ไชยมนัส รหัสนักศึกษา 56051099  
นายอัคริต กิ่งแก้ว รหัสนักศึกษา 56051105

**ปริญญา**

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

**ภาควิชา**

ชีววิทยา

**ปีการศึกษา**

2559

**อาจารย์ที่ปรึกษา**

รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การปรับสภาพขานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟในการผลิตไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการหมักของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>Pichia stipitis</i> TISTR 5806		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวสิริพัทธ์ วงศ์ชาชม	รหัสนักศึกษา	56051086
	นางสาวอรรรญา ไชยมนัส	รหัสนักศึกษา	56051099
	นายอิงครัต กิ่งแก้ว	รหัสนักศึกษา	56051105
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดวงใจ โอชัยกุล		

#### บทคัดย่อ

ในปัจจุบันเชื้อเพลิงที่ใช้ในชีวิตประจำวันโดยส่วนใหญ่เป็นต้นกำเนิดของมลพิษจึงมีการพัฒนาพลังงานทางเลือกเชื้อเพลิงชีวภาพที่มาจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งขานอ้อยเป็นอีกหนึ่งตัวเลือกที่สามารถนำมาย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลสำหรับกระบวนการหมักเอทานอลได้ การศึกษาในครั้งนี้ใช้การปรับสภาพและการย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายไซโตียมไฮดรอกไซด์ พบว่าไฮโดรไลเซชันส่วนของเหลวได้จากการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายไซโตียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด  $18.69 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำไฮโดรไลเซชันส่วนของเหลวดังกล่าวผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มาทำการหมักเอทานอลใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในสภาวะเขย่า พบว่า เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 คือ  $3.30 \pm 0.08$  กรัมต่อลิตร ขณะที่เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 คือ  $2.68 \pm 0.06$  กรัมต่อลิตร จากการใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 พบว่าในชั่วโมงที่ 48 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่  $5.34 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตร ดังนั้นการหมักโดยใช้เชื้อร่วมกันจึงมีผลทำให้ได้ปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**คำสำคัญ :** ขานอ้อย, เอทานอล, *Saccharomyces cerevisiae* , *Pichia stipitis*

<b>Title</b>	MICROWAVE PRETREATMENT OF SUGARCANE BAGASSE FOR BIOETHANOL PRODUCTION BY <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 AND <i>Pichia stipitis</i> TISTR 5806
<b>Students</b>	Miss Siripak Wongchachom Student ID 56051086 Miss Onwanya Chaimanat Student ID 56051099 Mr. Engkarat Kingkaew Student ID 56051105
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
<b>Department</b>	Biology
<b>Faculty</b>	Science
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
<b>Academic Year</b>	2016
<b>Advisor</b>	Assoc.Prof.Duangjai Ochaikul

### Abstract

At present, the fuel is used in daily. It causes and effects of environmental pollution. So, developing alternative energy or biofuel from agricultural waste, sugarcane bagasse is another option that can be digested into fermentable sugars for ethanol production. In this study, the pretreatment by microwave with sodium hydroxide and hydrolysis was investigated. The result showed that hydrolysates from the pretreatment by microwave with 8 percent of sodium hydroxide at a power of 800 W for 2 minutes gave the highest concentration reducing sugar ( $18.69 \pm 0.05$  g/l). The hydrolysates through the hydrolysis with ACCELLERASE 1500 for ethanol fermentation by *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *P. stipitis* TISTR 5806. *S. cerevisiae* TISTR 5088 produced the highest amount of ethanol ( $3.30 \pm 0.08$  g/l) at 48 hours. *P. stipitis* TISTR 5806 produced the highest amount of ethanol ( $2.68 \pm 0.06$  g/l) at 48 hours. From a co-cultivation between *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *P. stipitis* TISTR 5806 in 2: 1 volume ratio, the highest amount of ethanol was  $5.34 \pm 0.01$  g/l. In conclusion, this co-culture obtained higher ethanol concentration than those of single culture.

**Keywords :** Sugarcane bagasse, Ethanol, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia stipitis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์เป็นอย่างดีจากหลายๆฝ่าย โดยเฉพาะ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่กรุณาเสียสละเวลาในการให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ และจุดประกายความคิดในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการดำเนินงาน พร้อมทั้งอำนวยความสะดวกและสนับสนุนด้านข้อมูล เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ในการศึกษาโครงการพิเศษนี้ ตลอดจนการตรวจทานและแก้ไขรูปเล่มโครงการพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง คณะผู้วิจัยจึงใคร่ขอกราบขอพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ และ ดร. สมพิศ สอนโยธา คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ ที่ได้ชี้แนะทางการศึกษาและวิธีในการดำเนินงานให้ถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังแนะนำข้อบกพร่องต่างๆที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำโครงการพิเศษครั้งนี้

ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความกรุณาตรวจวิเคราะห์น้ำตาลที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานเพื่อนำข้อมูลมาใช้ในการศึกษาโครงการพิเศษต่อไป

ขอขอบพระคุณ นางสาวจรรยา คงฤทธิ์ ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความกรุณาตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของลิโนเชลลูโลส ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานเพื่อนำข้อมูลมาใช้ในการศึกษาโครงการพิเศษต่อไป

ขอขอบพระคุณ คุณลุงอำพล ยศมงคล เจ้าของร้านน้ำอ้อยที่อนุเคราะห์ชานอ้อยซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักที่สำคัญ เพื่อใช้สำหรับการศึกษาโครงการพิเศษในครั้งนี้

สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ผู้สอนทุกท่าน รวมถึงผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับความสำเร็จทั้งหมดของโครงการพิเศษฉบับนี้ที่ไม่ได้กล่าวชื่อนามไว้ข้างต้น

สิริพัทธ์ วงศ์ชาชม  
อรรรญา ไชยมนัส  
อิงครัต กิ่งแก้ว

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ฎ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขต	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
2.1 พลังงานชีวมวล	4
2.2 ไบโอเอทานอล	6
2.3 ลิกโนเซลลูโลส	7
2.4 กระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment) วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส	9
2.4.1 วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)	9
2.4.1.1 การใช้แรงทางกล (Mechanical comminution)	9
2.4.1.2 การไพโรไลซิส (Pyrolysis)	9
2.4.1.3 การใช้ความร้อน (Thermal heat treatment)	9
2.4.2 วิธีทางชีวภาพ (Biological pretreatment)	10
2.4.3 วิธีทางเคมี (Chemical pretreatment)	10
2.4.3.1 การทำปฏิกิริยากับโอโซน (Ozonolysis)	10
2.4.3.2 การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (Alkali pretreatment)	10
2.4.3.3 การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (Acid pretreatment)	10
2.4.4 วิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pretreatment)	11
2.5 คลื่นไมโครเวฟ	11
2.5.1 หลักการทำงานโดยทั่วไปของไมโครเวฟ	11
2.5.2 คลื่นไมโครเวฟมีลักษณะเด่น 3 ประการ	12
2.5.3 หลักการให้ความร้อน	12
2.5.4 การรั่วไหลของคลื่นไมโครเวฟ	12
2.5.5 ขนาดความจุเตาอบไมโครเวฟ	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.6 เอนไซม์เชิงซ้อน ACCELLERASE 1500	15
2.6.1 การผลิต	15
2.6.2 ค่า pH และอุณหภูมิ	15
2.7 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์	15
2.8 การจัดลำดับชั้นอนุกรมวิธานของ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.8.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.8.2 ลักษณะและคุณสมบัติทั่วไปของเชื้อ <i>Pichia stipitis</i> ที่นำมาใช้ในการผลิตเอทานอล	18
2.8.3 คุณสมบัติของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล	19
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	<b>21</b>
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	21
3.2 สารเคมี	21
3.3 วัตถุดิบ	21
3.4 อุปกรณ์	21
3.5 การเตรียมวัตถุดิบ	22
3.5.1 การเตรียมตัวอย่าง	22
3.5.2 การปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment) ชานอ้อยโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์	22
3.5.2.1 ศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพชานอ้อย	22
3.5.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์	23
3.5.2.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพ	23
3.5.3 การย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	23
3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) ในส่วนของชานอ้อย	24
3.5.5 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กลูโคส ไซโลส และอะราบินอส)	24

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.5.6 ศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>Pichia stipitis</i> TISTR 5806 โดยใช้อัตราส่วนที่แตกต่างกัน	24
3.5.6.1 การเตรียมหัวเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	24
3.5.6.2 การเตรียมหัวเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	25
3.5.6.3 กระบวนการหมักไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088	25
3.5.6.4 กระบวนการหมักไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	25
3.5.6.5 กระบวนการหมักไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วนของเชื้อที่แตกต่างกัน	25
3.5.6.6 ศึกษาค่าทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักของกระบวนการหมักโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	26
3.5.7 การวิเคราะห์ผล	26
3.5.7.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี DNS	26
3.5.7.2 การวิเคราะห์พีเอชของน้ำหมัก	27
3.5.7.3 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง	27
3.5.7.4 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล	27
3.5.7.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล กลูโคส โซโลส อะราบิโนส	27
3.5.7.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ	28
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>	<b>29</b>
4.1 ผลการศึกษากำลังไฟที่เหมาะสมในการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากชานอ้อย	29
4.2 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากชานอ้อย	31

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพ	32
4.4 ผลการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) ในชานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและปรับสภาพ	34
4.5 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กลูโคส โซโลส และอะราบิโนส) ในส่วนน้ำของกากที่ผ่านการปรับสภาพ และ ย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	36
4.6 ผลการศึกษาระบวนการหมักเอทานอล	37
4.6.1 ผลการศึกษาระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	37
4.6.2 ผลการศึกษาระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	40
4.6.2.1 อัตราส่วนของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 เท่ากับ 1:1	40
4.6.2.2 อัตราส่วนของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 เท่ากับ 1:2	42
4.6.2.3 อัตราส่วนของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 เท่ากับ 1:4	44
4.6.2.4 อัตราส่วนของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 เท่ากับ 2:1	45
4.6.2.5 อัตราส่วนของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 เท่ากับ 4:1	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

4.6.3	เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลสูงสุดจากกระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน	หน้า 48
4.6.4	ผลการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากของชานอ้อยที่หมักแยกและหมักรวมโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน	50
<b>บทที่ 5</b>	<b>สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	52
บรรณานุกรม		53
ภาคผนวก		62
ภาคผนวก ก		63
ภาคผนวก ข		64
ภาคผนวก ค		68
ภาคผนวก ง		71
ภาคผนวก จ		110



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	29
4.2	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลาต่างๆ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	31
4.3	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละต่างๆ ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	33
4.4	ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในชานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที	35
4.5	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในส่วนของกากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาทีและกากชานอ้อยปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาทีย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	37
4.6	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	38

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.7	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	39
4.8	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	41
4.9	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	43
4.10	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	44
4.11	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	46
4.12	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500	47

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.13	เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลสูงสุดจากกระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน	49
4.14	ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยกากชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 กำลังไฟ 800 วัตต์เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เชื้อเดี่ยวและร่วมของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วนต่างๆ	51



## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แหล่งทรัพยากรวัตถุดิบชีวมวล	4
2.2	พลังงานและผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่า (value-added products) ที่ได้จากชีวมวลที่มีเซลลูโลสสูง	5
2.3	สูตรโครงสร้างของเซลลูโลส	7
2.4	ส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลส	8
2.5	แสดงการให้ความร้อนแบบธรรมดา	13
2.6	แสดงการให้ความร้อนแบบไมโครเวฟ	13
2.7	แสดงลักษณะทั่วไปและส่วนภายในเตาอบไมโครเวฟ	14
2.8	แผนภาพแสดงวิถีเมแทบอลิซึมของยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก	16
2.9	ลักษณะสัณฐานวิทยาของยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.10	ลักษณะสัณฐานของเชื้อยีสต์ <i>Pichia stipitis</i>	18
4.1	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากขานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟแตกต่างกัน และนำส่วนกากขานอ้อยย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	30

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากขานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลาต่างๆ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	32
4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากขานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วยความเข้มข้นแตกต่างกันร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และนำส่วนกากขานอ้อยย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	34
4.4 ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในขานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และปรับสภาพ	36
4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	38
4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	40
4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	42
4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	43

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	45
4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	46
4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	48
4.12 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ชั่วโมงที่ 48 จากกระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน	50

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เนื่องจากในปัจจุบันโลกนั้นเต็มไปด้วยมลพิษมากมายโดยเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดสภาวะโลกร้อน ทางผู้วิจัยจึงเล็งเห็นและคิดที่จะแก้ปัญหาโดยหันมาพัฒนาสนใจพลังงานชีวภาพที่ผลิตได้จากจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสรวมถึงยังเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยพลังงานชีวภาพที่สนใจ ก็คือไบโอเอทานอลที่ได้จากการหมักของจุลินทรีย์ ซึ่งการนำพลังงานชีวภาพมาใช้นั้นเป็นการลดภาวะโลกร้อนและลดมลพิษลง เนื่องจากว่าเป็นพลังงานที่สะอาด

Janman และคณะ (2015) รายงานว่า เชื้อเพลิงเอทานอลเป็นพลังงานหมุนเวียนที่สะอาดและยั่งยืน ซึ่งสามารถผลิตได้โดยกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์หรือกระบวนการทางเคมี เอทานอลเป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนสามารถนำมาใช้ในด้านอุตสาหกรรม เช่น สารทำความสะอาด ฆ่าเชื้อ ยา สารกันความเย็น อุตสาหกรรมสี และด้านพลังงาน เป็นต้น Richardson (2006) รายงานว่าการผลิตไบโอเอทานอลใช้วัตถุดิบต้นทุนราคาต่ำ นิยมใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น หญ้า ชีเสื่อย และของเสียเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม และยังเป็น การเพิ่มมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกด้วย พร้อมทั้งเป็นการลดการนำเข้าเชื้อเพลิงประเภทน้ำมันดิบจากต่างประเทศได้

ลิกโนเซลลูโลสสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ และด้วยคุณสมบัติเฉพาะทางเคมี ทำให้มีศักยภาพเพียงพอต่อการพัฒนาให้เกิดประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย ลิกโนเซลลูโลสสามารถย่อยสลายได้ด้วยกรดหรือเอนไซม์ ให้กลายเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้สำหรับกระบวนการหมัก(Fermentable sugar) การใช้วัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสในการผลิตเอทานอลจำเป็นต้องมีการปรับสภาพก่อนโดยกระบวนการปรับสภาพมีหลายวิธี ทั้งวิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี วิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ (Physico-chemical pretreatment) และวิธีทางชีวภาพ ประสิทธิภาพของการปรับสภาพเป็นสิ่งจำเป็น เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ และเป็นการลดต้นทุนของกระบวนการผลิตลดลง ซึ่งการปรับสภาพแบบดั้งเดิมนิยมใช้กรดหรือด่างร่วมกับการใช้อุณหภูมิและความดันสูง แต่วิธีการเหล่านี้มีข้อจำกัดในเรื่องของปริมาณพลังงานที่ใช้จึงจำเป็นต้องหาวิธีการหรือเทคนิคเกี่ยวกับการให้ความร้อนที่ไม่เพียงแต่ช่วยลดพลังงานที่ใช้ แต่ยังเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตได้อีกด้วย การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟเป็นอีกวิธีหนึ่ง ที่สามารถลดระยะเวลาในการปรับสภาพลงได้ (Binod และคณะ,2011) การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดหรือสารละลายด่างเจือจาง เป็นวิธีการทางเคมี-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟิลิกส์ ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นขั้นตอนการปรับสภาพและย่อยเป็นน้ำตาลเกิดขึ้นภายในขั้นตอนเดียวกัน (Marx และคณะ, 2013)

Binod และ คณะ (2011) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส คือ ชานอ้อยเปรียบเทียบการปรับสภาพชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับกรดและต่าง และศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ และการกำจัดลิกนิน โดยการปรับสภาพชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่กำลังไฟ 400 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 0.665 กรัมต่อกรัมซับสเตอร์ท ในขณะที่การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับต่างและตามด้วยกรด โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 ตามด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเป็น 0.83 กรัมต่อกรัมซับสเตอร์ท การปรับสภาพชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับต่างและตามด้วยกรด ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงในระยะเวลาอันสั้น

Chen และคณะ (2011) ศึกษาการปรับสภาพชานอ้อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟในการผลิตไบโอเอทานอลจากชานอ้อย โดยใช้อุณหภูมิของคลื่นไมโครเวฟ 3 ระดับ ดังนี้ 130 160 และ 190 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 และ 10 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของอนุภาคชานอ้อย พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส ที่อุณหภูมิ 190 องศาเซลเซียสอนุภาคชานอ้อยจะแตกออกเป็นจำนวนมากเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของชานอ้อย

Janman และคณะ (2015) ในการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสนั้น จะต้องใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ซึ่งมีคุณสมบัติในการใช้น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมได้ อีกทั้งยังเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมมาใช้ในการผลิตเอทานอลและทนต่อปริมาณเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงได้ จึงนิยมนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม แต่ขณะเดียวกัน *S. cerevisiae* TISTR 5088 ไม่สามารถใช้น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมได้ ขณะที่เชื้อ *Pichia stipitis* TISTR 5806 มีคุณสมบัติในการใช้น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม และ น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ซึ่งเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมัก จึงนิยมนำมาผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสแต่มีข้อจำกัด คือ ไม่สามารถทนต่อปริมาณเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูง อีกทั้งยังทนต่อสารพิษที่ติดมาจากวัตถุดิบในกระบวนการการปรับสภาพได้น้อย ดังนั้นในการศึกษากระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ร่วมกัน ในกระบวนการหมักเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาศักยภาพในการนำขานอ้อยซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรและอุตสาหกรรมมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอลเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน พรีทรีทเมนต์หรือปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้สารเคมีร่วมกับรังสีไมโครเวฟ และนำมาหมักเอทานอลโดยเปรียบเทียบระหว่างเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์ที่ผลิตเอทานอลได้สูงกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่สามารถใช้น้ำตาลเพนโตสได้ และการใช้เชื้อทั้งสองร่วมกัน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) ศึกษาการปรับสภาพขานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ
- 2) ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของขานอ้อยโดยเปรียบเทียบการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806
- 3) ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของขานอ้อยโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนต่างๆรวมทั้งศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการปรับสภาพของขานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟ จากนั้นทำการกรองและนำไฮโดรไลเสทส่วนกากย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 และนำส่วนที่ผ่านการย่อยไปใช้ในกระบวนการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 โดยการใช้เชื้อทั้งสองสายพันธุ์ร่วมกันในอัตราส่วนต่างๆรวมทั้งศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

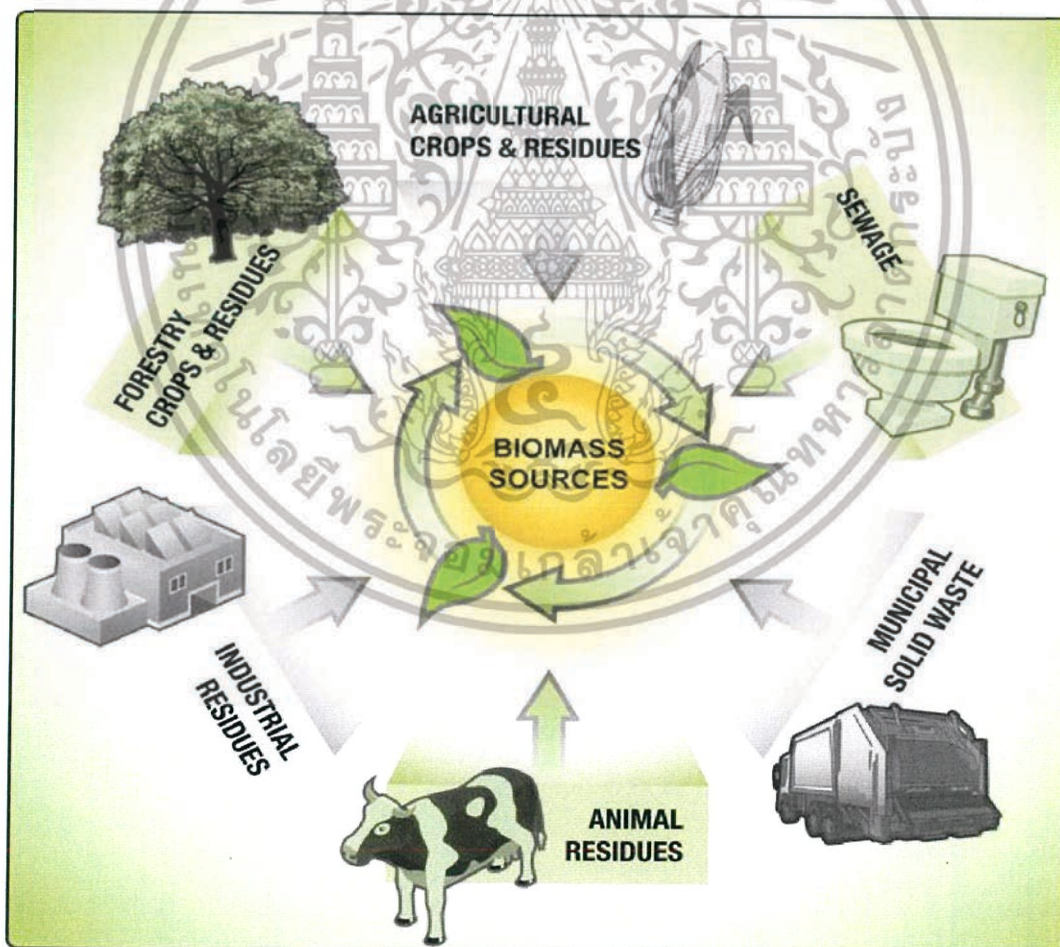
สามารถนำความรู้มาประยุกต์ใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเป็นการนำวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น กากขานอ้อย ที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม มาใช้ให้เป็นประโยชน์ โดยนำมาผลิตเป็นไบโอเอทานอลโดยกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งเชื้อเพลิงที่สะอาดและช่วยลดมลพิษทางสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังช่วยลดการนำเข้าเชื้อเพลิงประเภทน้ำมันดิบจากต่างประเทศได้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 พลังงานชีวมวล (<http://www.thaibiotech.info> สืบค้นวันที่ 23 ธันวาคม 2559)

พลังงานจากชีวมวล คือ พลังงานสะอาดที่ได้จากอินทรีย์สารของพืชหรือสัตว์ ได้แก่พืช เกษตรกรรม วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม พืชพลังงาน รวมทั้งขยะอินทรีย์และมูลสัตว์ มีการหมุนเวียนเกิดขึ้นใหม่ตลอดเวลา จัดเป็นพลังงานสีเขียวที่จะเข้ามาแทนที่เชื้อเพลิงจากฟอสซิลที่กำลังจะหมดไปในไม่ช้านี้ การใช้เชื้อเพลิงจากชีวมวลยังช่วยรักษาสิ่งแวดล้อมเนื่องจากพลังงานจากชีวมวลมีการปลดปล่อยมลพิษทางอากาศและสารพิษต่างๆ ออกมาน้อยกว่าพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล อีกทั้งยังเป็นการช่วยลดปริมาณขยะลงได้

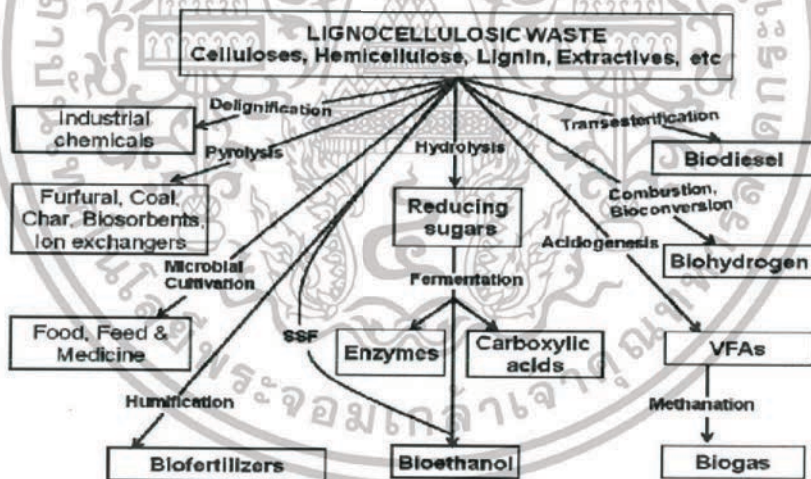


รูปที่ 2.1 แหล่งทรัพยากรวัตถุดิบชีวมวล

ที่มา : <http://www.thaibiotech.info> (สืบค้นวันที่ 23 ธันวาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำชีวมวลเหล่านี้มาใช้ประโยชน์โดยนำมาแปรรูปเป็นพลังงานนั้นทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบและวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้งาน ในบรรดาแหล่งพลังงานชีวมวลทั้งหลายที่มีศักยภาพมากที่สุดนั้น แหล่งวัตถุดิบที่มีลิกโนเซลลูโลสสูง ซึ่งได้แก่ พวกเศษวัสดุจากการเกษตรเช่น ชังข้าวโพด (corn stover) เส้นใยข้าวโพด (corn fibre) ชานอ้อย (sugar cane bagasse) วัสดุเหลือทิ้งจากไม้ เช่น ชี้อยู่จากทั้งไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็ง พวกขยะจากกระบวนการแปรรูปอาหาร และเศษกระดาษ เป็นต้น เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกที่น่าสนใจมากที่สุดเนื่องจากมีอยู่มากโดยเฉพาะชานอ้อยและฟางข้าวพบว่าในประเทศไทยมีวัตถุดิบจำนวนมากหลายล้านตันในแต่ละปี ในระดับโลกเศษเหลือทิ้งจากอาหารที่เป็นพวกลิกโนเซลลูโลสมีมากถึง 3 พันล้านเมกagrams ต่อปี และเนื่องจากงานวิจัยเพื่อใช้ประโยชน์จากลิกโนเซลลูโลสยังมีน้อย งานวิจัยในปัจจุบันจะหันทิศทางมาเพื่อพัฒนาการแปรรูปวัสดุที่มีเซลลูโลสเหล่านี้มาผลิตเป็นพลังงานทดแทนและผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่า (value-added products) ต่างๆ ให้มากยิ่งขึ้น กระบวนการแปรรูปมีด้วยกันมากมายหลายวิธี ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 พลังงานและผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่า (value-added products) ที่ได้จากชีวมวลที่มีเซลลูโลสสูง (SSF=simultaneous fermentation and saccharification, VFAs = volatile fatty acids)

ที่มา : อรุณี (2555)

ในบรรดากระบวนการแปรรูปเพื่อผลิตเป็นพลังงานนั้น กระบวนการหมัก จัดว่ามีประสิทธิภาพดีที่สุด ทั้งยังมีผลพลอยได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าสูง เช่น เอนไซม์ กรดอินทรีย์ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่างๆ ไบโอบลาสติก ผลิตภัณฑ์ตั้งต้นสำหรับอุตสาหกรรมด้านเวชภัณฑ์ และเคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ และอื่นๆ อีกมากมาย เมื่อก่อนการหมักพวกลิกโนเซลลูโลสก็ไม่ใช่ที่นิยมหรือไม่ทำกันเพราะเป็นขั้นตอนที่ช้า ย่อยสลายยากและได้ผลผลิตน้อย ปัจจุบันมีเทคโนโลยีใหม่ๆ ที่ช่วยให้การหมักดำเนินไปได้อย่างรวดเร็ว (อรุณี , 2555)

## 2.2 ไบโอเอทานอล

ไบโอเอทานอลเป็นเชื้อเพลิงที่ผลิตทางกระบวนการชีวภาพและมีประสิทธิภาพนอกจากนี้ยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ (Azilah และคณะ, 2017) อีกทั้งยังเป็นพลังงานที่ไม่ก่อให้เกิดภาวะโลกร้อน (Zabed และคณะ, 2017) การค้นหาแหล่งพลังงานที่ประหยัดและยั่งยืนเป็นสิ่งหนึ่งที่สำคัญสำหรับมนุษย์เราในปัจจุบัน

ไบโอเอทานอล (bioethanol) เป็นหนึ่งในพลังงานทางเลือกที่สะอาดและยั่งยืน เหมาะสำหรับนำมาทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม (fossil fuel) ที่เกิดจากซากฟอสซิลทับถมกันมาเป็นเวลานาน และกำลังจะหมดไปในอนาคตอันใกล้ อย่างไรก็ตาม การใช้น้ำตาลกลูโคสจากพืชผล เช่น อ้อย (Sugar cane) หรือพืชที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น ข้าวโพด (corn) หรือมันสำปะหลัง (cassava) เพื่อการผลิตแอลกอฮอล์นั้น อาจมีผลกระทบต่อมนุษย์โดยตรง เนื่องจากพืชผลเหล่านั้นล้วนแล้วแต่เป็นอาหารของมนุษย์ ดังนั้นการนำพืชผลเหล่านี้มาใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์จึงมีผลโดยตรงต่อปริมาณและราคาของอาหาร

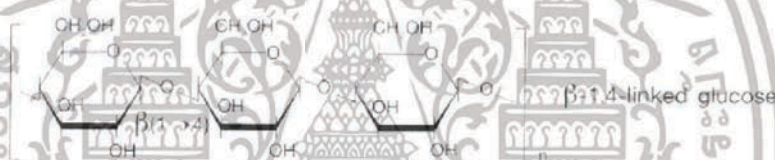
ไบโอเอทานอล (Bio-ethanol) การผลิตไบโอเอทานอลจากพืชหรือชีวมวลที่มีองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสสูงจะต้องมีการย่อย 2 วิธีด้วยกัน คือ การย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) และการย่อยด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) หรือวิธีการย่อยสลายควบคู่ กับการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) การใช้เอนไซม์มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มากกว่าการใช้กรดและให้ผลผลิตสูงกว่า การหมักในโรงงานอุตสาหกรรมนิยมใช้การย่อยด้วยกรดมากกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์และการใช้เอนไซม์จะต้องมีการบ่มก่อนจึงจะให้ผลผลิตที่สูง แต่การบ่มจะทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูง หลังจากผ่านการย่อยแล้วผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งจะถูกนำไปหมักด้วยจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ต่อไป จุลินทรีย์เหล่านี้จะทำหน้าที่เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตให้เป็นเอทานอลภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์สามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงได้โดยตรงหรือนำไปใช้ร่วมกับน้ำมันเบนซินได้เช่น น้ำมัน E10 หมายถึงน้ำมันที่มีส่วนผสมของเอทานอลอยู่ร้อยละ 10 และน้ำมันเบนซินร้อยละ 90 ซึ่งจะช่วยลดการปล่อย CO ได้ถึงร้อยละ 25-30 อีกทั้งยังช่วยลดการปล่อย CO<sub>2</sub> และ NO<sub>2</sub> ได้ร้อยละ 10 และร้อยละ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ นอกจากนี้เอทานอลยังถูกนำมาใช้แทน MTBE (Methyl tertiary butyl ether) ซึ่งใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันเบนซินแทนสารตะกั่วซึ่งจะช่วยลดมลพิษและเป็นการลดต้นทุนได้อีกด้วย (ดรณี , 2555)

### 2.3 ลิกโนเซลลูโลส

ลิกโนเซลลูโลส เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช และจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายในน้ำ (พิมพ์เพ็ญ , 2550) ซิวมวลอินทรีย์ที่ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน พบมากในผนังเซลล์ของพืชได้แก่ เศษวัสดุเหลือทิ้งจากไม้ทั้งไม้เนื้อแข็งและไม้เนื้ออ่อน เศษวัสดุจากการเกษตร เช่น ชังข้าวโพด เส้นใยข้าวโพด ชานอ้อย แกลบ และฟางข้าว ขยะจากกระบวนการแปรรูปอาหารและจากบ้านเรือน รวมถึงมูลสัตว์ต่างๆ



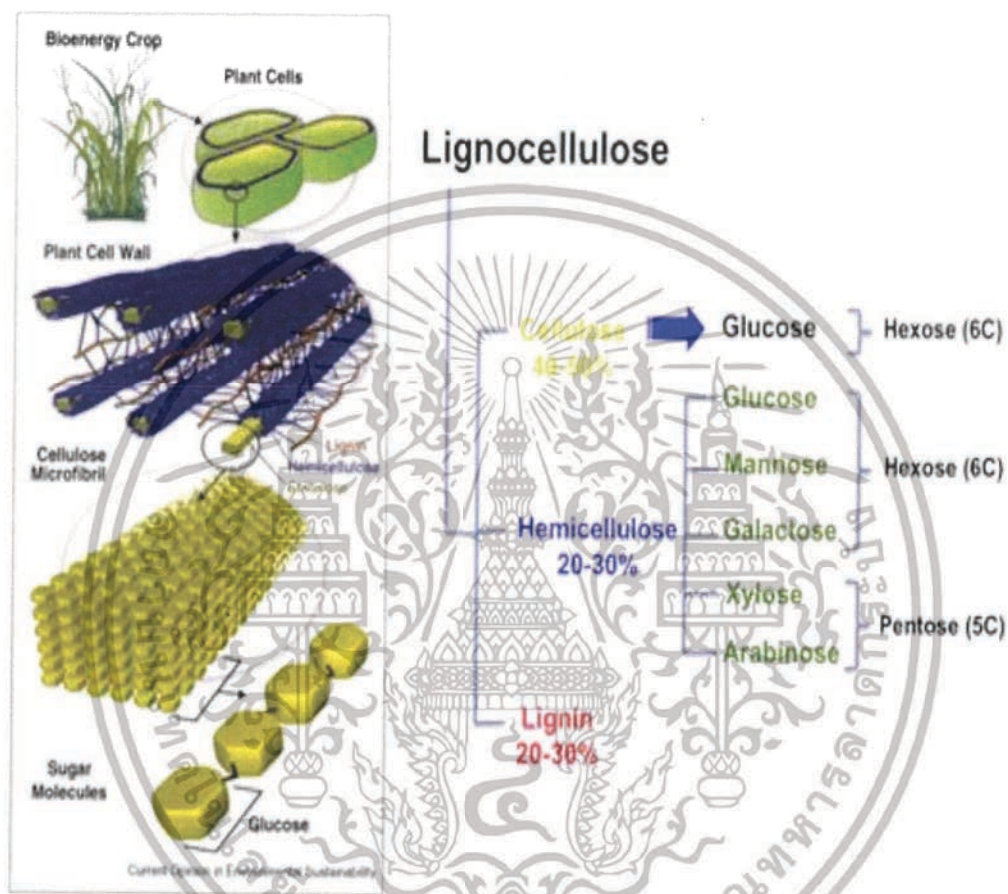
รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com> (สืบค้นวันที่ 23 ธันวาคม 2559)

เซลลูโลส หมายถึง พวกลิวโลสแซ็กคาไรด์ที่พบมากในผนังเซลล์พืช ซึ่งเป็นสารโพลีเมอร์ที่เกิดจาก ดี-กลูโคสต่อกันเป็นสายยาว ดังรูปที่ 2.3 ช่วยทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรงป้องกันการแตกของเซลล์ ถึงแม้ว่าเซลลูโลสจะประกอบด้วยหน่วยของกลูโคสเหมือนกับแป้ง แต่เชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิดบีตา ( $\beta$ -1,4 – glycosidic bond) เอนไซม์อะไมเลส จึงไม่สามารถย่อยได้เซลลูโลส ไม่สามารถละลายน้ำได้และไม่สามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในกระเพาะอาหารหรือลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ยกเว้นสัตว์กินพืชเท่านั้นที่สามารถใช้เซลลูโลสเป็นพลังงานเพราะสัตว์กลุ่มนี้มีจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งมีเอนไซม์เซลลูเลสอยู่ในกระเพาะ สำหรับย่อยเซลลูโลสให้เป็นกลูโคสได้ มีการประเมินกันว่าทั่วโลก พืชสามารถผลิตเซลลูโลสได้มากถึง 100 พันล้านตันในแต่ละปี เฮมิเซลลูโลส เป็นส่วนหนึ่งของผนังเซลล์ของพืชเช่นกันแต่เป็นสารโพลีเมอร์ของพวก ดี-ไซโลส ซึ่งมีแขนงข้างเป็นน้ำตาลอะราบินอสหรือน้ำตาลชนิดอื่นๆ มีสายสั้นกว่าเซลลูโลส ส่วนลิกนินเป็นสารประกอบโพลีเมอร์อโรมาติกที่ไม่มีรูปผลึก จะเกาะกันอยู่ในชั้นระหว่างเส้นใยทำหน้าที่ยึดเกาะเส้นใยเข้าด้วยกัน โครงสร้างพื้นฐานของลิกนินคือ phenylpropane ลิกนินไม่สามารถย่อยได้โดยจุลินทรีย์ในสภาวะไร้ออกซิเจนแต่จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถูกย่อยสลายได้ในสภาพที่มีออกซิเจนโดยพวกเชื้อรา ประเภท white rot fungi และ moulds (ดร.ณิ , 2555)



รูปที่ 2.4 ส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลส

ที่มา : <https://omnimicrobes.wordpress.com>

(สืบค้นวันที่ 23 ธันวาคม 2559)

น้ำตาลไซโลส (xylose) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีห้าคาร์บอน พบเป็นอันดับสองในพืชรองจากน้ำตาลกลูโคส และพบมากในสิ่งเหลือทิ้งทางการเกษตร จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์โดยที่ไม่กระทบต่ออาหารของมนุษย์ อย่างไรก็ตาม ยีสต์ส่วนใหญ่ โดยเฉพาะ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีคุณลักษณะที่ดีสำหรับการผลิตแอลกอฮอล์ ไม่สามารถหมักน้ำตาลห้าคาร์บอน เช่น ไซโลส ไปเป็นแอลกอฮอล์ได้ ยีสต์บางกลุ่มเช่น *Pachysolen tannophilus* , *Candida shehatae* และ *Pichia stipitis* สามารถผลิตแอลกอฮอล์จากไซโลสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสียของยีสต์กลุ่มนี้คือ ไม่ทนทานต่อปริมาณแอลกอฮอล์สูง รวมถึงสารพิษต่างๆ ที่อาจจะปนเปื้อนจากของเหลือทิ้งทางการเกษตร และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ก็ยังไม่มากพอที่จะนำไปต่อยอดในระดับอุตสาหกรรม

## 2.4 กระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment) วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส

ในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบจะกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพคือ ทำให้ชั้นแมทริกซ์ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสถูกทำลาย ซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์สามารถทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลต่อการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสให้สามารถทำงานได้ง่ายขึ้น ซึ่งกระบวนการปรับสภาพมีความสำคัญในการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความพรุนให้มากขึ้น โดยกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบสามารถแบ่งได้เป็น 4 วิธีหลักๆ (รัชพล และคณะ, 2556) ดังนี้

### 2.4.1 วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)

#### 2.4.1.1 การใช้แรงทางกล (Mechanical comminution)

เป็นวิธีการทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กลงโดยสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทุบ การบด การไม่ การเขย่าวัตถุดิบ เป็นต้น ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการลดผลึกของเซลลูโลส (cellulose crystallinity) และเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น ความสามารถในการลดขนาดจะขึ้นอยู่กับขนาดของวัสดุและคุณสมบัติของวัสดุนั้น ซึ่งปกติขนาดของเศษวัตถุดิบจะให้มีขนาดประมาณ 0.2 ถึง 2 มิลลิเมตร (Sun และ Cheng, 2002)

#### 2.4.1.2 การไพโรไลซิส (Pyrolysis)

เป็นวิธีการอบที่ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงให้วัตถุดิบกลายเป็นแก๊สหรือของแข็งแต่กระบวนการจะทำได้ช้าและการระเหยจะต่ำถ้าใช้อุณหภูมิต่ำ

#### 2.4.1.3 การใช้ความร้อน (Thermal heat treatment)

เป็นการปรับสภาพของวัตถุดิบเพื่อทำลายเนื้อเยื่อของเซลลูโลส ซึ่งโดยส่วนใหญ่มักจะใช้อุณหภูมิมากกว่า 150-180 องศาเซลเซียส แต่ต้องทำให้วัสดุมีขนาดที่เล็กลงก่อนที่จะเข้าสู่กระบวนการย่อยวัตถุดิบทางความร้อน

## 2.4.2 วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment)

เป็นวิธีการที่ใช้จุลินทรีย์ในการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสและยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ในการปรับสภาพจะย่อยลิกนินรวมทั้งย่อยเฮมิเซลลูโลสด้วย ส่วนเซลลูโลสจะถูกย่อยได้น้อยมากเนื่องจากเซลลูโลสมีความต้านทานในการถูกจุลินทรีย์ย่อยได้มากกว่าส่วนอื่นๆ ของลิกโนเซลลูโลส ซึ่งในการปรับสภาพวิธีนี้จะใช้จุลินทรีย์ Brown, White, และ soft-rot fungi ในการปรับสภาพ

## 2.4.3 วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment)

### 2.4.3.1 การทำปฏิกิริยากับโอโซน (Ozonolysis)

โอโซนเป็นตัวออกซิแดนต์ที่มีประสิทธิภาพสามารถทำให้เกิดการแตกตัวของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในวัสดุพวกฟางข้าวได้ วิธีนี้มีจุดเด่นคือ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนินออกได้ดี ไม่มีสารพิษที่จะไปยับยั้งการทำปฏิกิริยาในส่วนต่างๆ และกระบวนการนี้สามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ผลเสียของวิธีนี้คือ ต้องใช้ค่าใช้จ่ายที่สูงมาก (Sun และ Cheng, 2002)

### 2.4.3.2 การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (Alkali pretreatment)

การใช้ด่างในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบมีผลต่อวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส และผลของด่างที่ใช้ในกระบวนการปรับสภาพจะขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนินที่มีอยู่ในวัสดุนั้นด้วย (McMillan, 1994) โดยกลไกการทำงานของด่างนั้นจะไปเพิ่มการพองตัวของใยในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสและความพรุนของวัสดุจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการกำจัดสายโซ่ที่เชื่อมต่อกันใน การใช้ด่างเจือจางในวัสดุลิกโนเซลลูโลสมีผลทำให้เกิดการบวมภายใน เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยาทำให้วัสดุมีความพรุนเพิ่มขึ้นได้ ลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส ลดระดับความเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ และสามารถแยกสายโครงสร้างระหว่างลิกนินและคาร์โบไฮเดรต และเป็นการแยกองค์ประกอบหรือทำลายโครงสร้างของลิกนิน อย่างไรก็ตามการใช้ด่างเพื่อปรับสภาพมักจะไม่ค่อยมีผลต่อวัสดุพวกไม้เนื้ออ่อนเท่าไม้เนื้อแข็ง โดยด่างที่นิยมใช้ในการแยกลิกนินได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Kim และคณะ, 2008)

### 2.4.3.3 การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (Acid pretreatment)

กระบวนการปรับสภาพโดยใช้กรดนั้นมีจุดประสงค์เพื่อให้ได้น้ำตาลในปริมาณที่สูงจากวัสดุชีวมวล ชนิดของกรดที่นำมาปรับสภาพมีมากมาย ได้แก่ กรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริก ไนตริก หรือ ฟอสฟอริก ซึ่งในกระบวนการปรับสภาพสามารถใช้ได้ทั้งกรดเข้มข้นและเจือจางเพื่อเพิ่มการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำงานของกระบวนการไฮโดรไลซิส (Palmqvist และ Hahn-Hagerdal, 2002)

#### 2.4.4 วิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pretreatment)

เป็นการใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี เช่น การใช้สารละลายเบสเจือจางและความร้อนภายใต้ความดันสูงในการปรับสภาพ ซึ่งประสิทธิภาพการย่อยสลายนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายเบสและความร้อนที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ แต่เมื่อใช้ความร้อนภายใต้สภาวะความดันสูงเพียงอย่างเดียว พบว่า อัตราการย่อยสลายลดลงเมื่อความร้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการแตกตัวของน้ำตาลที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นสารประเภทเฟอร์ฟูรัล ฟอร์มัลดีไฮด์หรือกรดฟอร์มิก เป็นต้น ซึ่งเป็นตัวขัดขวางขั้นตอนการย่อยสลาย ชนิดของสารละลายเบสเจือจางที่นิยมใช้กัน เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นสารเคมีที่นิยมใช้มากที่สุด สามารถกำจัดลิกนินได้ดี เนื่องจาก โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นเบสแก่ ซึ่งในบางครั้งโซเดียมไฮดรอกไซด์ไม่ได้กำจัดลิกนินออกไปเพียงอย่างเดียว แต่อาจทำลาย เอมิเซลลูโลสและเซลลูโลสบางส่วนออกไปด้วย ดังนั้น การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์จึงจำเป็นต้องใช้อุณหภูมิและ เวลาที่เหมาะสมกับพืชชนิดนั้น ๆ ผลผลิตที่ได้จึงจะมีประสิทธิภาพมากที่สุด (Wang และคณะ, 2010) เบสอีกชนิดหนึ่ง คือ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) เป็นสารเคมีที่นิยมใช้ ไม่น้อยไปกว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่เนื่องจากแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นเบสอ่อน จึงต้องใช้เวลา ในการกำจัดลิกนินนานกว่าเล็กน้อย แต่ปัญหาที่พบจากการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ คือ การกำจัดลิกนินออกไม่หมด และอาจมีกลิ่นของแก๊สแอมโมเนียที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายลิกนิน (Gupta และ Lee, 2010) และโซเดียมซัลไฟด์ ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) เป็นสารเคมีที่นิยมใช้น้อยที่สุด แต่เป็นสารที่กำจัดลิกนินได้ดีที่สุด โดยโซเดียมซัลไฟด์จะมีความจำเพาะกับลิกนินเท่านั้น ซึ่งไม่มีผลต่อเอมิเซลลูโลสและเซลลูโลส และสาเหตุที่ไม่นิยมใช้โซเดียมซัลไฟด์อาจเนื่องมาจากกลิ่นของแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายลิกนิน แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีการใช้โซเดียมซัลไฟด์ในระดับอุตสาหกรรมที่จำเป็นต้องกำจัดลิกนินออกเท่านั้น เช่น อุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษในหลายบริษัท เป็นต้น

## 2.5 คลื่นไมโครเวฟ (ชวน, 2545)

### 2.5.1 หลักการทำงานโดยทั่วไปของไมโครเวฟ

ไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูงมากถึง 2,450 ล้านรอบต่อวินาที มีลักษณะคล้ายกับคลื่นวิทยุแต่มีความถี่ที่สูงกว่า หัวใจสำคัญของเตาไมโครเวฟคือตัวแม่ดิตรอนที่จะเป็นตัวเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นคลื่นไมโครเวฟและคลื่นไมโครเวฟเป็นคลื่นความถี่สูงไมโครเวฟจึงไม่กระจายระบบการทำงานของเตาไมโครเวฟ คลื่นไมโครเวฟจะพุ่งเข้าสู่อาหารจากทุกทิศทางโดยรอบของผนังเตาด้านในแล้วแผ่กระจายไปสู่อาหาร เมื่อคลื่นไปกระทบอาหารทำให้โมเลกุลของอาหารเกิดการสั่นและเสียดสีกันก่อให้เกิดเป็นพลังงานความร้อนทำให้อาหารสุกอย่างรวดเร็วลักษณะเช่นเดียวกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่เราใช้มืออุกกันไปมาเร็วๆจะรู้สึกร้อนขึ้นมาทันที จากคุณสมบัติเด่นของคลื่นไมโครเวฟที่ทำให้อาหารสุกอย่างรวดเร็วจึงเป็นการรักษาคุณค่าของอาหารไว้อย่างครบถ้วนไม่ว่าจะเป็นการหุง ต้ม อบ นึ่ง ปิ้ง ย่าง ทอด และคุณสมบัติพิเศษที่ได้รับมากกว่าการประกอบอาหารด้วยวิธีดั้งเดิมหลายประการ เช่น ความสะอาดรวดเร็ว ประหยัด ปลอดภัย และไร้เขม่าควัน

### 2.5.2 คลื่นไมโครเวฟมีลักษณะเด่น 3 ประการคือ

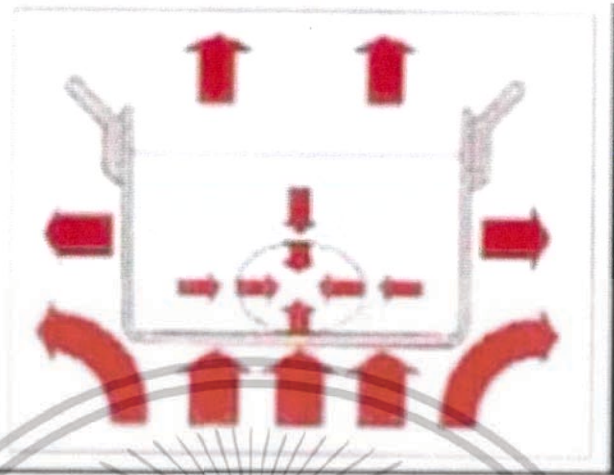
1.) การส่งผ่าน (Transmission) คลื่นไมโครเวฟสามารถทะลุผ่านภาชนะที่ทำด้วยแก้ว กระจกตาช ไม้ และพลาสติกได้เพราะภาชนะดังกล่าวไม่มีส่วนผสมของโลหะจึงเป็นภาชนะที่ใช้ได้ดีในเตาไมโครเวฟ

2.) การสะท้อนกลับ (Reflection) คลื่นไมโครเวฟเมื่อไปกระทบกับภาชนะที่เป็นโลหะหรือมีส่วนผสมของโลหะ คลื่นไมโครเวฟไม่สามารถทะลุผ่านภาชนะดังกล่าวได้จะสะท้อนกลับหมด ดังนั้นอาหารที่ใส่ในภาชนะดังกล่าวก็จะไม่สุก

3.) การดูดซึม (Absorption) ปกติอาหารโดยทั่วไปจะประกอบด้วยน้ำ โมเลกุลของน้ำในอาหารจะดูดซึมคลื่นไมโครเวฟทำให้อาหารร้อนอย่างรวดเร็วและอีกนัยหนึ่งเมื่อโมเลกุลของน้ำดูดซึมคลื่นไมโครเวฟแล้วจะสลายตัวในทันทีไม่สะสมในอาหาร

### 2.5.3 หลักการให้ความร้อน

การประกอบอาหารด้วยเตาไมโครเวฟนี้แตกต่างจากการประกอบอาหารด้วยเตาอบธรรมดา ดังรูปที่ 2.5 คือเตาอบธรรมดาให้พลังงานความร้อนโดยเปลวไฟแบบเตาอบแก๊สหรือความร้อนจากขดลวดไฟฟ้าซึ่งจะทำให้อาหารสุกโดยการถ่ายเทความร้อนคือการนำ การพา และการแผ่รังสี แต่เตาไมโครเวฟ ดังรูปที่ 2.6 ทำให้อาหารสุกโดยคลื่นไมโครเวฟที่ความถี่สูง ทำให้โมเลกุลของน้ำในอาหารเกิดการสั่นสะเทือนและชนโมเลกุลอื่นๆต่อไปจนเกิดเป็นพลังงานจลน์และพลังงานจลน์นี้เองจะกลายสภาพเป็นพลังงานความร้อนจึงทำให้อาหารสุกอย่างรวดเร็วและเร็วกว่าการประกอบอาหารด้วยระบบอื่นๆโดยไม่เสียพลังงานความร้อน



รูปที่ 2.5 แสดงการให้ความร้อนแบบธรรมชาติ  
ที่มา : ภูเบศวร์(2557)



รูปที่ 2.6 แสดงการให้ความร้อนแบบไมโครเวฟ  
ที่มา : ภูเบศวร์(2557)

#### 2.5.4 การรั่วไหลของคลื่นไมโครเวฟ

อันตรายที่ได้รับจากคลื่นไมโครเวฟที่รั่วออกจากเตาอบไมโครเวฟตามกฎหมายของประเทศสหรัฐอเมริกา นั้นควบคุมการรั่วไหลของคลื่นไมโครเวฟให้มีได้ไม่เกิน 1 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตรที่ 5 เซนติเมตรจากเตาอบใหม่ (เตาอบเก่า นั้นให้มีได้ 5 เท่า) โดยปกติแล้วโอกาสที่เตาไมโครเวฟจะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลื่นร่วออกมาเกินจากปริมาณที่กำหนดนี้จะมีน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับโทรศัพท์มือถือ(cellular phone) GSM ซึ่งแผ่คลื่นถึง 1 วัตต์ที่ 1800 เมกะเฮิรท์ซึ่งเท่ากับ 2 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตรที่ 5 เซนติเมตร อันตรายจากคลื่นโทรศัพท์มือถือนี้ยังไม่เป็นที่แน่ชัดและยังเป็นข้อถกเถียงกันอยู่

### 2.5.5 ขนาดความจุของเตาอบไมโครเวฟ

ขนาดความจุของเตาอบไมโครเวฟก็ถือเป็นปัจจัยสำคัญในการเลือกซื้อของผู้บริโภคเนื่องจากขนาดความจุจะสัมพันธ์กับระดับราคาและระดับการใช้พลังงาน ความจุที่มีขายในตลาดเริ่มต้นตั้งแต่ 17 ลิตรจนถึง 33 ลิตรมีระดับการใช้พลังงานตั้งแต่ 600 วัตต์จนถึง 1450 วัตต์ โดยขนาดความจุที่น้อยกว่าก็จะใส่ภาชนะและอาหารได้ไม่มากนักและกำลังวัตต์ที่ต่ำก็ต้องใช้ระยะเวลาในการทำอาหารที่นานขึ้นด้วย ความจุที่ถือว่าเป็นที่นิยมกันคือความจุประมาณ 22 ถึง 23 ลิตร ซึ่งเหมาะสมกับการใช้งานทั่วไป โดยลักษณะทั่วไป และส่วนประกอบภายในของเตาอบไมโครเวฟจะแสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะทั่วไปและส่วนภายในเตาอบไมโครเวฟ

ที่มา : <http://www.rmutphysics.com/charud/specialnews/5/microwave>

(สืบค้นวันที่ 27 ธันวาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 เอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (<http://www.accelerace.dupont.com>)

มีการรวมของเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการปรับเปลี่ยนและย่อยคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้ง รวมถึงย่อยวัสดุโครงสร้างของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส ซึ่งวัสดุลิกโนเซลลูโลสส่วนใหญ่ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเบต้ากลูแคนซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับลิกนิน เพคติน โปรตีน แป้ง และไขมัน เอนไซม์เชิงซ้อน ACCELLERASE 1500 มีการทำงานของเบต้ากลูโคซิเดสในระดับสูงไปจนถึง การเปลี่ยนของ cellobiose ไปเป็นน้ำตาลกลูโคส

### 2.6.1 การผลิต

เอนไซม์เชิงซ้อน ACCELLERASE 1500 ผลิตจากสายพันธุ์ของเชื้อรา *Trichoderma reesei*

### 2.6.2 ค่า pH และอุณหภูมิ

เอนไซม์เชิงซ้อน ACCELLERASE 1500 มีการดำเนินงานที่ดีที่สุด คือ อุณหภูมิ 50-65 ° C (122-149 ° F) และ ค่า pH 4.0-5.0

## 2.7 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์

กระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลด้วยยีสต์นั้นในระดับอุตสาหกรรมมีกระบวนการผลิตแตกต่างกันไป รวมถึงยีสต์ที่ได้รับความสนใจและถูกเลือกใช้ในการหมัก ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvaum* (*carlsbergensis*), *Shizosaccharomyces pombe* และ *Kluyveromyces species* สำหรับแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจและมีการนำมาใช้ในกระบวนการหมัก ได้แก่ *Zymomonas mobilis* ซึ่งการเลือกใช้จุลินทรีย์ชนิดใดก็ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ที่นำมาใช้ สำหรับ *Zymomonas mobilis* และ *Saccharomyces cerevisiae* ต่างมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในกระบวนการหมักในระดับอุตสาหกรรม กรณีเลือกใช้ *Z. mobilis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงแต่มีชีวมวลต่ำ และมีความทนต่อเอทานอลต่ำกว่ายีสต์ จึงจำเป็นต้องมีความระมัดระวังในเรื่องของการกำจัดเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นเมื่อคำนึงถึงแง่เศรษฐศาสตร์ โรงงานอุตสาหกรรมทั่วไปจึงให้ความสนใจ *S. cerevisiae* (ชุตินา, 2548)

กระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์หลักการคือ เป็นการสลายกลูโคสโดยไม่ใช่ออกซิเจน เริ่มต้นด้วยไกลโคไลซิสเช่นเดียวกับการสลายอาหารแบบใช้ออกซิเจนกล่าวคือ กลูโคส 1 โมเลกุลสลายได้กรดไพรูวิก 2 โมเลกุล แล้วปล่อย ATP 2 โมเลกุล และ ไฮโดรเจน 4 อะตอม NAD จะมารับไฮโดรเจนเป็น NADH+H<sup>+</sup> และจะถ่ายทอดอะตอมของไฮโดรเจนให้กับแอสिटัลดีไฮด์ ซึ่งมีคาร์บอน 2 อะตอม จึงไม่สามารถนำเอาพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิเล็กตรอนที่มีอยู่ในอะตอมของไฮโดรเจนมาสร้าง ATP ได้อีก ดังนั้นการสลายกลูโคส 1 โมเลกุล จึงได้ ATP เพียง 2 โมเลกุลเท่านั้น เอทานอลที่ได้จากการสลายกลูโคสถ้ามีปริมาณมากจะเป็นอันตรายต่อเซลล์ ร่างกายจะมีกระบวนการเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นสารอื่นที่ไม่เป็นอันตรายแก่เซลล์ และขับออกจากร่างกายโดยระบบขับถ่าย

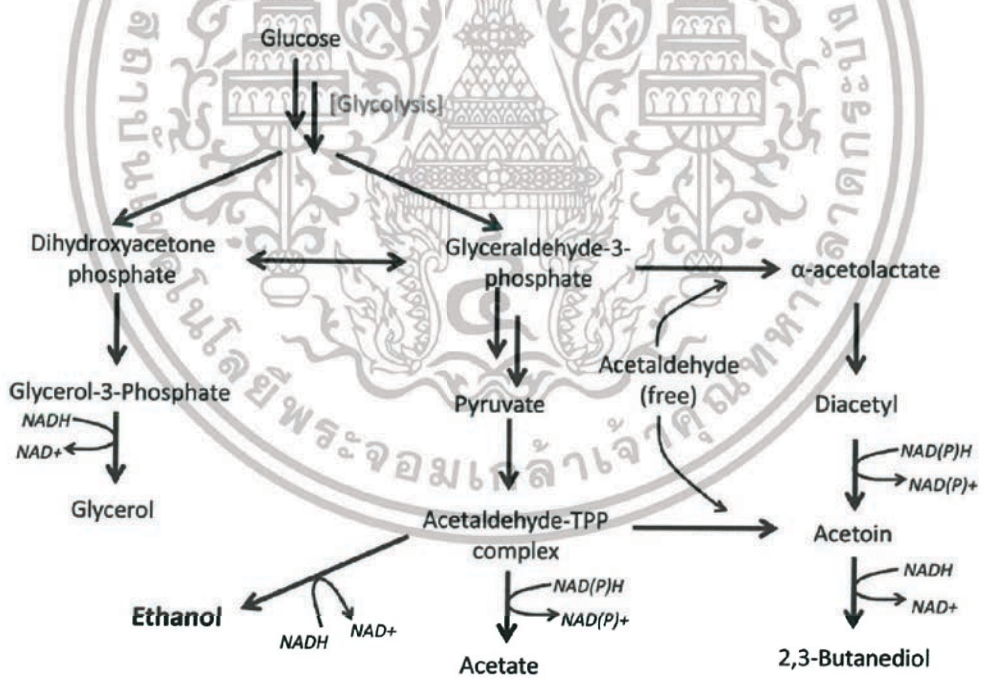
เมื่อนำยีสต์มาเลี้ยงในน้ำตาลจะได้เอทานอลถึงแม้เอทานอลจะเป็นพิษต่อยีสต์ก็ตาม การหมักนั้นจะไม่ให้อากาศเข้าสู่ภาชนะที่ใช้หมักและให้อาหารยีสต์อย่างเพียงพอ จะเกิดสมการดังนี้



แต่ถ้าอากาศเข้าสู่ภาชนะที่ใช้หมักจะทำให้ยีสต์หายใจแบบใช้ออกซิเจน เกิดสมการดังนี้



เอทานอลที่ได้จะมีพลังงานศักย์สะสมอยู่เพราะสามารถติดไฟได้ จึงกล่าวได้ว่าเป็นการสลายของอาหารที่ไม่สมบูรณ์ ส่วนสมการที่ใช้  $O_2$  ไม่เหลือพลังงานอยู่ในส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์ ดังรูปที่ 2.8 (Darunee, 2545)



รูปที่ 2.8 แผนภาพแสดงวิถีเมแทบอลิซึมของยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

ที่มา : <http://www.researchgate.net> (สืบค้นวันที่ 27 ธ.ค. 2559)

## 2.8 การจัดลำดับชั้นอนุกรมวิธานของ *Saccharomyces cerevisiae* (จีระพงษ์ และ คณษ, 2549)

เป็นการจำแนกยีสต์ออกเป็นหมวดหมู่ตามสายวิวัฒนาการ โดยจะเริ่มจาก Kingdom ไป Phylum ไป Class ไป Order ไป Family ไป Genus ไป Species ดังต่อไปนี้

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Ascomycetes
Order	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>

### 2.8.1 *Saccharomyces cerevisiae* (ปฏิพล, 2555)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งอยู่ในอาณาจักรฟังไจ (Fungi) ซึ่งเป็นอาณาจักรเดียวกับรา ยีสต์มีเซลล์ชนิดยูคาริโอต (Eukaryote) เป็นเซลล์เดี่ยวรูปร่างกลม รูปไข่ หรือเหมือนผลเลมอน มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 5 ไมครอน มีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์เดี่ยว ส่วนใหญ่เพิ่มจำนวนโดยไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (Budding) บางชนิดมีการเพิ่มจำนวนแบบแบ่งตัว (Fission) หรือการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ (Ascospore) (สาวิตรี, 2549) ดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : <http://danielseobiodiversity.blogspot.com> (สืบค้นวันที่ 27 ธ.ค. 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

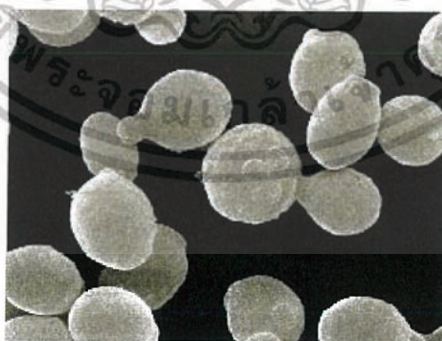
ยีสต์มีความสำคัญทางด้านอาหารทั้งในแง่ประโยชน์ และทำให้เกิดความเสียหายแก่อาหาร ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณ ผู้กล่าวว่ายีสต์นั้นเป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาใช้เช่น การทำอาหารหมักบางชนิด ได้แก่ ข้าวหมาก ปลาแจ่ว เครื่องดองของเมาหลายชนิด เช่น อุ สาโท และกระแช่ เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ เบียร์ ไวน์ และวิสกี การผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นสารเคมี และเชื้อเพลิง เป็นต้น (เดือนรุ่ง และคณะ, 2549)

ผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมที่ใช้ยีสต์ในการผลิต สามารถแบ่งกว้างๆได้เป็น

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

#### 2.8.2 ลักษณะและคุณสมบัติทั่วไปของเชื้อ *Pichia stipitis*

*Pichia stipitis* เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมซึ่งเป็นส่วนประกอบของวัตถุดิบประเภทลิโนเซลลูโลส จึงสามารถนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลได้ ดังรูปที่ 2.10 (ประเวทย์ และคณะ , 2552) แต่ยีสต์เหล่านี้ไม่สามารถทนปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงได้ รวมถึงสารพิษต่างๆที่ปนเปื้อนเข้ามาจากกระบวนการปรับสภาพ (อภิขญา และคณะ, 2558)



รูปที่ 2.10 ลักษณะสัณฐานของเชื้อยีสต์ *Pichia stipitis*

ที่มา : <http://genome.jgi.doe.gov/Picst3/Picst3.home.html>

(สืบค้นวันที่ 29 ธันวาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.8.3 คุณสมบัติของยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิตเอทานอลควรมีลักษณะดังนี้ (นฤมล, 2549)

1. สามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลายชนิด
2. ให้ผลผลิตสูงและมีอัตราการหมักเอทานอลเร็ว ทำให้ต้นทุนการผลิตลดลง
3. มีความทนต่อเอทานอล เนื่องจากระหว่างการหมักจะมีเอทานอลบางส่วนสะสมอยู่ในเซลล์ ซึ่งอาจทำให้เซลล์ยีสต์แตกได้ ยีสต์ที่สามารถทนต่อความเข้มข้นของเอทานอลได้สูงจึงส่งผลให้มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น
4. มีความทนต่ออุณหภูมิสูง (Thermotolerance) เพราะในกระบวนการผลิตเอทานอลจะมีการปลดปล่อยพลังงานความร้อนออกมาทำให้อุณหภูมิในการหมักสูงขึ้นมีผลต่อการอยู่รอด และกิจกรรมการทำงานของยีสต์ ยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูงจึงส่งผลให้มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น
5. ทนพีเอช (pH) ต่ำหรือทนกรด (Acid tolerance) ในกระบวนการผลิตจะเกิดการทำให้พีเอชของอาหารลดลง ยีสต์ที่สามารถทนพีเอชต่ำได้จะส่งผลให้มีการผลิตเอทานอลสูงขึ้นด้วย
6. มีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงในสถานะต่างๆ ของการหมัก และมีความยืดหยุ่นที่ไม่เปลี่ยนแปลงได้ง่าย ส่งผลให้ประสิทธิภาพและคุณภาพในการผลิตเอทานอลสม่ำเสมอ
7. มีความสามารถในการตกตะกอน (Flocculation) ทำให้ง่ายต่อการเก็บเกี่ยวและนำเซลล์ยีสต์กลับมาใช้ใหม่ได้
8. มีความทนต่อแรงดันออสโมซิส (Osmotolerance) ทำให้สามารถใช้อาหารที่มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นสูงๆ และช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ทนต่อแรงดันออสโมซิส จึงมีผลให้การผลิตเอทานอลมากขึ้น

## 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zhu และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลสด้วยคลื่นไมโครเวฟ โดยใช้วัตถุดิบคือชานอ้อย ชานอ้อยเป็นวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสที่ประกอบไปด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ที่มีน้ำตาล คาร์บอน 6 และ 5 อะตอมตามลำดับ และลิกนิน จึงทำการศึกษาการปรับสภาพกากชานอ้อยเพื่อที่จะกำจัดลิกนินโดยใช้คลื่นรังสีไมโครเวฟร่วมกับสารละลายกรดซัลฟิวริกและสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ และนำส่วนที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อนร่วมกับการใช้สารเคมี (Physicochemical pretreatment) ไปย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลที่มากขึ้น ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำตาลที่ได้สูงถึง 4 เท่า และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีการปรับสภาพทั่วไปถึง 5.7 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่า สารละลายต่าง โซเดียมไฮดรอกไซด์นั้นเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการปรับสภาพเพราะไม่ก่อให้เกิดสารพิษและเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการปรับสภาพด้วยคลื่นรังสีไมโครเวฟร่วมกับสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดซัลฟิวริก จึงสรุปได้ว่า การปรับสภาพโดยการให้ความร้อนจากคลื่นรังสีไมโครเวฟร่วมกับการใช้สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีประสิทธิภาพสูงกว่าและดีกว่า ใช้เวลาน้อยกว่าวิธีการปรับสภาพโดยใช้ความร้อนแบบดั้งเดิม

Giselli และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาเรื่องการใช้คลื่นความถี่สูงร่วมกับการใช้ต่างในการปรับสภาพของกากชานอ้อยเพื่อผลิตเอทานอลพบว่า อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการกำจัดลิกนินและคลื่นความถี่สูงจะมีผลต่อการย่อยของเอนไซม์ ถ้าใช้คลื่นความถี่สูงร่วมกับต่างจะทำให้มีน้ำตาลสูงกว่าการปรับสภาพด้วยต่างเพียงอย่างเดียว ซึ่งผลจากการทดลองนี้พบว่าใช้ต่างในการปรับสภาพที่ 0.125 กรัมต่อกรัมซัสเตรท อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ที่กำลังไฟ 140 วัตต์ มีผลทำให้มีน้ำตาลสูงสุด

Rabelo และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพกากชานอ้อยด้วยต่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาผลิตเอทานอลโดยใช้ลิกโนเซลลูโลสซึ่งมีการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายและการหมักโดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าการคัดแยกขนาดอนุภาคด้วยการร้อนโดยตะแกรงไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้ ซึ่งการปรับสภาพกากชานอ้อยจะใช้ในการเพิ่มความสามารถย่อยของเอนไซม์โดยไม่จำเป็นต้องลดขนาดอนุภาคก่อนและในการปรับสภาพที่เหมาะสม คือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.84 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากชานอ้อย ย่อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ 25 องศาเซลเซียส และสภาวะของการย่อยสลายที่เหมาะสม คือ ใช้เอนไซม์เซลลูเลส 3.5 เอฟฟิยูต่อกรัมของกากชานอ้อย และ  $\beta$ -glucosidase 25 ซีบียูต่อกรัมของกากชานอ้อย จะได้น้ำตาลกลูโคส 416.7 กิโลกรัมต่อตันของกากชานอ้อย และการหมักของส่วนที่ได้จากการย่อยอย่างเดียวจะทำให้ได้ปริมาณเอทานอล 187.85 กิโลกรัมต่อตันของกากชานอ้อย

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806  
 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

#### 3.2 สารเคมี

- 3.2.1 Glucose
- 3.2.2 Agar
- 3.2.3 Yeast extract
- 3.2.4 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)
- 3.2.5 Sodium hydroxide
- 3.2.6 Absolutely ethyl alcohol ( $C_2H_5OH$ )
- 3.2.7 เอนไซม์ ACCELLERASE 1500
- 3.2.8 Acetic acid
- 3.2.9 Sodium acetate

#### 3.3 วัตถุดิบ

ชานอ้อย ได้รับความอนุเคราะห์จาก ร้านชานน้ำอ้อย เขตลาดกระบัง (ไร่เพาะปลูก จังหวัดชลบุรี)

#### 3.4 อุปกรณ์

- 3.4.1 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) รุ่น GC-2014 Chromatograph ยี่ห้อ Shimadzu
- 3.4.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Clean Bench) รุ่น BVT123 ยี่ห้อ Iasco
- 3.4.3 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) รุ่น Polar1000/Orbit1900 ยี่ห้อ Contherm/Labnet
- 3.4.4 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Centrifuge) รุ่น Z383K ยี่ห้อ Hermle
- 3.4.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Helios Gramma ยี่ห้อ Thermo Electron Corporation
- 3.4.6 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) รุ่น Starter 3000 ยี่ห้อ Ohaus
- 3.4.7 ชั่งเครื่อง 2 ตำแหน่ง รุ่น PG5002 ยี่ห้อ Mettler Toledo
- 3.4.8 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น SI-234 ยี่ห้อ Denver Instrument
- 3.4.9 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รุ่น WNB 45 ยี่ห้อ Memmert

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.4.10 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น ES-315 ยี่ห้อ Tomy
- 3.4.11 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) รุ่น Modell 600 ยี่ห้อ Memmert
- 3.4.12 ตู้เย็น
- 3.4.13 โถดูดความชื้น (Desicator)
- 3.4.14 เครื่องแก้ว (พลาสติก หลอดทดลอง กรวย ปีกเกอร์ ฯลฯ)
- 3.4.15 อุปกรณ์วัดปริมาตร (ปิเปต ไมโครปิเปต กระบอกตวง ฯลฯ)
- 3.4.16 ลวดเย็บเยื่อ
- 3.4.17 จุกยางปิดพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร

### 3.5 การเตรียมวัตถุดิบ

#### 3.5.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำขานอ้อยมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ มีขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน นำมาบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบด และ ร้อนด้วยตระแกรงร้อนให้ มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง 850 ไมโครเมตร เก็บในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 3.5.2 การปรับสภาพ (Pretreatment) ขานอ้อยโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์

ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมัก ต้องทำการปรับสภาพวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลสก่อนเพื่อให้มีความเหมาะสมต่อกระบวนการหมักในขั้นตอนต่อไป โดยทำการศึกษา

##### 3.5.2.1 ศึกษากำลังวัตต์ของคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพขานอ้อย

นำขานอ้อยที่ได้จากการบดแห้งมา 10 กรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ใช้อัตราส่วนขานอ้อยต่อสารละลาย 1 : 10) นำมาให้ความร้อนโดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟต่างๆ ดังนี้ 100 200 400 และ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นกรองแยกส่วนของเหลวและกากออกจากกันโดยใช้ผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำสะอาด จนน้ำที่ล้างสุดท้ายมีพีเอชเป็นกลาง นำส่วนกากไปอบในตู้อบลมร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงจนแห้งซึ่งน้ำหนักที่ได้ จากนั้นนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ 1 มิลลิลิตรต่อกรัมของขานอ้อย บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตามวิธีของ Duangjai และ Atcharaporn (2014) เมื่อครบเวลานำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที นำส่วนของเหลวที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีดิฟด้วยวิธี DNS (Miller,1959) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อคัดเลือกกำลังไฟที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิฟสูงมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

### 3.5.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำขานอ้อยที่ได้จากการบดแห้งมา 10 กรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ใช้อัตราส่วนขานอ้อยต่อสารละลาย 1:10) นำมาให้ความร้อนโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ กำลังไฟที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อที่ 3.5.2.1 ทำการแปรผันเวลาในการใช้คลื่นไมโครเวฟดังนี้ 1 2 3 4 และ 5 นาที กรองแยกส่วนของเหลวกับส่วนกากออกจากกันโดยใช้ผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีพีเอชเป็นกลาง นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนแห้งและนำไปชั่งน้ำหนักที่ได้ จากนั้นนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แยกส่วนของเหลวมาทำการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิฟโดยใช้วิธี DNS ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คัดเลือกเวลาที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิฟสูงมาใช้ในการศึกษาหัวข้อต่อไป

### 3.5.2.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพ

นำขานอ้อยที่ได้จากการบดแห้งมา 10 กรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งทำการแปรผันความเข้มข้นดังนี้ 1 2 4 6 8 และ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร (ใช้อัตราส่วนของขานอ้อยต่อสารละลาย 1:10) ให้ความร้อนโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.2.1 และใช้เวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.2.2 กรองแยกส่วนของเหลวกับกากออกจากกัน โดยใช้ผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำส่วนกากมาล้างด้วยน้ำสะอาด จนน้ำสุดท้ายมีพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงจนแห้ง เมื่อครบเวลานำไปชั่งน้ำหนัก และนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที และนำของเหลวที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิฟโดยใช้วิธี DNS ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิฟสูงมาใช้ในการกระบวนการหมักต่อไป

### 3.5.3 การย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

นำขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ เติมเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อกรัมของขานอ้อย เติมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความ

เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้น นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำของเหลวส่วนใสที่ได้มา วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี DNS

### 3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) ในส่วนของ ขานอ้อย

นำขานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและขานอ้อยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร่วมกับคลีนไมโครเวฟ ล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีพีเอช เป็นกลางอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) โดยวิเคราะห์ในรูปแบบ Neutral Detergent Fiber (NDF) , Acid Detergent Fiber (ADF) และ Acid Detergent Lignin (ADL) (Van Soest และคณะ, 1959)

### 3.5.5 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และอะราบิโนส

นำตัวอย่างของขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลีนไมโครเวฟ และไฮโดรไลสส่วนของเหลวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลีนไมโครเวฟ และ ย่อยด้วยเอนไซม์ วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล กลูโคส ไซโลส และ อะราบิโนส โดยตัวอย่างส่งไปวิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยเครื่องมือคอมพิวเตอร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ตามวิธีวิเคราะห์ในหัวข้อ 3.5.7.5

### 3.5.6 ศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดย เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806

#### 3.5.6.1 การเตรียมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เจริญบนอาหาร YPD (ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 10 กรัม ต่อลิตร เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 25 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.0) ลงในอาหาร YPD broth ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคส 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศ โดยวางบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ 0.5 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมัก (Yadav และคณะ, 2011)

### 3.5.6.2 การเตรียมหัวเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

ถ่ายเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่เจริญบนอาหาร MGYP (ประกอบด้วย มอลต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร เปปโทน 20 กรัมต่อลิตร กลูโคส 5 กรัมต่อลิตร โซลอส 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 25 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.0) ลงในอาหาร MGYP broth ซึ่งมีน้ำตาลโซลอส 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศโดยวางบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ 0.5 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมัก (Yadav และคณะ, 2011)

### 3.5.6.3 กระบวนการหมักไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

นำไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ปรับพีเอชเป็น 5.5 ใส่พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที (Pasha และคณะ, 2007) ทำให้อาหารเย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เตรียมได้จากหัวข้อ 3.5.6.1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) รวมทั้งค่าพีเอช

### 3.5.6.4 กระบวนการหมักไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

ทำการหมักเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.6.3 โดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้างต้น

### 3.5.6.5 กระบวนการหมักไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนของเชื้อที่แตกต่างกัน

นำไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ปรับพีเอชเป็น 5.5 ใส่พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำให้อาหารเย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เตรียมได้จาก

หัวข้อ 3.5.6.1 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่เตรียมได้จากหัวข้อ 3.5.6.2 ในอัตราส่วน *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *P. stipitis* TISTR 5806 ดังนี้ 4:1 2:1 1:1 1:2 1:4 โดยใช้หัวเชื้อผสมร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น รวมทั้งค่าพีเอช

### 3.5.6.6 ศึกษาค่าทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

ทำการหมักเอทานอลโดย *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่าง ณ ช่วงเวลาต่างๆ นำมาวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และพีเอช เพื่อคำนวณค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก โดยคำนวณหาค่าผลได้ผลิตภัณฑ์ต่อชั่วโมงต่อหน่วยกรัมน้ำตาลต่อกรัม ( $Y_{p/s}$ ) และค่าประสิทธิผลการผลิต (Productivity) ของผลิตภัณฑ์ ในหน่วยกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

### 3.5.7 การวิเคราะห์ผล

#### 3.5.7.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี DNS (Miller, 1959)

การทำกราฟมาตรฐาน โดยนำกลูโคสไปอบแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ซึ่งกลูโคสที่ผ่านการอบแห้ง 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0 100 200 400 600 800 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และเติมสารละลายดีเอ็นเอส (DNS) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง นำตัวอย่างน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการเจือจางที่เหมาะสม และทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีดีเอ็นเอส (DNS) เช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐาน นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง

### 3.5.7.2 การวิเคราะห์พีเอชของน้ำหมัก

นำตัวอย่างน้ำหมักที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำส่วนใสวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) รุ่น Starter 3000 ยี่ห้อ Ohaus

### 3.5.7.3 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

นำตัวอย่างน้ำหมักปริมาตร 7 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตะกอนที่ได้อบให้น้ำหนักคงที่ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาชั่งและคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งในหน่วยกรัมต่อลิตรโดยคำนวณดังนี้

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

### 3.5.7.4 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Jekel, 2005)

นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีรุ่น Shimadzu 2014 คอลัมน์ที่ใช้คือ DB-1 โดยใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา ซึ่งมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดเป็นชนิด Flame Ionization Detector (FID) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (Injector) อยู่ที่ 150 องศาเซลเซียส

### 3.5.7.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ไซโลส อะราบิโนส

นำของเหลวส่วนใสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ BP-800 Ca<sup>++</sup> (24267) เส้นผ่านศูนย์กลาง 300 × 7.8 มิลลิเมตร ตัวตรวจวัดชนิด refractive index detector (RI Detector) อุณหภูมิภายในตัวตรวจวัด 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 80 องศาเซลเซียส ใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที

### 3.5.7.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

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



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการศึกษากำลังไฟที่เหมาะสมในการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากชานอ้อย

จากการศึกษาการปรับสภาพกากชานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร่วมกับการให้ความร้อนโดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟต่างๆดังนี้ 100 200 400 และ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำตัวอย่างส่วนกากของกากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากชานอ้อยร่วมกับอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ จากการศึกษาพบว่ากำลังไฟ 100 วัตต์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุดเท่ากับ  $8.18 \pm 0.12$  กรัมต่อลิตร เมื่อใช้กำลังไฟ 200 วัตต์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $10.91 \pm 0.06$  กรัมต่อลิตร เมื่อใช้กำลังไฟ 400 วัตต์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $12.42 \pm 0.08$  กรัมต่อลิตร และเมื่อใช้กำลังไฟ 800 วัตต์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ  $14.96 \pm 0.10$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.1 และ รูปที่ 4.1 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่กำลังไฟ 800 วัตต์เป็นเวลา 2 นาทีให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด และมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้กำลังไฟที่ 100 200 และ 400 วัตต์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Conesa และคณะ (2016) พบว่า การใช้กำลังไฟของคลื่นไมโครเวฟที่สูงขึ้นทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิที่สูงมากเกินไปจะทำให้ปริมาณน้ำตาลลดลงเนื่องจากน้ำตาลมีการสลายตัว ดังนั้นจึงต้องใช้สภาวะที่กำลังไฟที่เหมาะสมในการปรับสภาพวัตถุดิบ ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้กำลังไฟที่ 800 วัตต์มาใช้ในการปรับสภาพชานอ้อยในการศึกษาต่อไป

**ตารางที่ 4.1** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

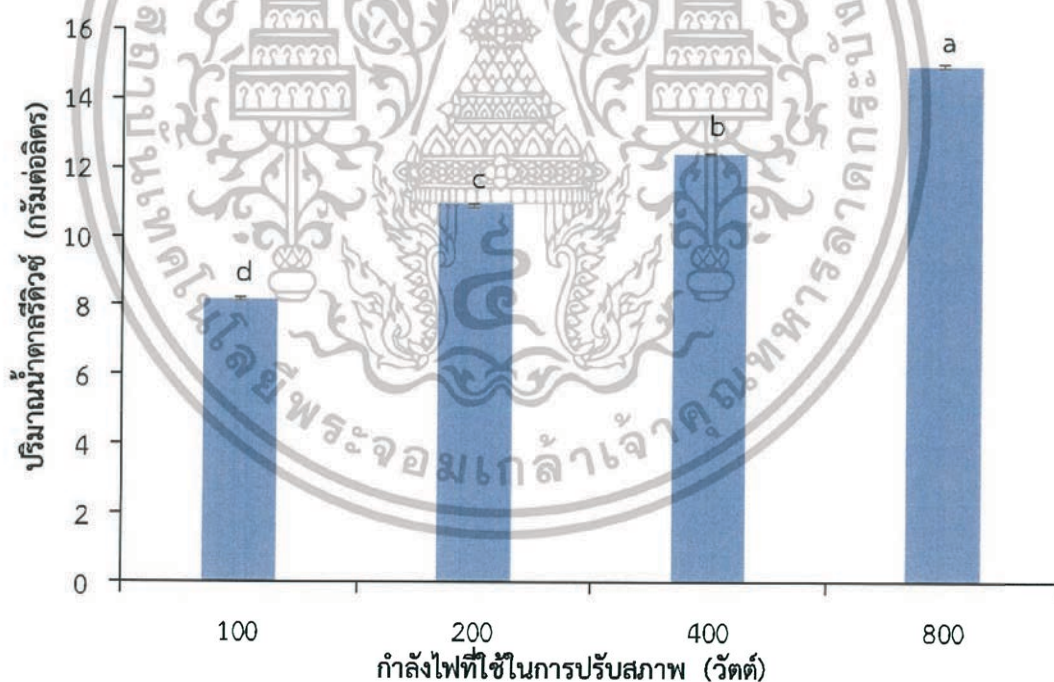
กำลังไฟที่ใช้ในการปรับสภาพ (วัตต์)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
100	$8.18 \pm 0.12^d$
200	$10.91 \pm 0.06^c$
400	$12.42 \pm 0.08^b$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1(ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากขานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

กำลังไฟที่ใช้ในการปรับสภาพ (วัตต์)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
800	14.96 ± 0.10 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพขานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟแตกต่างกัน และนำส่วนกากขานอ้อยย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากขานอ้อย

จากการศึกษาการปรับสภาพกากขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร่วมกับการให้ความร้อนโดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่ กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลาต่างกัันดังนี้ 1 2 และ 3 นาที จากนั้นนำตัวอย่างส่วนกากของกากขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากขานอ้อยร่วมกับอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ จากการศึกษาพบว่าเวลา 1 นาทีให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุดเท่ากับ  $12.48 \pm 0.07$  กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เวลา 2 นาทีให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $14.95 \pm 0.16$  กรัมต่อลิตร และเมื่อใช้เวลา 3 นาทีให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ  $17.38 \pm 0.14$  กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 กำลังไฟ 800 วัตต์เป็นเวลา 3 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด และมีความแตกต่างทางสถิติกับการใช้เวลา 1 และ 2 นาที แต่เกิดการไหม้ของกากขานอ้อยและมีการทะลักออกมานอกฟลasks ขณะเข้าเครื่องไมโครเวฟในการศึกษาต่อไปจึงเลือกการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงรองลงมาจากการใช้เวลา 3 นาที ในการปรับสภาพกากขานอ้อย และจากการศึกษาของ Zhu และคณะ (2016) พบว่าในการปรับสภาพวัตถุดิบจำพวกกลีโคเซลลูโลส โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายต่าง ระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการปรับสภาพนั้นเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากจะทำให้มีการปลดปล่อยน้ำตาลออกจากสารโมเลกุลใหญ่ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ปริมาณมากขึ้น แต่ถ้าใช้ระยะเวลาที่มากเกินไปน้ำตาลที่ปล่อยออกมาและวัตถุดิบจะเกิดการไหม้และการสลายตัวได้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากขานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่ กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลาต่างๆ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

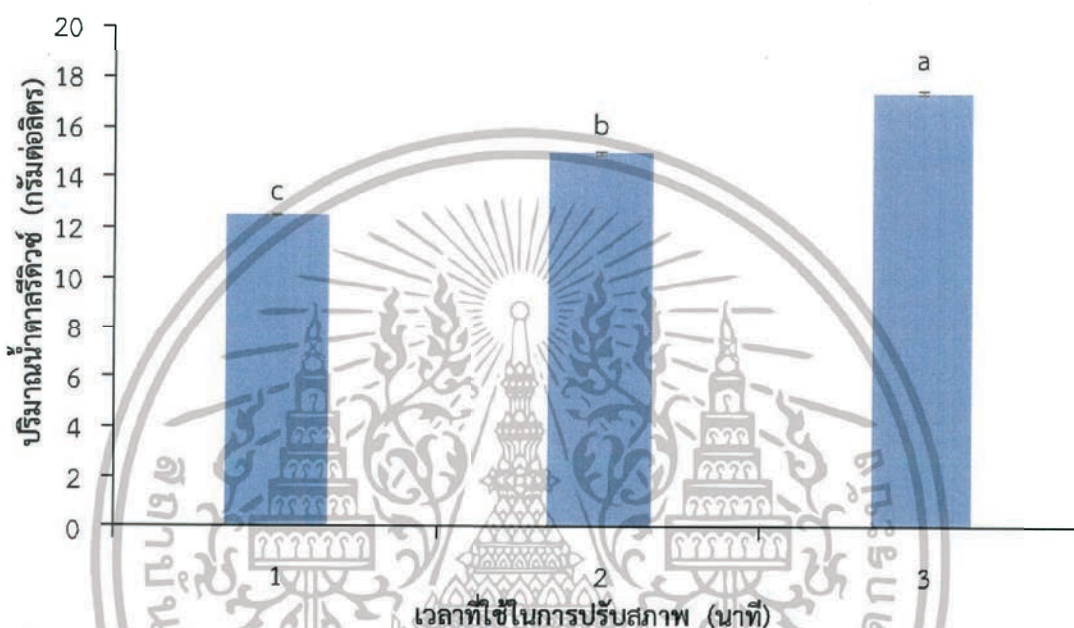
เวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ (นาที)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
1	$12.48 \pm 0.07^c$
2	$14.95 \pm 0.16^b$
3	$17.38 \pm 0.14^a$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาสรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากขานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลาแตกต่างกัน และนำส่วนกากขานอ้อยย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

#### 4.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพ

จากการศึกษาการปรับสภาพกากขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันดังนี้ ร้อยละ 1 2 4 6 8 และ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร่วมกับการให้ความร้อนโดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำตัวอย่างส่วนกากของกากขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากขานอ้อย ร่วมกับอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 ป่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาสรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 ให้ปริมาณน้ำตาสรีดิวซ์ต่ำสุดเท่ากับ  $10.92 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $14.79 \pm 0.33$  กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 4 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $16.82 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 6 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $17.81 \pm 0.16$  กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ  $18.69 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร และเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 10 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงที่สุดเท่ากับ  $18.88 \pm 0.31$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงตามตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3 ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 มาใช้ในการปรับสภาพกากชานอ้อยในการศึกษาต่อไป Viravada และคณะ (2013) และ Zhu และคณะ (2016) กล่าวว่า การใช้สารละลายต่างในการปรับสภาพวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลส สารละลายต่างสามารถไปย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสให้เป็นสารโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม เป็นส่วนใหญ่ และน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมเพียงเล็กน้อย เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการหมัก และความเข้มข้นของสารละลายต่างก็เป็นปัจจัยที่สำคัญ โดยพบว่า สารละลายต่าง เช่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้นสูงกับความเข้มข้นต่ำ พบว่าถ้าใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นสูงขึ้นจะทำให้มีปริมาณน้ำตาลมากขึ้น นอกจากนี้สารละลายต่างยังสามารถกำจัดลิกนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้เอนไซม์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพในกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์

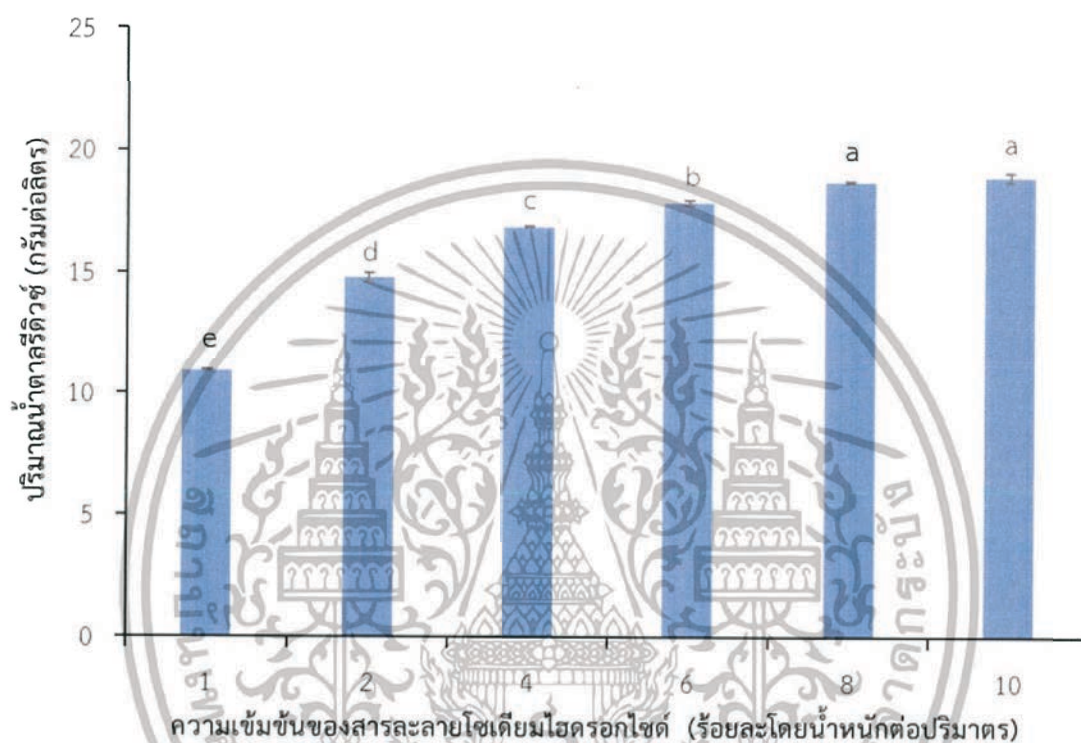
**ตารางที่ 4.3** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
1.0	$10.92 \pm 0.05^e$
2.0	$14.79 \pm 0.33^d$
4.0	$16.82 \pm 0.05^c$
6.0	$17.81 \pm 0.16^b$
8.0	$18.69 \pm 0.05^a$
10.0	$18.88 \pm 0.31^a$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีตวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วยความเข้มข้นแตกต่างกันร่วมกับคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และนำส่วนกากชานอ้อยย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

#### 4.4 ผลการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) ในชานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและปรับสภาพ

จากการนำชานอ้อยอบแห้งและชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 น้ำหนักโดยปริมาตร ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และนำส่วนของชานอ้อยที่กรองได้มาล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำสุดท้ายมีพีเอชเป็นกลาง นำชานอ้อยไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส พบว่า ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ให้ปริมาณลิกนินร้อยละ 6.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

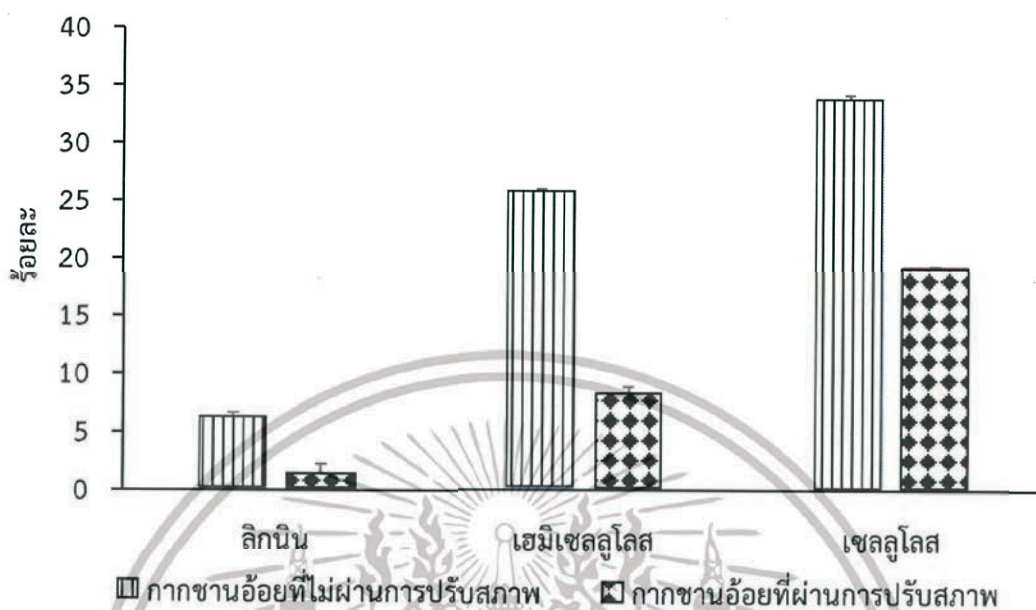
เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 34.00 25.75 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพ ให้ปริมาณลิกนิน 1.36 เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 19.46 8.21 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4 ซึ่งการทดลองของ Thongmitr และคณะ (2012) พบว่าในกากชานอ้อยมีปริมาณเซลลูโลสมากที่สุดเท่ากับร้อยละ 46.23 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 23.65 และลิกนินร้อยละ 12.46 ซึ่งปริมาณองค์ประกอบที่แตกต่างกันในตัวอย่างของ กากชานอ้อยเนื่องจากมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ ภูมิภาค สารอาหารในแหล่งน้ำและเวลาในการเก็บตัวอย่างที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าชานอ้อยเมื่อผ่านการปรับสภาพมีผลทำให้ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Fan และคณะ (2013) ซึ่งได้ศึกษาการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งจำพวกลิกโนเซลลูโลสโดยใช้ความร้อนร่วมกับสารละลาย พบว่าปริมาณเซลลูโลสลดลง อาจเนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการปรับสภาพทำให้มีการสูญเสียมวลหรือเกิดการไหม้

Zhu และคณะ (2016) พบว่ากากชานอ้อยมีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินร้อยละ 25 48 31 ตามลำดับ เมื่อปรับสภาพโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ กำลังไฟ 320 วัตต์ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 โมลาร์ เป็นเวลา 7 นาที นำมาตรวจสอบด้วยเครื่อง FT-IR พบว่า มีปริมาณลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสลดลง การที่เฮมิเซลลูโลสลดลงอาจเนื่องจากการปลดปล่อยน้ำตาลคาร์บอนทำอะตอมออกมาคือ โซโลส อะราบิโนส ละลายออกมาซึ่งเกิดจากการทำงานของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่ปริมาณเซลลูโลสกลับเพิ่มขึ้น ดังนั้นการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถทำลายโครงสร้างของลิกนินได้ และเพิ่มพื้นที่ผิวของเซลลูโลส และการศึกษาของ Jin และคณะ (2016) พบว่า การปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำให้ปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลสลดลงนั้นเนื่องมาจาก ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสละลายออกมาพร้อมกันอยู่ในส่วนของเหลว ทำให้ในขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

**ตารางที่ 4.4** ปริมาณลิกโนเซลลูโลสในชานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที

ตัวอย่างชานอ้อย	ลิกนิน (ร้อยละ)	เซลลูโลส (ร้อยละ)	เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)
ชานอ้อยไม่ผ่านการปรับสภาพ	6.42	34.00	25.75
ชานอ้อยผ่านการปรับสภาพ	1.36	19.46	8.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ปริมาณลิกนินเซลลูโลสในชานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และผ่านการปรับสภาพ

#### 4.5 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาล กลูโคส ไซโลส และอะราบิโนส ในส่วนของเหลวของกากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพ และ ย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

จากการนำกากชานอ้อยปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และนำกากชานอ้อยปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาทีย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 นำส่วนของเหลววิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ได้แก่ กลูโคส ไซโลส และอะราบิโนส พบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 5.20 กรัมต่อลิตร และเป็นน้ำตาลอะราบิโนส 5.20 กรัมต่อลิตร และตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 3.79 กรัมต่อลิตร เป็นกลูโคส ไซโลส และอะราบิโนส 2.03 0.45 และ 1.31 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในส่วนของเหลวของกากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาทีและกากชานอ้อยปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาทีย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

สภาวะการทดลอง	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ไซโลส (กรัมต่อลิตร)	อะราบิโนส (กรัมต่อลิตร)
ชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพ ด้วย NaOH + คลื่นไมโครเวฟ	5.20	0.00	0.00	5.20
ชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพ ด้วย NaOH + คลื่นไมโครเวฟ + ย่อยด้วยเอนไซม์	3.79	2.03	0.45	1.31

#### 4.6 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอล

4.6.1 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

การศึกษาระบวนการหมักในไฮโดรไลสเสทส่วนกาก ปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.5 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีและนำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอลและค่าพีเอชของน้ำหมัก จากการศึกษาพบว่า ไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลสเสทเท่ากับ  $17.86 \pm 0.06$  กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆ จนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ  $3.51 \pm 0.02$  กรัมต่อลิตร การที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเนื่องจาก ยีสต์มีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณและนำน้ำตาลไปใช้ในการเจริญและการผลิตเอทานอลส่งผลให้น้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็ว (Janman และคณะ, 2015) ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 24-48 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $3.30 \pm 0.08$  กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลงเล็กน้อย เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเอทานอลสูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณเอทานอลที่ ชั่วโมงที่ 0 12 24 36 และ 60 ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

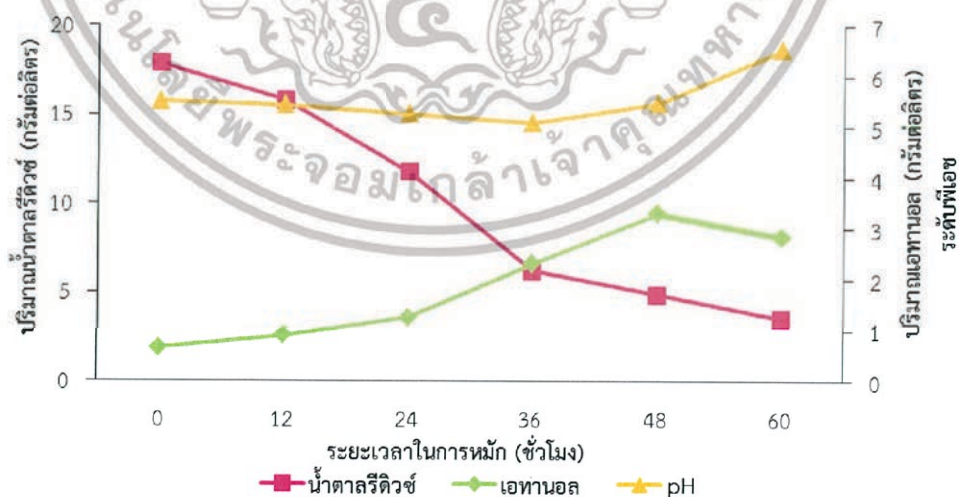
ตารางที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	17.86 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.04 <sup>f</sup>	5.50 ± 0.01 <sup>b</sup>
12	15.78 ± 0.70 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.06 <sup>e</sup>	5.43 ± 0.01 <sup>b</sup>
24	11.77 ± 0.39 <sup>c</sup>	1.25 ± 0.08 <sup>d</sup>	5.26 ± 0.02 <sup>bc</sup>
36	6.21 ± 0.12 <sup>d</sup>	2.32 ± 0.04 <sup>c</sup>	5.09 ± 0.02 <sup>c</sup>
48	4.88 ± 0.03 <sup>e</sup>	3.30 ± 0.08 <sup>a</sup>	5.47 ± 0.02 <sup>b</sup>
60	3.51 ± 0.02 <sup>f</sup>	2.85 ± 0.02 <sup>b</sup>	6.52 ± 0.32 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลสเสทเท่ากับ  $17.15 \pm 1.34$  กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆในช่วง 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 36 จากนั้นจะลดลงเล็กน้อยจนถึงสิ้นสุดการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ  $4.87 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงชั่วโมงที่ 24 - 48 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $2.68 \pm 0.06$  กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลค่อนข้างคงที่และลดลงเล็กน้อย เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเอทานอลในชั่วโมงที่ 48 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณเอทานอลในชั่วโมงที่ 0 12 24 และ 60 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณเอทานอลในชั่วโมงที่ 36 ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.6 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้ *S. cerevisiae* TISTR 5088 กับ *P. stipitis* TISTR 5806 หมักไปโอเอทานอลจากไฮโดรไลสเสทส่วนกากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 พบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ผลิตไปโอเอทานอลได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 48 โดย *S. cerevisiae* TISTR 5088 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงกว่า *P. stipitis* TISTR 5806 จากการศึกษาของ Janman และคณะ (2015) พบว่า *S. cerevisiae* เป็นยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตเอทานอล แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมได้ ในขณะที่ยีสต์ *P. stipitis* สามารถใช้น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมและ 6 อะตอมได้ แต่ไม่สามารถทนต่อปริมาณเอทานอลที่สูงรวมถึงสารพิษต่างๆ จากการศึกษาของ Scanes และคณะ (1998) พบว่าการหมักเอทานอลในระยะเวลานานขึ้นส่งผลให้มีการผลิตกลีเซอรอลมีผลให้ระดับพีเอชสูงขึ้น และมีกระบวนการสลายตัว (Autolysis) ของเซลล์ยีสต์ทำให้มีการปลดปล่อยกรดอะมิโนที่มีฤทธิ์เป็นต่างออกสู่นอกเซลล์ มีผลให้ระดับพีเอชสูงขึ้น

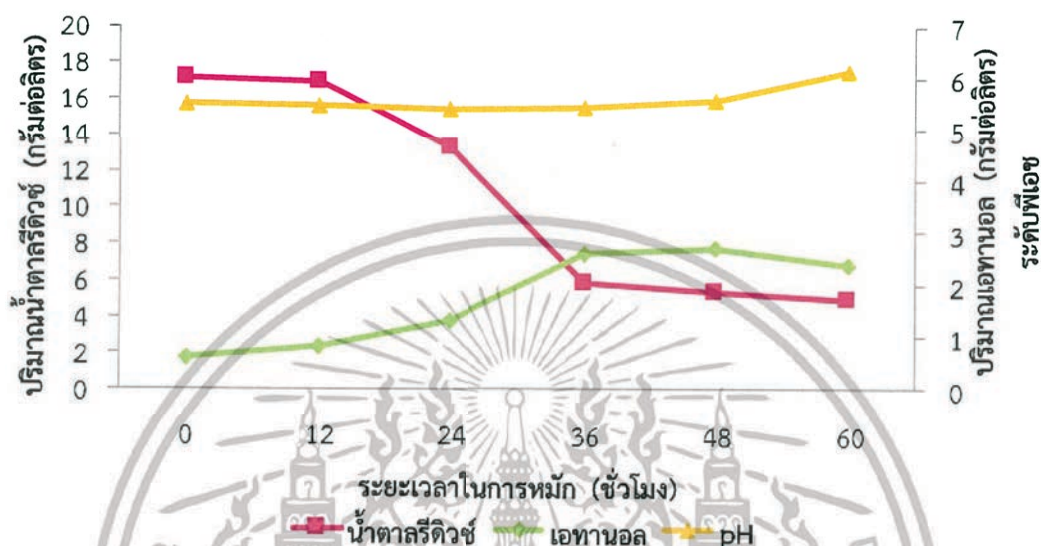
ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	$17.15 \pm 1.34^a$	$0.60 \pm 0.02^e$	$5.49 \pm 0.01^{bc}$
12	$16.90 \pm 0.14^a$	$0.81 \pm 0.05^d$	$5.46 \pm 0.01^{bc}$
24	$13.29 \pm 0.91^b$	$1.32 \pm 0.09^c$	$5.38 \pm 0.01^c$
36	$5.80 \pm 0.09^c$	$2.59 \pm 0.09^a$	$5.44 \pm 0.01^{bc}$
48	$5.28 \pm 0.04^c$	$2.68 \pm 0.06^a$	$5.57 \pm 0.03^b$
60	$4.87 \pm 0.05^c$	$2.39 \pm 0.18^b$	$6.13 \pm 0.18^a$

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอช ในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

4.6.2 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

4.6.2.1 อัตราส่วนของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *P. stipitis* TISTR 5806 เท่ากับ 1:1

การศึกษากระบวนการหมักในไฮโดรไลสเสทส่วนกาก ปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.5 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีและนำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมด้วยกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปต้มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใสที่ได้ นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอลและค่าพีเอชของน้ำหมัก จากการศึกษาพบว่าไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมด้วยกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลสเสทเท่ากับ  $17.54 \pm 0.10$  กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆจนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ  $4.39 \pm 0.26$  กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงชั่วโมงที่ 24 - 48 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $3.56 \pm 0.13$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเอทานอลสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.7 จากการศึกษาของ Yadav และคณะ (2011) พบว่ากระบวนการหมักร่วมของ *S. cerevisiae* และ *P. stipitis* ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการหมักแยกของเชื้อทั้งสองชนิด เนื่องจากมีการใช้ น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม และน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอมเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมัก ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสูงกว่าการใช้เชื้อเดี่ยวแต่ไม่ได้มีความแตกต่างกันมากนัก และ Patel และคณะ (2017) พบว่าในกระบวนการหมักร่วม ยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม เช่น *S. cerevisiae* จะมีการผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตบางชนิดออกมาในขณะที่หมัก ส่งผลให้ *P. stipitis* ที่มีประสิทธิภาพในด้านกระบวนการหมักน้อยกว่าจะถูก *S. cerevisiae* ยับยั้งการเจริญเติบโต

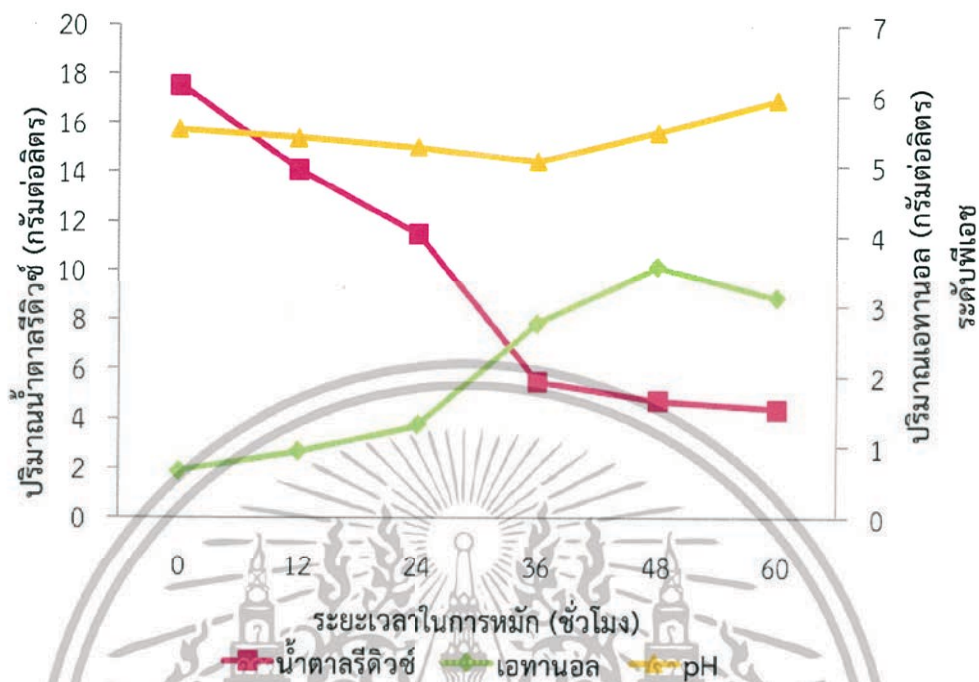
ตารางที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	$17.54 \pm 0.10^a$	$0.67 \pm 0.01^f$	$5.51 \pm 0.01^b$
12	$14.10 \pm 0.15^b$	$0.94 \pm 0.04^e$	$5.39 \pm 0.01^c$
24	$11.52 \pm 0.98^c$	$1.32 \pm 0.07^d$	$5.26 \pm 0.03^d$
36	$5.49 \pm 0.18^d$	$2.75 \pm 0.12^c$	$5.06 \pm 0.01^e$
48	$4.74 \pm 0.02^e$	$3.56 \pm 0.13^a$	$5.48 \pm 0.02^b$
60	$4.39 \pm 0.02^e$	$3.12 \pm 0.19^b$	$5.94 \pm 0.09^a$

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

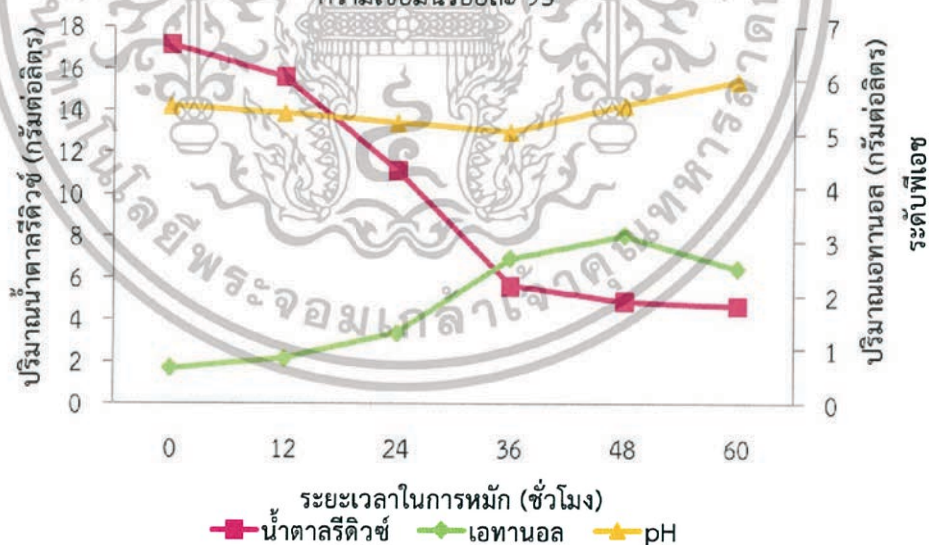
#### 4.6.2.2 อัตราส่วนของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *P. stipitis* TISTR 5806 เท่ากับ 1:2

ไฮโดรไลเสทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมด้วยกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2 นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเสทเท่ากับ  $17.13 \pm 0.37$  กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆจนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ  $4.67 \pm 0.02$  กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 24-48 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $3.13 \pm 0.07$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณเอทานอลที่ชั่วโมงที่ 0 12 24 36 และ 60 ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	17.13 ± 0.37 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.02 <sup>f</sup>	5.52 ± 0.01 <sup>b</sup>
12	15.59 ± 0.69 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.02 <sup>e</sup>	5.39 ± 0.02 <sup>c</sup>
24	11.16 ± 0.27 <sup>c</sup>	1.31 ± 0.08 <sup>d</sup>	5.22 ± 0.02 <sup>d</sup>
36	5.65 ± 0.09 <sup>d</sup>	2.70 ± 0.10 <sup>b</sup>	5.05 ± 0.02 <sup>e</sup>
48	4.88 ± 0.03 <sup>e</sup>	3.13 ± 0.07 <sup>a</sup>	5.54 ± 0.03 <sup>b</sup>
60	4.67 ± 0.02 <sup>e</sup>	2.50 ± 0.12 <sup>c</sup>	5.99 ± 0.13 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.6.2.3 อัตราส่วนของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *P. stipitis* TISTR 5806 เท่ากับ 1:4

ไฮโดรไลสeshส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4 นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลสeshเท่ากับ  $18.50 \pm 1.04$  กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆจนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ  $4.33 \pm 0.03$  กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 12-48 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $3.91 \pm 0.17$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณเอทานอลที่ชั่วโมงที่ 0 12 24 36 และ 60 ดังแสดงในตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.9

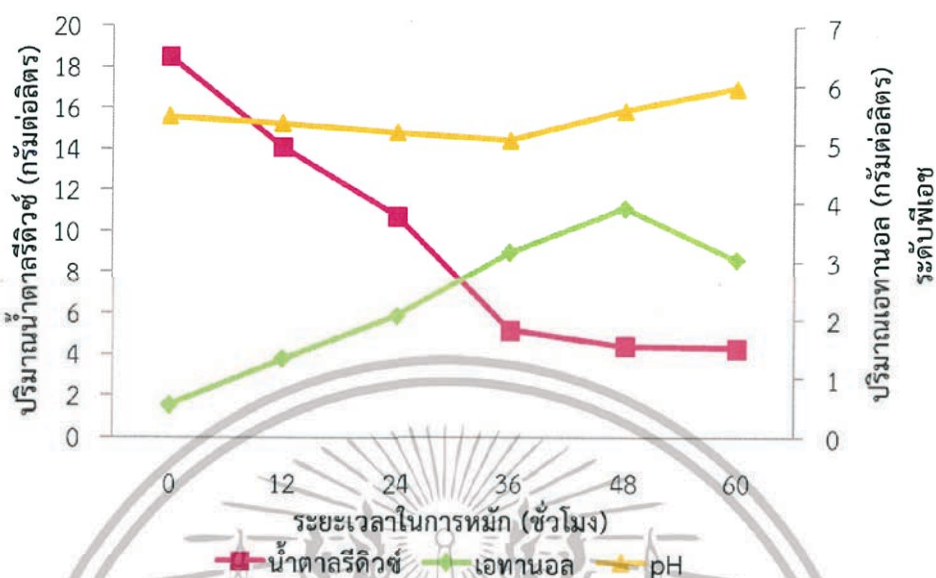
ตารางที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4 ในไฮโดรไลสeshส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELERASE 1500

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	$18.50 \pm 1.04^a$	$0.54 \pm 0.01^e$	$5.46 \pm 0.02^c$
12	$14.10 \pm 0.27^b$	$1.33 \pm 0.09^d$	$5.34 \pm 0.02^d$
24	$10.74 \pm 0.36^c$	$2.06 \pm 0.14^c$	$5.20 \pm 0.02^e$
36	$5.20 \pm 0.05^d$	$3.15 \pm 0.17^b$	$5.06 \pm 0.02^f$
48	$4.43 \pm 0.01^{de}$	$3.91 \pm 0.17^a$	$5.57 \pm 0.02^b$
60	$4.33 \pm 0.03^e$	$3.03 \pm 0.04^b$	$5.96 \pm 0.07^a$

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

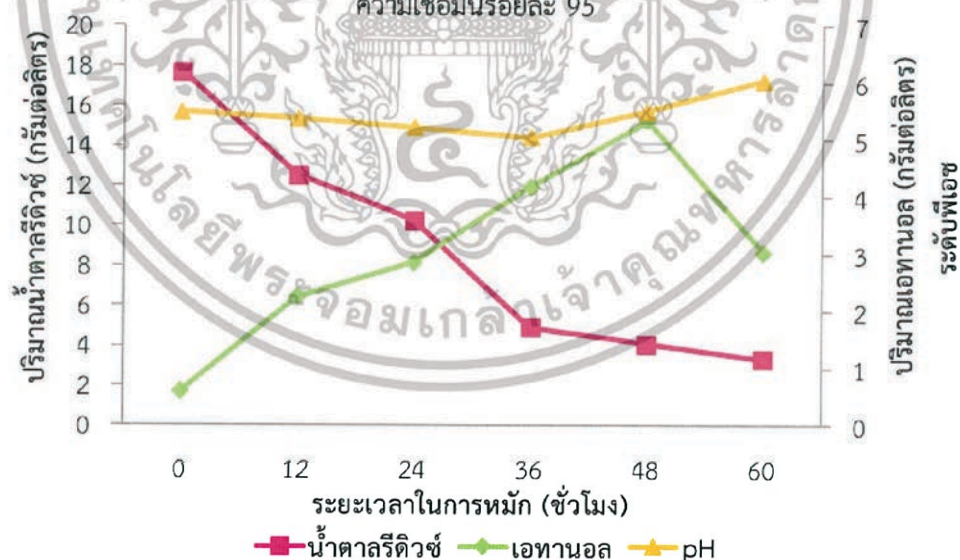
#### 4.6.2.4 อัตราส่วนของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *P. stipitis* TISTR 5806 เท่ากับ 2:1

ไฮโดรไลเสทส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลเสทเท่ากับ  $17.66 \pm 0.59$  กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆจนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ  $3.34 \pm 0.03$  กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 12-48 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $5.34 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณเอทานอลในชั่วโมงที่ 0 12 24 36 และ 60 ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับพีเอช
0	17.66 ± 0.59 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.02 <sup>f</sup>	5.49 ± 0.01 <sup>b</sup>
12	12.51 ± 0.15 <sup>b</sup>	2.26 ± 0.07 <sup>e</sup>	5.37 ± 0.02 <sup>c</sup>
24	10.25 ± 0.34 <sup>c</sup>	2.86 ± 0.06 <sup>d</sup>	5.22 ± 0.02 <sup>d</sup>
36	4.93 ± 0.08 <sup>d</sup>	4.18 ± 0.15 <sup>b</sup>	5.04 ± 0.02 <sup>e</sup>
48	4.10 ± 0.04 <sup>e</sup>	5.34 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.51 ± 0.05 <sup>b</sup>
60	3.34 ± 0.03 <sup>f</sup>	3.04 ± 0.12 <sup>c</sup>	6.04 ± 0.15 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

#### 4.6.2.5 อัตราส่วนของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *P. stipitis* TISTR 5806 เท่ากับ 4:1

ไฮโดรไลสeshส่วนกากที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1 นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในไฮโดรไลสeshเท่ากับ  $17.08 \pm 0.51$  กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆจนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ  $3.87 \pm 0.03$  กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 12-48 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $4.68 \pm 0.12$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณเอทานอลสูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณเอทานอลในชั่วโมงที่ 0 12 24 36 และ 60 ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.11

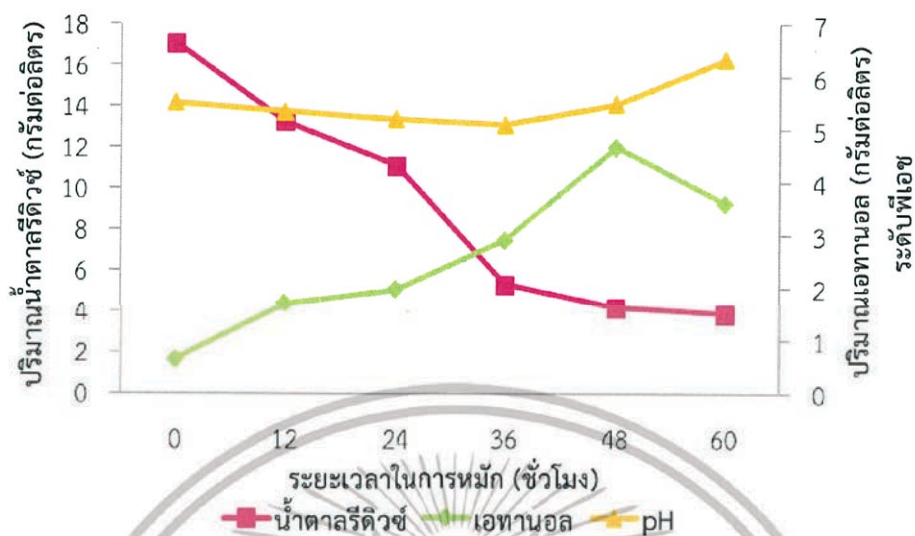
ตารางที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1 ในไฮโดรไลสesh ส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ระดับที่เอช
0	$17.08 \pm 0.51^a$	$0.64 \pm 0.02^f$	$5.51 \pm 0.02^b$
12	$13.27 \pm 0.16^b$	$1.70 \pm 0.08^e$	$5.34 \pm 0.02^c$
24	$11.12 \pm 0.34^c$	$1.97 \pm 0.02^d$	$5.20 \pm 0.03^d$
36	$5.33 \pm 0.02^d$	$2.92 \pm 0.07^c$	$5.10 \pm 0.03^e$
48	$4.18 \pm 0.02^e$	$4.68 \pm 0.12^a$	$5.49 \pm 0.06^b$
60	$3.87 \pm 0.03^e$	$3.61 \pm 0.09^b$	$6.34 \pm 0.07^a$

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณเอทานอล และระดับพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

#### 4.6.3 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลสูงสุดจากกระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

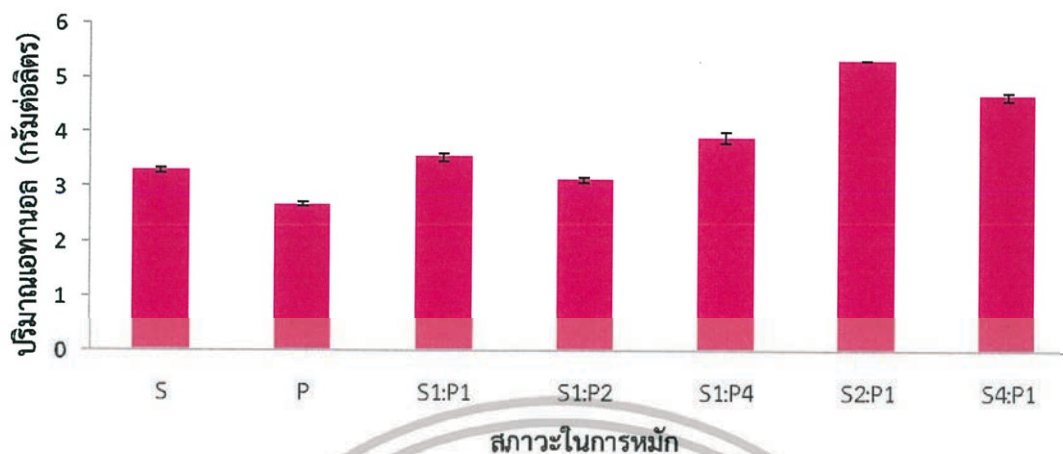
เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลสูงสุดจากกระบวนการหมักในไฮโดรไลสเสทส่วนกาก ปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.5 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีและนำมาหมักด้วยเชื้อเดี่ยวของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 และ เชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 2:1 และ 4:1 ตามลำดับ เป็นเวลา 60 ชั่วโมงพบว่า ทุกชุดการทดลองมีปริมาณเอทานอลสูงสุดใน ชั่วโมงที่ 48 โดยในกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อเดี่ยวของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ให้ปริมาณเอทานอล  $3.30 \pm 0.08$  กรัมต่อลิตร และ  $2.68 \pm 0.06$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และในกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 2:1 และ 4:1 ได้ปริมาณเอทานอล  $3.56 \pm 0.13$  กรัมต่อลิตร  $3.13 \pm 0.07$  กรัมต่อลิตร  $3.91 \pm 0.17$  กรัมต่อลิตร  $5.34 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตร และ  $4.68 \pm 0.12$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอัตราส่วน 2:1 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณเอทานอลที่ได้จากสภาวะการหมักอื่น ดังแสดงในตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.12 การใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้เชื้อผสมในอัตราส่วนอื่นๆ รวมทั้งสูงกว่าการใช้เชื้อเดี่ยว

ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้โดยอัตราส่วน 4:1 สามารถผลิตปริมาณเอทานอลได้ต่ำกว่า 2:1 อาจเนื่องจาก *S. cerevisiae* ที่ถูกเติมลงไปมีปริมาณมากกว่าเชื้อ *P. stipitis* สูงถึง 4 เท่า และในระหว่างกระบวนการหมัก เชื้อ *S. cerevisiae* มีการผลิตสาร เช่น กลีเซอรอล ส่งผลให้กระบวนการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. stipitis* ทำให้เจริญเติบโตช้าลงและมีผลให้การผลิตเอทานอลได้น้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Patel และคณะ(2017) ที่ได้รายงานไว้พบว่ากระบวนการหมักร่วมของเชื้อยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม เช่น *Saccharomyces cerevisiae* จะมีการผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตบางชนิดออกมาในขณะที่หมัก มีผลให้ *Pichia stipitis* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการหมักต่ำกว่าถูกยับยั้งการเจริญเติบโต มีผลให้ผลิตเอทานอลได้น้อยลง

**ตารางที่ 4.13** เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลสูงสุดจากกระบวนการหมักในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

สถานะในการหมัก	ปริมาณเอทานอลใน ชั่วโมงที่ 48 (กรัมต่อลิตร)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3.30 ± 0.08 <sup>e</sup>
<i>Pichia stipitis</i>	2.68 ± 0.06 <sup>f</sup>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> : <i>Pichia stipitis</i> (1:1)	3.56 ± 0.13 <sup>d</sup>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> : <i>Pichia stipitis</i> (1:2)	3.13 ± 0.07 <sup>e</sup>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> : <i>Pichia stipitis</i> (1:4)	3.91 ± 0.17 <sup>c</sup>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> : <i>Pichia stipitis</i> (2:1)	5.34 ± 0.01 <sup>a</sup>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> : <i>Pichia stipitis</i> (4:1)	4.68 ± 0.12 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.12 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลชั่วโมงที่ 48 จากกระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

หมายเหตุ : ตัวอักษรย่อ "S" หมายถึงเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088  
ตัวอักษรย่อ "P" หมายถึงเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

#### 4.6.4 ผลการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลในไฮโดรไลสเสทส่วนกากของชานอ้อยที่หมักโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟเปรียบเทียบอัตราการผลิตเอทานอล ( $Q_p$ ) และค่าผลได้ของเอทานอล ( $Y_{p/s}$ ) ที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 และการใช้เชื้อผสมของสองสายพันธุ์ พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 มีค่าผลได้ของเอทานอล 0.20 และ 0.18 กรัมต่อกรัม เมื่อใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 2:1 และ 4:1 มีค่าผลได้เอทานอล 0.23 0.20 0.24 0.35 และ 0.31 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ สำหรับค่าอัตราการผลิตเอทานอล จากการหมักด้วยเชื้อเดี่ยวของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 มีค่า 0.06 และ 0.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 2:1 และ 4:1 พบว่ามีค่าอัตราการผลิตเอทานอล 0.06 0.05 0.07 0.10 และ 0.08 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ แสดงดัง

ตารางที่ 4.14 ซึ่งจะเห็นได้ว่า เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้สูงกว่า *P. stipitis* TISTR 5806

**ตารางที่ 4.14** ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซตส่วนกากที่ได้จากการปรับสภาพกากขานอ่อนด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 กำลังไฟ 800 วัตต์เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนต่างๆ

ค่า จลนพลศาสตร์	ไฮโดรไลเซตส่วนของกากจากการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500						
	<i>S.</i> <i>cerevisiae</i>	<i>P.</i> <i>stipitis</i>	S:P (1:1)	S:P (1:2)	S:P (1:4)	S:P (2:1)	S:P (4:1)
$Y_{p/s}$	0.20	0.18	0.23	0.20	0.24	0.35	0.31
$Q_p$	0.06	0.04	0.06	0.05	0.07	0.10	0.08

หมายเหตุ :  $Y_{p/s}$  คือ ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสับสเตรท (กรัมต่อกรัม)

$Q_p$  คือ อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการปรับสภาพและย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 100, 200, 400 และ 800 วัตต์ ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 1, 2 และ 3 นาที เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซตส่วนของเหลว พบว่าการปรับสภาพและย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 เป็นเวลา 2 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง  $18.69 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกการปรับสภาพและย่อยชานอ้อยด้วยสภาวะข้างต้น เพื่อใช้ผลิตน้ำตาลสำหรับศึกษากระบวนการหมักเอทานอลต่อไป

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเซตส่วนของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพและการย่อยชานอ้อยด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 เป็นเวลา 2 นาที หมักโดยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $3.30 \pm 0.08$  กรัมต่อลิตร และเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 48 เช่นกัน เท่ากับ  $2.68 \pm 0.06$  กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 พบปริมาณเอทานอลที่สูงกว่าเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 และจากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 2:1 และ 4:1 พบว่าในอัตราส่วน 2:1 ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าอัตราส่วนอื่น โดยพบว่ามีปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ  $5.34 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตร และเมื่อศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักโดยพิจารณาความสามารถในการผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 มีค่าผลได้ของเอทานอล 0.35 กรัมต่อกรัม และมีค่าอัตราการผลิตเอทานอล 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการใช้เชื้อผสมในอัตราส่วนอื่นรวมทั้งสูงกว่าการใช้เชื้อเดี่ยว

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาการปรับสภาพชานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับคลื่นไมโครเวฟควรศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของ อัตราส่วนของการใช้เชื้อในกระบวนการหมักครั้งนี้ และเปลี่ยนวัตถุดิบที่ใช้ในการปรับสภาพและชนิดของสารละลายต่าง นอกจากนี้อาจเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

## บรรณานุกรม

- กนก รัตนะกนกชัย จักรกฤกษ์เดชชอภัยคุณ พิชญ์สินี วีระไวทยะ ภัทรา ผาสอน รัตติยา แวนนุกูล และอาภิธิโกะ โคซูกิ. 2556. “การปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายด้วยเอนไซม์.” วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 44(2)(พิเศษ), 169-172.
- กรรณิการ์ แสงศรีเรือง อีระพงษ์ สิงหาปัด และสุรัสวดี ปันรัตน์. 2549. “การผลิตแอลกอฮอล์โดยการหมักจากน้ำอ้อย.” ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- กิติพงษ์ รัตนารมณ์ สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล และอภิชนา จันทร์มัน. 2558. “การหมักเอทานอล ด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* Sc90 และ การหมักด้วยจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ร่วมกันในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ที่มีกลูโคสและไซโลส.” กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร ประเวทย์ ต้อยเต็มวงศ์ ปิยรัตน์ บุญแสง และธีรภัทร ศรีนรงค์. 2552. “การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส.” รายงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- ชุตินา ศรีจิว. 2548. “การผลิตเอทานอลเชื้อเพลิงจากน้ำอ้อยโดยยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูง.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นฤมล โตอ่อน. 2549. “ยีสต์สายพันธุ์ทนร้อนและการประยุกต์ใช้ในการผลิตเอทานอล.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ปฏิพล ชัยเทพ ไพรัช สาใจ และรัชฎาภรณ์ ปวงก่องตัน. 2555. “การผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยใช้ยีสต์ทนร้อน.” สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.
- พรวิภา ทองมิตร วรวิมล จุฬาลักษณ์นุกูล และอรทัย ชาวลาภฤทธิ. 2555. “การเพิ่มผลผลิตน้ำตาลจากขานอ้อยโดยการย่อยสลายด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำร่วมกับกรดอะซิติก.” การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9.
- สุภาวดี ผลประเสริฐ. 2557. “การปรับสภาพวัตถุดิบพวกกลีโคเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 22(5),641-649.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Alejandra, A.R., Aloia, R., Cristóbal, N.A., Gil, G., Héctor, A.R. and Rosa, M.R.J. 2017. "Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second-generation biorefinery: An overview." *Energy Conversion and Management*. 136 , 50-65
- Amita, S., Digantkumar, C. and Harshvadan, P. 2017. "Bioconversion of pretreated sugarcane bagasse using enzymatic and acid followed by enzymatic hydrolysis approaches for bioethanol production." *Renewable energy*. 109, 323-331
- Banerjee, G., Car, S., Liu, T., Williams, DL., Meza, SL., Walton JD. 2012. "Scale-up and integration of alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis, and ethanolic fermentation." *Biotechnol Bioeng*. 109(4) , 922-31.
- Camila, A.R., Duncan, J.M., Igor, P., Leonardo, D.G., Rachael, S., Simon, J.M. and Zongyuan, Z. 2016. "Sugar production from sugarcane bagasse by microwave assisted acid and alkali pretreatment." *Biomass and Bioenergy*. 93 , 269-278
- Chen, C. 2012. "Ethanol production from sorghum by a microwave-assisted dilute ammonia pretreatment." *Bioresource Technology*. 110 , 190-197
- Claudia, C., Lucía, S., Nicolás, L.M. and Pedro, F. 2016. "Microwaves as a pretreatment for enhancing enzymatic hydrolysis of pineapple industrial waste for bioethanol production." *Food and Bioproducts Processing*. 100 , 203-213.
- Dellomonaco, C. 2010. "The path to next generation biofuels: successes and challenges in the era of synthetic biology." *Microbial Cell factories*. 9 , 3-5
- Duncan, M., James, C., Jiajun, F., Leonardo, D.G., Mario, D.B., Mark, G., Vitaliy, B. and Zongyuan, Z. 2013. "Microwave-enhanced formation of glucose from cellulosic waste." *Chemical Engineering and Processing*. 71 , 37-42.

- Fan, L., Guangming, Z., Panyue, Z., Shiyang, F., Shuguang, J., Shuqiong, Z. and Siqi, W. 2016. "Microwave assisted alkaline pretreatment to enhance enzymatic saccharification of catalpa sawdust." *Bioresource Technology*. 221 , 26-30.
- Jongmeesuk, A., Sanguanchaipaiwong, V. and Ochaikul, D. 2014. "Pretreatment and enzymatic hydrolysis from water hyacinth(*Eichhornia crassipes*)." *KMITL Sci. Tech.* 14(2) , 79-86
- Miller, G.L. 1959. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar." *Anal. Chem.* 31 , 426-428.
- Naseeruddin, S., Prashanthi, G.S., Rao, L.V., Sateesh, L. and Yadav, K.S. 2011. "Bioethanol fermentation of concentrated rice straw hydrolysate using co-culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*." *Bioresource Technology*. 102 , 6473-6478.
- Patel, Harshvadan., Chapla, Digantkumar., Shah, Amita. 2017. "Bioconversion of pretreated sugarcane bagasse using enzymatic and acid followed by enzymatic hydrolysis approaches for bioethanol production." *Renewable Energy*. 109 , 323-331
- Rabelo, C., Sarita., Andrade, R., Rafael., Costa, C., Aline. 2014. "Alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis and fermentation of sugarcane bagasse to ethanol." *Fuel*. 136 , 349-357.
- Rabelo, SC., Maciel Filho, R., Costa, AC. 2013. "Lime pretreatment and fermentation of enzymatically hydrolyzed sugarcane bagasse." *Appl Biochem Biotech.* 169 , 1696-712.
- Rochaa, G.J.M., Gonc, A.R., Oliveiraa, B.R., Olivares, E.G., Rossell, C.E.V .2012. "Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production." *Industrial Crops and Products*. 35 , 274-279

- Rocha, J.M., Carlos, G.M., Silva, da, F.N., Vinicius, G.O., Edgardo, G.R., Goncalves, R., Adilson. 2012. "Mass balance of pilot-scale pretreatment of sugarcane bagasse by steam explosion followed by alkaline delignification." *Bioresource Technology*. 111 , 447-452
- Scanes, K.T., Holman, S., Priori, B.A. 1998. "Glycerol production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and its relevance to wine." *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 19(1) , 17-24
- Soares, Lucena, Mariana., Gouveia, Ribeiro, Ester. 2013. "Influence of the alkaline delignification on the simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of sugar cane bagasse." *Bioresource Technol.* 147 , 645-64
- Soest, Van, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in reaction to animal nutrition" *J. Dairy. Sci.* 74(10) , 3583-3597.
- Yadav, K.S., Naseeruddin, S., Prashanthi, G.S., Sateesh, L. and Rao, L.V. 2011. "Bioethanol fermentation of concentrated rice straw hydrolysate using co-culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*" *Bioresource Technol.* 102 , 6473-6478.
- Zhang, W. and Geng , A. 2012. "Improved ethanol production by a xylose-fermenting recombinant yeast strain constructed through a modified genome shuffling method." *Biotechnology for Biofuels.* 5 , 46
- Zhu, Zongyuan., Rezende, Alves, Camilia., Gomez, D., Leonardo. 2016. "Efficient sugar production from sugarcane bagasse by microwave assisted acid and alkali pretreatment." *Biomass and Bioenergy* 93 , 269-278

[Online]. Available: [www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/pep\\_2\\_2546\\_microwave.pdf](http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/pep_2_2546_microwave.pdf).

(สืบค้นข้อมูลวันที่ 22 ธันวาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online]. Available: [http://accelerise.dupont.com/fileadmin/user\\_upload/live/accelerise/documents/DUP-00413\\_ProdSheet\\_1500\\_web.pdf](http://accelerise.dupont.com/fileadmin/user_upload/live/accelerise/documents/DUP-00413_ProdSheet_1500_web.pdf). (สืบค้นข้อมูลวันที่ 26 ธันวาคม 2559)

[Online]. Available : [http://www.tumdee.org/alert/doc\\_cms/microwave.pdf](http://www.tumdee.org/alert/doc_cms/microwave.pdf)  
(สืบค้นวันที่ 21 ธันวาคม 2559)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### อาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1. อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD

ประกอบด้วย

- ยีสต์สกัด	10	กรัมต่อลิตร
- เปปโทน	20	กรัมต่อลิตร
- กลูโคส	20	กรัมต่อลิตร
- ผงวุ้น	25	กรัมต่อลิตร

#### 2. อาหารเลี้ยงเชื้อ MGYP

ประกอบด้วย

- มอลต์สกัด	5	กรัมต่อลิตร
- กลูโคส	5	กรัมต่อลิตร
- ยีสต์สกัด	5	กรัมต่อลิตร
- เปปโทน	20	กรัมต่อลิตร
- โซโลส	30	กรัมต่อลิตร
- ผงวุ้น	25	กรัมต่อลิตร

#### 3. วิธีการเตรียม

3.1 ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับพีเอช 5.0

3.2 ฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไปที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์ทางเคมี

#### 1. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีเอ็นเอส (Miller, 1959)

##### 1.1 สารเคมี

1.1.1 สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1

1.1.2 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

##### 1.2 วิธีการเตรียมสารละลาย

1.2.1 สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1

1.2.1.1 ชั่งสาร 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1 ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

1.2.1.2 เติมน้ำกลั่นให้เต็มขวด 1 ลิตร (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร)

1.2.1.3 คนสารละลายให้เข้ากัน

1.2.1.4 เติมน้ำกลั่นให้เต็มขวด 1 ลิตร (โซเดียมฟอสเฟต 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 300 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น)

##### 1.3 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

1.3.1 อบกกลูโคสที่ต้อบ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง และวางในโถดูดความชื้น (Desiccator) เพื่อลดอุณหภูมิเป็นเวลา 30 นาที

1.3.2 ชั่งน้ำหนักกลูโคสที่ผ่านการอบและทิ้งให้เย็น 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ปรับปริมาตร จะทำให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.3.3 ทำการเจือจางสารละลายกลูโคสที่ได้โดยใช้น้ำกลั่น ดังตารางที่ ข-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ตารางที่ ข-1 การเจือจางสารละลายกลูโคสโดยใช้น้ำกลั่น

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

1.3.4 เตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส โดยนำสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้ และทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส

1.3.5 เขียนกราฟมาตรฐานกลูโคสระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรกับความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน และคำนวณสมการ

#### 1.4 วิธีการวิเคราะห์

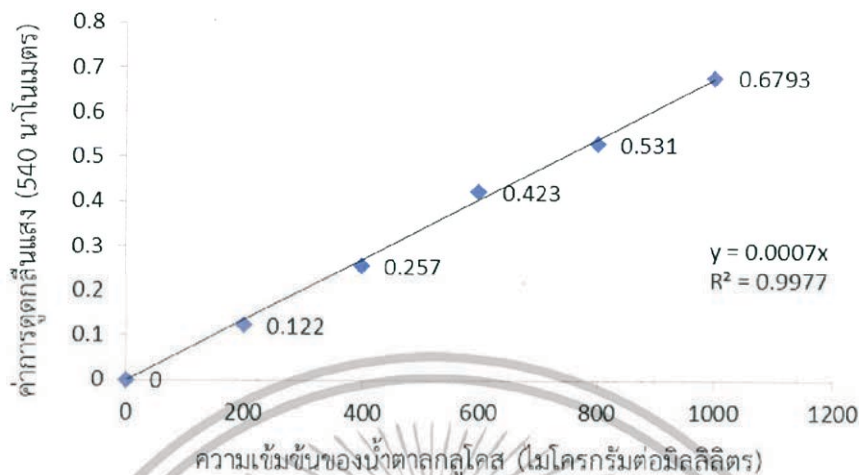
1.4.1 ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดไดโนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดเขย่าสารให้เข้ากัน

1.4.2 นำไปให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

1.4.3 ปิเปตน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดทดลอง เขย่าสารให้เข้ากัน

1.4.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณได้จากสูตร



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

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

## 2. วิธีการวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Jekel, 2005)

### 2.1 กราฟมาตรฐานเอทานอล

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

2.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 10 และ 12 โดยปริมาตร

2.1.3 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC-2014 Chromatograph, Shimadzu) สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุล ไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป

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

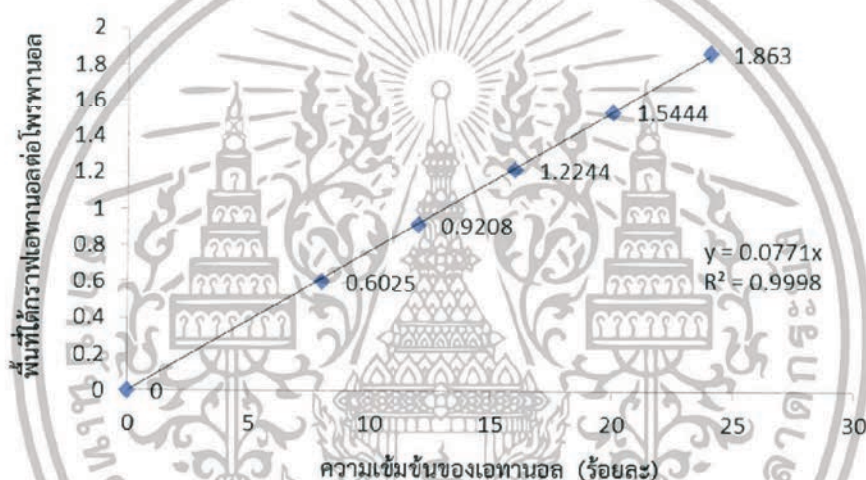
2.1.5 สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 5.50 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์

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

## 2.2 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

2.2.1 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง โดยผสมสารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร

2.2.2 วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

### สูตรการคำนวณปริมาณเอทานอล

สมการ	$y$	$= 0.0771x$
ให้	$y$	$=$ พื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอล
ความหนาแน่นของเอทานอล		$= 0.789$ กรัมต่อมิลลิลิตร
ดังนั้น ปริมาณเอทานอล		$= (x) (0.789) (10)$ กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

### การเตรียมสารละลายความเข้มข้นต่างๆ

1. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 2 และ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร % (w/v)

1.1 ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

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

$$1\% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1000 \text{ (มิลลิลิตร)}}$$

$$1\% = \frac{10 \text{ กรัม}}{1000}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

1.2 ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

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

$$2\% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1000 \text{ (มิลลิลิตร)}}$$

$$2\% = \frac{20 \text{ กรัม}}{1000}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

1.3 ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

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

$$4\% = \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1000 \text{ (มิลลิลิตร)}}$$

$$4\% = \frac{40 \text{ กรัม}}{1000}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

### 1.5 ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร \% (w/v)} &= \frac{\text{น้ำหนักของสารที่จะชั่ง (กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลาย (มิลลิลิตร)}} \\ 6\% &= \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1000 \text{ (มิลลิลิตร)}} \\ 6\% &= 60 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

### 1.6 ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร \% (w/v)} &= \frac{\text{น้ำหนักของสารที่จะชั่ง (กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลาย (มิลลิลิตร)}} \\ 8\% &= \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1000 \text{ (มิลลิลิตร)}} \\ 8\% &= 80 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 80 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

### 1.7 ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร \% (w/v)} &= \frac{\text{น้ำหนักของสารที่จะชั่ง (กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลาย (มิลลิลิตร)}} \\ 10\% &= \frac{\text{NaOH (กรัม)} \times 100}{1000 \text{ (มิลลิลิตร)}} \\ 10\% &= 100 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

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

### 2.1 การเตรียม Stock solution

สารละลาย A : กรดอะซิติก ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

( $\text{CH}_3\text{COOH}$  11.6 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

สารละลาย B : โซเดียมอะซิเตท ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

การเตรียมโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (มวลโมเลกุล 82.03)  
 ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร ต้องการให้มีเนื้อสาร 0.2 โมลาร์ =  $0.2 \times 82.03$  กรัม  
 = 16.406 กรัม

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

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



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

### ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ง-1 ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขานอ้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

กำลังไฟ (วัตต์)	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
80 (20X)	1	0.29	0.29	8.20	8.18
	2	0.28		8.06	
	3	0.29		8.29	
240 (20X)	1	0.38	0.38	10.97	10.91
	2	0.38		10.91	
	3	0.38		10.86	
400 (20X)	1	0.43	0.43	12.34	12.42
	2	0.44		12.43	
	3	0.44		12.49	
800 (20X)	1	0.52	0.52	14.86	14.96
	2	0.53		15.06	
	3	0.52		14.97	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขานอ้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการใช้ คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ ที่เวลาต่างๆ และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา (นาทื)	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสง เฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
1 (20X)	1	0.44	0.44	12.51	12.49
	2	0.44		12.54	
	3	0.43		12.40	
2 (20X)	1	0.52	0.52	14.86	14.95
	2	0.53		15.14	
	3	0.52		14.86	
3 (20X)	1	0.60	0.61	17.26	17.38
	2	0.61		17.34	
	3	0.61		17.54	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขานอ้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
1	1	0.38	0.38	10.89	10.91
	2	0.38		10.97	
	3	0.38		10.89	
2	1	0.52	0.52	14.80	14.79
	2	0.53		15.11	
	3	0.51		14.46	
4	1	0.59	0.59	16.83	16.82
	2	0.59		16.86	
	3	0.59		16.77	
6	1	0.62	0.62	17.66	17.81
	2	0.62		17.80	
	3	0.63		17.97	
8	1	0.66	0.65	18.74	18.70
	2	0.66		18.74	
	3	0.65		18.60	
10	1	0.65	0.66	18.66	18.88
	2	0.67		19.23	
	3	0.66		18.74	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 ปริมาณองค์ประกอบลิกโนเซลลูโลสของกากชานอ้อย กากชานอ้อยผ่านการปรับสภาพโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และกากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ซ้ำที่	%NDF	%NDF เฉลี่ย	%ADF	%ADF เฉลี่ย	%ADL	%ADL เฉลี่ย	%Hemice llulose	%Hemicell ulose เฉลี่ย	%Cellulose	%Cellulose เฉลี่ย
กากชานอ้อย	1	66.33	66.16	40.86	40.41	6.73	6.44	25.47	25.75	34.14	34.00
	2	66.13		40.65		6.44		25.48		34.21	
	3	66.03		39.73		6.09		26.31		33.64	
กากชานอ้อยที่ ผ่านการปรับ สภาพ	1	28.89	29.02	19.55	20.81	1.33	1.39	9.35	8.21	18.22	19.46
	2	28.15		21.79		1.36		6.36		20.41	
	3	30.01		21.10		1.34		8.91		19.75	
กากชานอ้อยที่ ผ่านการปรับ สภาพและย่อย ด้วยเอนไซม์	1	4.83	4.58	10.22	8.72	4.51	3.20	-5.39	-4.14	5.72	4.85
	2	4.18		7.26		3.87		-3.08		4.06	
	3	4.72		8.67		3.90		-3.95		4.77	

#### วิธีการคำนวณ

$$\% \text{Hemicellulose} = \% \text{NDF} - \% \text{ADF}$$

$$\% \text{Cellulose} = \% \text{ADF} - \% \text{ADL}$$

ตารางที่ ง-5 ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสและพื้นที่ใต้กราฟสารละลายน้ำตาลกลูโคส

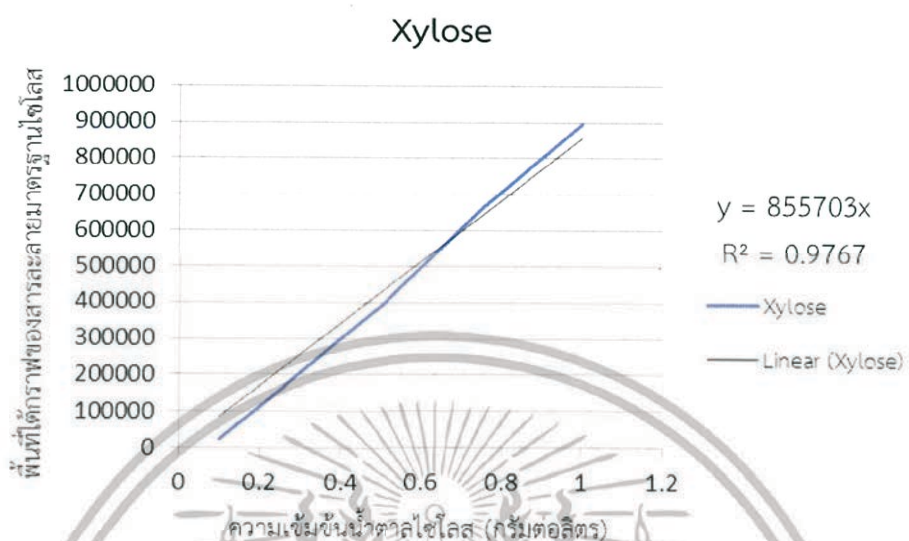
ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟ
0	0
0.1	46416
0.25	172371
0.5	376912
1	785636



ตารางที่ ง-6 ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลไซโลสและพื้นที่ใต้กราฟสารละลายน้ำตาลไซโลส

ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟ
0	0
0.1	24916
0.25	159515
0.5	388372
1	896478

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

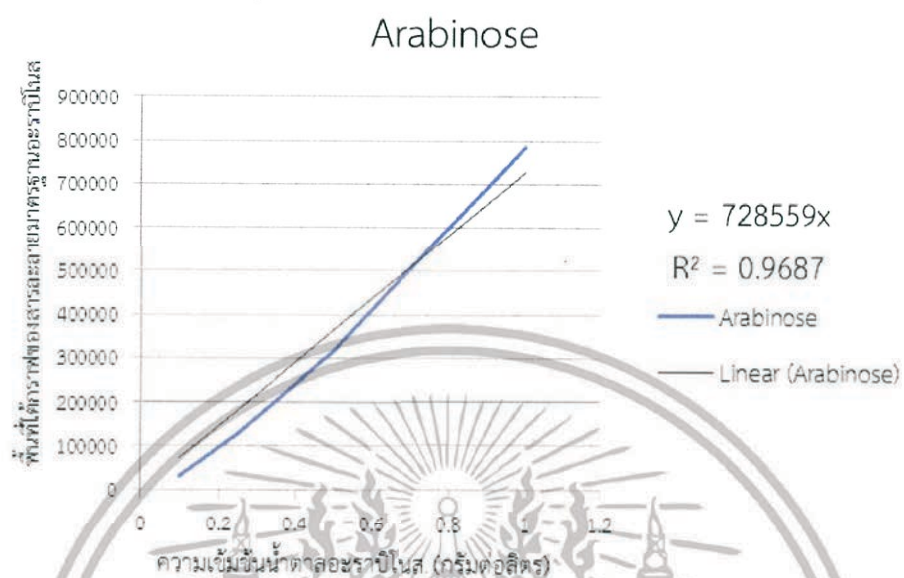


รูปที่ ง-2 กราฟสารละลายมาตรฐานไซโลสวัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ตารางที่ ง-7 ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลอะราบิโนสและพื้นที่ใต้กราฟสารละลายน้ำตาลอะราบิโนส

ความเข้มข้นของน้ำตาลอะราบิโนส (กรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟ
0	0
0.1	30838
0.25	131618
0.5	315805
1	784516

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-3 กราฟสารละลายมาตรฐานอะราบินอสวัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสทส่วน  
กากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่น  
ไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR  
5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	หมักโดยเชื้อ	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 (20X)	1	0.61	0.63	17.29	17.86
		2	0.62		17.80	
		3	0.65		18.49	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806 (20X)	1	0.61	0.60	17.37	17.15
		2	0.60		17.23	
		3	0.59		16.86	
12	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 (20X)	1	0.55	0.55	15.77	15.78
		2	0.53		15.09	
		3	0.58		16.49	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806 (20X)	1	0.59	0.59	16.89	16.90
		2	0.59		16.77	
		3	0.60		17.06	
24	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 (15X)	1	0.54	0.55	11.59	11.77
		2	0.57		12.21	
		3	0.54		11.51	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806 (15X)	1	0.60	0.62	12.86	13.29
		2	0.59		12.69	
		3	0.67		14.34	
36	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 (10X)	1	0.43	0.43	6.13	6.21
		2	0.44		6.34	
		3	0.43		6.16	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806 (10X)	1	0.41	0.41	5.80	5.80
		2	0.41		5.90	
		3	0.40		5.71	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-8 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	หมักโดยเชื้อ	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
48	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 (5X)	1	0.68	0.68	4.89	4.88
		2	0.69		4.91	
		3	0.68		4.85	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806 (10X)	1	0.37	0.40	5.33	5.28
		3	0.37		5.27	
		3	0.47		5.21	
60	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 (5X)	1	0.49	0.49	3.49	3.51
		2	0.50		3.54	
		3	0.49		3.51	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806 (5X)	1	0.68	0.68	4.84	4.87
		2	0.68		4.84	
		3	0.69		4.92	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-9 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	0.70	0.65
		2	0.62	
		3	0.63	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	0.59	0.60
		2	0.60	
		3	0.62	
12	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	0.92	0.90
		2	0.83	
		3	0.95	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	0.79	0.81
		2	0.87	
		3	0.77	
24	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	1.22	1.25
		2	1.19	
		3	1.35	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	1.33	1.32
		2	1.31	
		3	1.33	
36	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	2.30	2.32
		2	2.37	
		3	2.30	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	2.66	2.59
		2	2.61	
		3	2.49	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-9 (ต่อ) ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	หมักด้วยเชื้อ	ซ้ำที่	เอทานอล (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
48	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	3.31	3.30
		2	3.22	
		3	3.37	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	2.67	2.68
		2	2.74	
		3	2.63	
60	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	3.04	2.85
		2	2.64	
		3	2.86	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	2.23	2.39
		2	2.58	
		3	2.37	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-10 น้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	ตัวอย่าง		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
0	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	0.24	0.27
		2	0.44	
		3	0.11	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	0.54	1.83
		2	0.30	
		3	1.64	
12	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	4.49	6.02
		2	7.06	
		3	6.51	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	0.84	2.90
		2	2.37	
		3	5.49	
24	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	1.37	1.57
		2	1.96	
		3	1.39	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	2.59	2.53
		2	2.70	
		3	2.31	
36	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	1.60	1.41
		2	1.29	
		3	1.36	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	2.26	2.21
		2	2.10	
		3	2.29	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-10 (ต่อ) น้ำหนักเซลล์แห้งของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	ตัวอย่าง		ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
48	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	1.29	1.40
		2	1.74	
		3	1.19	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	2.03	6.87
		2	17.37	
		3	1.20	
60	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	1.33	1.38
		2	1.73	
		3	1.07	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	0.16	0.80
		2	0.41	
		3	1.83	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-11 ระดับพีเอชของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วย เอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	ตัวอย่าง		ค่าพีเอช	เฉลี่ย
	ชื่อ	ซ้ำที่		
0	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	5.51	5.50
		2	5.50	
		3	5.50	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	5.48	5.49
		2	5.50	
		3	5.49	
12	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	5.42	5.43
		2	5.43	
		3	5.44	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	5.47	5.46
		2	5.46	
		3	5.45	
24	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	5.25	5.26
		2	5.28	
		3	5.24	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	5.39	5.38
		2	5.38	
		3	5.38	
36	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	5.10	5.09
		2	5.09	
		3	5.07	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	5.43	5.44
		2	5.43	
		3	5.45	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-11 (ต่อ) ระดับพีเอชของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	ตัวอย่าง		ค่าพีเอช	เฉลี่ย
	เชื้อ	ซ้ำที่		
48	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	5.45	5.47
		2	5.48	
		3	5.49	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	5.59	5.57
		2	5.54	
		3	5.58	
60	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	6.20	6.52
		2	6.83	
		3	6.53	
	<i>P. stipitis</i> TISTR 5806	1	6.24	6.13
		2	5.92	
		3	6.22	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ ง-12

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขานอ้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและทำการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่อัตราส่วน 1:1 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	การเจือจาง	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	20X	1	0.62	0.61	17.66	17.54
		2	0.61		17.46	
		3	0.61		17.51	
12	20X	1	0.49	0.49	14.09	14.11
		2	0.49		13.97	
		3	0.50		14.26	
24	15X	1	0.59	0.54	12.62	11.52
		2	0.52		11.21	
		3	0.50		10.74	
36	10X	1	0.37	0.37	5.29	5.49
		2	0.39		5.54	
		3	0.40		5.64	
48	5X	1	0.66	0.66	4.72	4.74
		2	0.67		4.75	
		3	0.66		4.74	
60	5X	1	0.66	0.65	4.63	4.74
		2	0.65		4.67	
		3	0.65		4.66	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-13 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:1 ในไฮโดรไลสเศษส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	เอทานอล(กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	1:1	1	0.67	0.67
		2	0.68	
		3	0.66	
12	1:1	1	0.90	0.94
		2	0.97	
		3	0.96	
24	1:1	1	1.34	1.97
		2	1.38	
		3	1.24	
36	1:1	1	2.84	2.75
		2	2.80	
		3	2.62	
48	1:1	1	3.42	3.56
		2	3.59	
		3	3.67	
60	1:1	1	3.71	3.61
		2	3.56	
		3	3.55	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-14 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าพีเอช	เฉลี่ย
0	1:1	1	5.50	5.51
		2	5.52	
		3	5.51	
12	1:1	1	5.40	5.39
		2	5.38	
		3	5.40	
24	1:1	1	5.23	5.26
		2	5.29	
		3	5.25	
36	1:1	1	5.05	5.06
		2	5.07	
		3	5.05	
48	1:1	1	5.46	5.48
		2	5.50	
		3	5.48	
60	1:1	1	5.87	5.94
		2	5.90	
		3	6.04	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-15      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	1:1	1	0.31	0.26
		2	0.21	
		3	0.24	
12	1:1	1	8.04	7.09
		2	6.83	
		3	6.40	
24	1:1	1	1.09	1.06
		2	0.94	
		3	1.16	
36	1:1	1	1.64	0.86
		2	0.73	
		3	0.21	
48	1:1	1	1.30	1.04
		2	0.60	
		3	1.23	
60	1:1	1	1.46	1.48
		2	1.41	
		3	1.56	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-16

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขานอ้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและทำการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่อัตราส่วน 1:2 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	การเจือจาง	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	20X	1	0.60	0.60	17.11	17.13
		2	0.61		17.51	
		3	0.59		16.77	
12	20X	1	0.52	0.55	14.89	15.59
		2	0.55		15.63	
		3	0.57		16.26	
24	15X	1	0.51	0.52	10.97	11.16
		2	0.52		11.04	
		3	0.54		11.46	
36	10X	1	0.39	0.40	5.56	5.65
		2	0.40		5.74	
		3	0.40		5.66	
48	5X	1	0.69	0.68	4.91	4.88
		2	0.68		4.86	
		3	0.68		4.88	
60	5X	1	0.66	0.65	4.69	4.67
		2	0.65		4.67	
		3	0.65		4.66	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-17 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	เอทานอล(กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	1:2	1	0.67	0.66
		2	0.64	
		3	0.67	
12	1:2	1	0.83	0.84
		2	0.84	
		3	0.86	
24	1:2	1	1.22	1.31
		2	1.36	
		3	1.34	
36	1:2	1	2.62	2.70
		2	2.67	
		3	2.80	
48	1:2	1	3.14	3.13
		2	3.06	
		3	3.19	
60	1:2	1	3.07	3.12
		2	2.96	
		3	3.33	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-18 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าพีเอช	เฉลี่ย
0	1:2	1	5.53	5.52
		2	5.52	
		3	5.52	
12	1:2	1	5.40	5.39
		2	5.37	
		3	5.39	
24	1:2	1	5.20	5.22
		2	5.24	
		3	5.22	
36	1:2	1	5.06	5.05
		2	5.03	
		3	5.07	
48	1:2	1	5.52	5.54
		2	5.53	
		3	5.57	
60	1:2	1	6.13	5.99
		2	5.87	
		3	5.97	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-19      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	1:2	1	0.14	0.18
		2	0.04	
		3	0.36	
12	1:2	1	5.51	9.08
		2	15.27	
		3	6.47	
24	1:2	1	0.73	1.11
		2	1.63	
		3	0.99	
36	1:2	1	0.90	1.50
		2	1.63	
		3	1.96	
48	1:2	1	1.10	1.37
		2	1.39	
		3	1.63	
60	1:2	1	1.17	1.58
		2	1.51	
		3	2.06	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ ง-20

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขาน้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและทำการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่อัตราส่วน 1:4 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	การเจือจาง	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	20X	1	0.69	0.65	19.69	18.50
		2	0.63		18.09	
		3	0.62		17.74	
12	20X	1	0.50	0.49	14.34	14.10
		2	0.50		14.14	
		3	0.48		13.80	
24	15X	1	0.50	0.50	10.76	10.74
		2	0.52		11.10	
		3	0.48		10.37	
36	10X	1	0.36	0.36	5.20	5.20
		2	0.36		5.14	
		3	0.37		5.24	
48	5X	1	0.62	0.62	4.43	4.43
		2	0.62		4.45	
		3	0.62		4.42	
60	5X	1	0.60	0.60	4.30	4.33
		2	0.60		4.31	
		3	0.61		4.36	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-21 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:4 ในไฮโดรไลสเศษส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	เอทานอล(กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	1:4	1	0.55	0.54
		2	0.54	
		3	0.54	
12	1:4	1	1.30	1.33
		2	1.26	
		3	1.43	
24	1:4	1	1.96	2.06
		2	2.22	
		3	2.00	
36	1:4	1	3.04	3.15
		2	3.07	
		3	3.35	
48	1:4	1	3.89	3.91
		2	3.74	
		3	4.08	
60	1:4	1	2.99	3.03
		2	3.07	
		3	3.02	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-22 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:4 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าพีเอช	เฉลี่ย
0	1:4	1	5.48	5.46
		2	5.46	
		3	5.45	
12	1:4	1	5.35	5.34
		2	5.32	
		3	5.36	
24	1:4	1	5.19	5.20
		2	5.20	
		3	5.22	
36	1:4	1	5.07	5.06
		2	5.07	
		3	5.04	
48	1:4	1	5.55	5.57
		2	5.58	
		3	5.59	
60	1:4	1	6.02	5.96
		2	5.88	
		3	5.98	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-23      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:4 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	1:4	1	0.23	0.51
		2	0.20	
		3	1.11	
12	1:4	1	5.17	13.06
		2	14.46	
		3	19.56	
24	1:4	1	2.39	1.70
		2	1.21	
		3	1.50	
36	1:4	1	1.49	3.34
		2	2.27	
		3	6.26	
48	1:4	1	1.59	1.93
		2	1.99	
		3	2.21	
60	1:4	1	1.86	2.27
		2	2.20	
		3	2.74	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ ง-24

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขานอ้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและทำการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่อัตราส่วน 2:1 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	การเจือจาง	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	20X	1	0.60	0.62	17.17	17.66
		2	0.61		17.49	
		3	0.64		18.31	
12	20X	1	0.44	0.44	12.57	12.51
		2	0.44		12.63	
		3	0.43		12.34	
24	15X	1	0.49	0.48	10.41	10.25
		2	0.46		9.86	
		3	0.49		10.48	
36	10X	1	0.35	0.34	5.03	4.93
		2	0.34		4.90	
		3	0.34		4.87	
48	5X	1	0.58	0.57	4.14	4.10
		2	0.57		4.06	
		3	0.57		4.09	
60	5X	1	0.47	0.47	3.38	3.34
		2	0.46		3.32	
		3	0.47		3.33	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-25 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 2:1 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	เอทานอล(กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	2:1	1	0.60	0.61
		2	0.63	
		3	0.61	
12	2:1	1	2.19	2.26
		2	2.27	
		3	2.33	
24	2:1	1	2.92	2.86
		2	2.79	
		3	2.87	
36	2:1	1	4.01	4.18
		2	4.31	
		3	4.22	
48	2:1	1	5.34	5.34
		2	5.33	
		3	5.34	
60	2:1	1	2.95	3.04
		2	2.99	
		3	3.17	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-26 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 2:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าพีเอช	เฉลี่ย
0	2:1	1	5.49	5.49
		2	5.48	
		3	5.50	
12	2:1	1	5.38	5.37
		2	5.35	
		3	5.37	
24	2:1	1	5.21	5.22
		2	5.20	
		3	5.24	
36	2:1	1	5.06	5.04
		2	5.02	
		3	5.03	
48	2:1	1	5.56	5.51
		2	5.50	
		3	5.47	
60	2:1	1	5.93	6.04
		2	5.98	
		3	6.21	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-27      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 2:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	2:1	1	8.04	5.46
		2	6.09	
		3	2.26	
12	2:1	1	6.89	11.07
		2	10.67	
		3	15.66	
24	2:1	1	1.87	1.76
		2	1.71	
		3	1.69	
36	2:1	1	2.64	2.58
		2	2.44	
		3	2.66	
48	2:1	1	2.30	2.14
		2	2.17	
		3	1.96	
60	2:1	1	9.61	4.59
		2	2.19	
		3	1.96	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-28

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพขานอ้อย โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและทำการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่อัตราส่วน 4:1 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	การเจือจาง	ซ้ำที่	ค่าดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	20X	1	0.59	0.60	16.86	17.08
		2	0.59		16.71	
		3	0.62		17.66	
12	20X	1	0.46	0.47	13.09	13.27
		2	0.47		13.31	
		3	0.47		13.40	
24	15X	1	0.52	0.52	11.23	11.12
		2	0.53		11.40	
		3	0.50		10.74	
36	10X	1	0.37	0.37	5.31	5.33
		2	0.38		5.36	
		3	0.37		5.33	
48	5X	1	0.58	0.58	4.16	4.18
		2	0.58		4.17	
		3	0.59		4.20	
60	5X	1	0.54	0.54	3.84	3.87
		2	0.54		3.87	
		3	0.55		3.89	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-29 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 4:1 ในไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง)

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	เอทานอล(กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	4:1	1	0.66	0.64
		2	0.62	
		3	0.63	
12	4:1	1	1.65	1.70
		2	1.79	
		3	1.66	
24	4:1	1	1.97	1.97
		2	1.95	
		3	1.98	
36	4:1	1	2.90	2.92
		2	2.87	
		3	3.00	
48	4:1	1	4.72	4.68
		2	4.54	
		3	4.78	
60	4:1	1	3.71	3.61
		2	3.56	
		3	3.55	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-30    ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 4:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าพีเอช	เฉลี่ย
0	4:1	1	5.51	5.51
		2	5.52	
		3	5.49	
12	4:1	1	5.32	5.34
		2	5.34	
		3	5.35	
24	4:1	1	5.23	5.20
		2	5.18	
		3	5.18	
36	4:1	1	5.11	5.10
		2	5.12	
		3	5.06	
48	4:1	1	5.44	5.49
		2	5.55	
		3	5.47	
60	4:1	1	6.40	6.34
		2	6.35	
		3	6.27	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-30    น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 4:1 ในไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500

ชั่วโมงที่	อัตราส่วนเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>P. stipitis</i> TISTR 5806	ซ้ำที่	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	เฉลี่ย
0	4:1	1	1.00	0.72
		2	0.53	
		3	0.64	
12	4:1	1	8.06	7.61
		2	8.99	
		3	5.80	
24	4:1	1	0.27	1.06
		2	1.14	
		3	1.76	
36	4:1	1	1.41	1.84
		2	1.16	
		3	2.94	
48	4:1	1	1.69	2.02
		2	1.47	
		3	2.91	
60	4:1	1	1.93	1.76
		2	1.44	
		3	1.91	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การคำนวณจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก

$$\begin{aligned} \text{ผลได้ของผลิตภัณฑ์ (Y}_{P/S}\text{)} & \text{คือ ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท (กรัมต่อกรัม)} \\ & = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด} - \text{ความเข้มข้นเอทานอลเริ่มต้น}}{\text{ความเข้มข้นของซับสเตรทเริ่มต้น} - \text{ความเข้มข้นของซับสเตรท ณ เวลานั้นๆ}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Productivity ของผลิตภัณฑ์ หรือ อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q}_p\text{)} & \text{(กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)} \\ & = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้}}{\text{เวลา}} \end{aligned}$$

### ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักไฮโดรไลสeshส่วนกากของชานอ้อยหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

$$\begin{aligned} \text{ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท (Y}_{P/S}\text{)} \text{ ชั่วโมงที่ 48} \\ & = \frac{3.30 - 0.65}{17.89 - 4.88} = 0.20 \text{ กรัมต่อกรัม} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q}_p\text{)} \text{ ชั่วโมงที่ 48} \\ & = \frac{3.30 - 0.65}{48} = 0.06 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง} \end{aligned}$$

### หมักด้วยเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

$$\begin{aligned} \text{ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท (Y}_{P/S}\text{)} \text{ ชั่วโมงที่ 48} \\ & = \frac{2.68 - 0.60}{17.15 - 5.28} = 0.18 \text{ กรัมต่อกรัม} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q}_p\text{)} \text{ ชั่วโมงที่ 48} \\ & = \frac{2.68 - 0.60}{48} = 0.04 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง} \end{aligned}$$

### หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 : *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1

$$\begin{aligned} \text{ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อซับสเตรท (Y}_{P/S}\text{)} \text{ ชั่วโมงที่ 48} \\ & = \frac{3.65 - 0.67}{17.54 - 4.74} = 0.23 \text{ กรัมต่อกรัม} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned} \text{อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q}_p\text{) ชั่วโมงที่ 48} \\ = \frac{3.65 - 0.67}{48} = 0.06 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง} \end{aligned}$$

หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 : *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2  
 ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสับสเตรท ( $Y_{p/s}$ ) ชั่วโมงที่ 48

$$= \frac{3.13 - 0.66}{17.13 - 4.88} = 0.20 \text{ กรัมต่อกรัม}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q}_p\text{) ชั่วโมงที่ 48} \\ = \frac{3.13 - 0.66}{48} = 0.05 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง} \end{aligned}$$

หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 : *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4  
 ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสับสเตรท ( $Y_{p/s}$ ) ชั่วโมงที่ 48

$$= \frac{3.91 - 0.54}{18.50 - 4.43} = 0.24 \text{ กรัมต่อกรัม}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q}_p\text{) ชั่วโมงที่ 48} \\ = \frac{3.91 - 0.54}{48} = 0.07 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง} \end{aligned}$$

หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 : *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1  
 ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสับสเตรท ( $Y_{p/s}$ ) ชั่วโมงที่ 48

$$= \frac{5.34 - 0.61}{17.66 - 4.10} = 0.35 \text{ กรัมต่อกรัม}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q}_p\text{) ชั่วโมงที่ 48} \\ = \frac{5.34 - 0.61}{48} = 0.10 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง} \end{aligned}$$

หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 : *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1  
 ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสับสเตรท ( $Y_{p/s}$ ) ชั่วโมงที่ 48

$$= \frac{4.68 - 0.64}{17.08 - 4.18} = 0.31 \text{ กรัมต่อกรัม}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ (Q<sub>p</sub>) ชั่วโมงที่ 48

$$= \frac{4.68 - 0.64}{48} = 0.08 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

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

**ตารางที่ จ-1** ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟต่างๆ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72.384	3	24.128	2997.259	.000
Within Groups	.064	8	.008		
Total	72.448	11			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

กำลังไฟ (วัตต์)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
100	3	8.1833			
200	3		10.9133		
400	3			12.4200	
800	3				14.9633
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลสeshส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ ที่เวลาต่างๆ และย่อยด้วย เอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35.967	2	17.983	1030.244	.000
Within Groups	.105	6	.017		
Total	36.072	8			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (นาท)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	3	12.4833		
2	3		14.9533	
3	3			17.3800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-3 ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลเสทส่วนกากหลังผ่านการปรับสภาพกากชานอ้อยโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	138.529	5	27.706	704.981	.000
Within Groups	.472	12	.039		
Total	139.000	17			

ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	N	Subset for alpha = 0.05				5
		1	2	3	4	
1%	3	10.9167				
2%	3		14.7900			
4%	3			16.8200		
6%	3				17.8100	
8%	3					18.6933
10%	3					18.8767
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.279

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	542.712	5	108.542	640.687	.000
Within Groups	2.033	12	.169		
Total	544.745	17			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
60	3	3.514300					
48	3		4.883333				
36	3			6.209533			
24	3				11.771433		
12	3					15.780933	
0	3						17.857133
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-5 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

## ANOVA

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.049	5	3.610	355.349	.000
Within Groups	.122	12	.010		
Total	18.171	17			

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	.648167					
12	3		.901633				
24	3			1.254767			
36	3				2.323833		
60	3					2.847233	
48	3						3.300633
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-6 ปริมาณฟิเซที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเซทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

## ANOVA

## ระดับฟิเซ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.792	5	.758	45.260	.000
Within Groups	.201	12	.017		
Total	3.993	17			

## ระดับฟิเซ

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
36	3	5.0867		
24	3	5.2567	5.2567	
12	3		5.4300	
48	3		5.4733	
0	3		5.5033	
60	3			6.5200
Sig.		.134	.051	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-7      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

## ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.316	5	12.263	33.537	.000
Within Groups	4.388	12	.366		
Total	65.704	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.2633		
60	3	1.3767	1.3767	
48	3	1.4067	1.4067	
36	3	1.4167	1.4167	
24	3		1.5733	
12	3			6.0200
Sig.		.051	.718	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	522.232	5	104.446	235.237	.000
Within Groups	5.328	12	.444		
Total	527.560	17			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
60	3	4.866667		
48	3	5.280967		
36	3	5.804767		
24	3		13.292833	
12	3			16.904733
0	3			17.152367
Sig.		.126	1.000	.657

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-9 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

## ANOVA

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) *Pichia stipitis* TISTR 5806

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.082	5	2.616	341.130	.000
Within Groups	.092	12	.008		
Total	13.174	17			

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) *Pichia stipitis* TISTR 5806

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	.600367				
12	3		.809600			
24	3			1.321633		
60	3				2.391467	
36	3					2.585433
48	3					2.679400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.213

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-10 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเสท ส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

## ANOVA

## ระดับพีเอช

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.142	5	.228	41.274	.000
Within Groups	.066	12	.006		
Total	1.208	17			

ระดับพีเอช  
Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
24	3	5.3833		
36	3	5.4367	5.4367	
12	3	5.4600	5.4600	
0	3	5.4900	5.4900	
48	3		5.5700	
60	3			6.1267
Sig.		.129	.064	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-11      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806

## ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) *Pichia stipitis* TISTR 5806

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	65.661	5	13.132	.863	.533
Within Groups	182.642	12	15.220		
Total	248.303	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) *Pichia stipitis* TISTR 5806

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
60	3	.8000	
0	3	1.8267	
36	3	2.2167	
24	3	2.5333	
12	3	2.9000	
48	3	6.8667	
Sig.		.111	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	464.469	5	92.894	545.222	.000
Within Groups	2.045	12	0.170		
Total	466.513	17			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
60	3	4.3867				
48	3	4.7367				
36	3		5.4900			
24	3			11.5233		
12	3				14.1067	
0	3					17.5433
Sig.		.320	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตารางที่ จ-13 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1

## ANOVA

## ปริมาณเอทานอล(กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.396	5	4.879	59.184	.000
Within Groups	.989	12	.082		
Total	25.385	17			

## ปริมาณเอทานอล(กรัมต่อลิตร)

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.671600		
12	3	.941200	.941200	
24	3		1.320600	
36	3			3.087867
60	3			3.123100
48	3			3.556133
Sig.		.273	.132	.081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-14 ระดับฟีเอชที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสท ส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1

## ANOVA

## ระดับฟีเอช

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.308	5	.262	157.979	.000
Within Groups	.020	12	.002		
Total	1.328	17			

## ระดับฟีเอช

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
36	3	5.0567				
24	3		5.2567			
12	3			5.3933		
48	3				5.4800	
0	3				5.5100	
60	3					5.9367
Sig.		1.000	1.000	1.000	.384	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-15 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:1

## ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	96.95	5	19.39	82.12	.000
Within Groups	2.833	12	.236		
Total	99.786	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.2533		
36	3	.8600	.8600	
48	3	1.0433	1.0433	
24	3	1.0633	1.0633	
60	3	.0100	1.4767	
12	3			7.0900
Sig.		.082	.175	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตารางที่ จ-16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2

## ANOVA

## ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	470.440	5	94.088	817.067	.000
Within Groups	1.382	12	.115		
Total	471.822	17			

## ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
60	3	4.673800				
48	3	4.880933				
36	3		5.652367			
24	3			11.157133		
12	3				15.590467	
0	3					17.133333
Sig.		.469	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-17 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2

## ANOVA

## ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.536	5	3.307	549.663	.000
Within Groups	.072	12	.006		
Total	16.609	17			

## ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					Sig.
		1	2	3	4	5	
0	3	.658600					
12	3		.843300				
24	3			1.308500			
60	3				2.502967		
36	3					2.696933	
48	3						3.131667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-18 ระดับฟิเอชที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเสท ส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2

## ANOVA

## ระดับฟิเอช

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.558	5	.312	98.394	.000
Within Groups	.038	12	.003		
Total	1.596	17			

## ระดับฟิเอช

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
36	3	5.0533				
24	3		5.2200			
12	3			5.3867		
0	3				5.5233	
48	3				5.5400	
60	3					5.9900
Sig.		1.000	1.000	1.000	.723	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-19      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2

## ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	161.262	5	32.252	6.505	.004
Within Groups	59.488	12	4.957		
Total	220.750	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	.1800	
24	3	1.1167	
36	3	1.3733	
48	3	1.4967	
60	3	1.5800	
12	3		9.0833
Sig.		.494	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-20 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	524.107	5	104.821	488.502	.000
Within Groups	2.575	12	.215		
Total	526.682	17			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
60	3	4.326200				
48	3	4.433333	4.433333			
36	3		5.195267			
24	3			10.742833		
12	3				14.095267	
0	3					18.504767
Sig.		.782	.067	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตารางที่ จ-21 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4

## ANOVA

## ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	524.107	5	104.821	488.502	.000
Within Groups	2.575	12	.215		
Total	526.682	17			

## ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	.541900				
12	3		1.329933			
24	3			2.962933		
60	3				3.027800	
36	3				3.153867	
48	3					3.905400
Sig.		1.000	1.000	1.000	.223	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-22 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสท ส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4

## ANOVA

## ระดับพีเอช

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.495	5	.299	262.495	.000
Within Groups	.014	12	.001		
Total	1.508	17			

ระดับพีเอช  
Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
36	3	5.0600					
24	3		5.2033				
12	3			5.3433			
0	3				5.4633		
48	3					5.5733	
60	3						5.9600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-23      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายไฮโดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:4

## ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	321.243	5	64.249	6.349	.004
Within Groups	121.438	12	10.120		
Total	442.681	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	.5133	
24	3	1.7000	
48	3	1.9300	
60	3	2.2667	
36	3	3.3400	
12	3		13.0633
Sig.		.339	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	483.641	5	96.728	1166.372	.000
Within Groups	.995	12	.083		
Total	484.636	17			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
60	3	3.342867					
48	3		4.095233				
36	3			4.933333			
24	3				10.250000		
12	3					12.514300	
0	3						17.657133
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-25 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของ ไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1

## ANOVA

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39.292	5	7.858	1015.768	.000
Within Groups	.093	12	.008		
Total	39.385	17			

ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	613433					
12	3		2.263667				
24	3			2.859900			
60	3				3.040700		
36	3					4.178300	
48	3						5.337567
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-26 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลเสท ส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1

## ANOVA

ระดับพีเอช

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.756	5	.351	82.303	.000
Within Groups	.051	12	.004		
Total	1.807	17			

ระดับพีเอช

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
36	3	5.0367				
24	3		5.2167			
12	3			5.3667		
0	3				5.4900	
48	3				5.5100	
60	3					6.0400
Sig.		1.000	1.000	1.000	.714	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-27      น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1

## ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	182.549	5	36.510	4.662	.013
Within Groups	93.979	12	7.832		
Total	276.528	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	3	1.7567	
48	3	2.1433	
36	3	2.5800	
60	3	4.5867	
0	3	5.4633	
12	3		11.0733
Sig.		.164	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-28 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสeshส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1

## ANOVA

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	452.630	5	90.526	1340.026	.000
Within Groups	.811	12	.068		
Total	453.440	17			

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
60	3	3.866667				
48	3	4.176167				
36	3		5.333333			
24	3			11.121433		
12	3				13.266667	
0	3					17.076167
Sig.		.170	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตารางที่ จ-29 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อรวมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1

## ANOVA

## ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31.519	5	6.304	1054.274	.000
Within Groups	.072	12	.006		
Total	31.591	17			

## ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	.636433					
12	3		1.701133				
24	3			1.965133			
36	3				2.923400		
60	3					3.608700	
48	3						4.678233
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-30 ระดับพีเอชที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสท ส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1

## ANOVA

## ระดับพีเอช

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.961	5	.592	360.109	.000
Within Groups	.020	12	.002		
Total	2.981	17			

## ระดับพีเอช

## Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
36	3	5.0967				
24	3		5.1967			
12	3			5.3367		
48	3				5.4687	
0	3				5.5067	
60	3					6.3400
Sig.		1.000	1.000	1.000	.557	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-31 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอล (เป็นเวลา 60 ชั่วโมง) ของไฮโดรไลสเสทส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 8 ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5806 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 4:1

## ANOVA

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	97.904	5	19.581	23.882	.000
Within Groups	9.839	12	.820		
Total	107.743	17			

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

เวลา (ชั่วโมง)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	.7233	
24	3	1.0567	
60	3	1.7600	
36	3	1.8367	
48	3	2.0233	
12	3		7.6167
Sig.		.134	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้