



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร. ประมุข กระจกสุขสถิตย์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ: การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล

ชื่อผู้วิจัย: ประมุข กระจุกสุขสถิตย์

หน่วยงานที่สังกัด: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร

กรุงเทพฯ

ปีที่เสร็จ: 2555

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟัรติรติเมนต์ชีวมวล 4 ชนิด คือ ไม้ยูคาลิปตัส ไม้กระถินเทพา, ลำต้นปาล์ม และทางใบปาล์ม โดยกระบวนการระเบิดไอน้ำเพื่อลดสัดส่วนของเพนโตแซน และการสกัดด่างเพื่อลดสัดส่วนของลิกนิน ส่งผลให้สัดส่วนของเซลลูโลสเพิ่มขึ้น และลดการกีดขวางการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีเกิดเปลี่ยนแปลง ช่วยให้เพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลให้ดียิ่งขึ้น โดยทำการระเบิดไอน้ำที่ 200 และ 210 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 4 และ 6 นาที คิดเป็นค่าความรุนแรง ($\log Ro$) เท่ากับ 3.24, 3.54, 3.55, 3.72, 3.84 และ 4.02 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการระเบิดไอน้ำของชีวมวลทั้ง 4 ชนิด คือ $\log Ro$ 3.84 (210 องศาเซลเซียส 4 นาที) สัดส่วนเพนโตแซนลดลงในชีวมวลทั้ง 4 ชนิด คิดเป็น 81.33, 56.24, 86.53 และ 78.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำไปผ่านการฟัรติรติเมนต์โดยการสกัดด่างที่ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส ที่เวลา 30, 60 และ 90 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด่างของไม้ยูคาลิปตัสและกระถินเทพา คือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส ที่เวลา 90 นาที โดยสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุดและลิกนินต่ำสุด คือ 76.84, 16.79 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ 61.54, 29.86 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด่างของลำต้นปาล์มและทางใบปาล์ม คือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส ที่เวลา 60 นาที โดยสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุดและลิกนินต่ำสุด คือ 87.14, 6.13 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ 82.92, 19.26 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ นอกจากนี้ยังศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันจากชีวมวล 4 ชนิด คือ เยื่อไม้ยูคาลิปตัส, เยื่อไม้กระถินเทพา, เยื่อลำต้นปาล์ม และเยื่อทางใบปาล์ม โดยใช้ปริมาณเยื่อที่ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิที่ 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า การใช้ปริมาณเยื่อที่ 10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด คือ 30.60, 23.16, 33.16 และ 44.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: ชีวมวล, การระเบิดด้วยไอน้ำ, การสกัดด่าง, ฟัรติรติเมนต์, กระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน

ABSTRACT

Research Title: Production of Bioethanol from Biomass

Researcher: Pramuk Parakulsuksatid

Office: Department of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok

Year: 2012

The objective of this research was to study the optimum condition for four biomass as Eucalyptus, Accacia, oil palm trunk and oil palm frond pretreatment by steam explosion to decrease pentosan content and alkaline extraction to remove lignin content. Therefore, the chemical structures were modified to increase cellulose content, improve the rate of enzyme hydrolysis and increase efficiency of ethanol production. Steam explosion of biomass was operated at 200 and 210 °C and for 2, 4 and 6 minutes which gave severity (logRo) 3.24, 3.54, 3.55, 3.72, 3.84 and 4.02. The optimum condition of steam explosion for four biomass was logRo 3.84 (210 °C, 4 minutes). The pentosan decreased 81.33, 56.24, 86.53 and 78.71%, respectively. Then, the four fibers were extracted by alkaline extraction with NaOH (15, 20 and 25%), temperature (70, 80 and 90 °C) and extraction time (30, 60 and 90 minutes). The optimum condition of alkaline extraction of Eucalyptus fibers and Accacia fibers were 25% NaOH, 70 °C of temperature and 90 minutes of extraction time, the highest cellulose and lowest lignin were 76.84, 16.79% DW. of Eucalyptus fibers and 61.54, 29.84% DW. of Accacia fibers, respectively. The optimum condition of alkaline extraction for oil palm trunk fibers and oil palm fronds were 15% NaOH, 90 °C of temperature and 60 minutes of extraction time, the highest cellulose and lowest lignin were 87.14%, 6.13% DW. of oil palm trunk fibers and 82.96, 19.26% DW. of oil palm frond fibers, respectively. Furthermore, this research was to study the optimum condition for bioethanol production by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) process from Eucalyptus fibers, Accacia fibers, oil palm trunk fibers and oil palm frond fibers with the concentration of substrate loading (5, 7.5 and 10% w/v) and the culturing temperature (30, 35, 40 and 45 °C). The optimum condition were the concentration of substrate loading 10% w/v and the culturing temperature 40 °C. The highest ethanol production 30.60, 23.16, 33.16 and 44.25 g/L, respectively. The oil palm trunk has shown as the potential feedstock for cellulose ethanol production.

Key words: biomass, steam explosion, alkaline extraction, pretreatment, simultaneous saccharification and fermentation

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่คอยช่วยเหลือ คอยให้คำแนะนำจนทำให้งานวิจัยสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร และภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนด้วยงบประมาณจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม (ฝ่าย 5) จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย	4
2.1 ลิกโนเซลลูโลส	4
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของชีวมวล	5
2.3 ชนิดของชีวมวล	9
2.4 การฟิรืตเมนต์	14
2.5 การย่อย	18
2.6 กระบวนการหมักเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลส	21
2.7 การผลิตเอทานอลจากชีวมวลโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาล และการหมักแบบพร้อมกัน	21
2.8 การออกแบบการทดลองด้วยวิธีการทะกุจิ	23
บทที่ 3 วัตถุประสงค์ และวิธีการทดลอง	26
3.1 เชื้อชีวมวล 4 ชนิด คือ ไม้ยูคาลิปตัส ไม้กระถินเทพา ลำต้นปาล์ม และทางใบปาล์ม	26
3.2 การเตรียมชีวมวล	26
3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำฟิรืตเมนต์ โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ ของไม้ยูคาลิปตัส กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม	27
3.4 การสกัดน้ำร้อน ของไม้ยูคาลิปตัส กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม	27

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่าง (Alkaline extraction) ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อน	28
3.6 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการย่อยและหมักพร้อมกัน	30
3.7 วิเคราะห์ผลการทดลอง	31
บทที่ 4 ผลและการอภิปรายผลการทดลอง	33
4.1 การหาองค์ประกอบทางเคมีของไมยคาลิปดัส ไม้กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์มก่อน ฟัรริตเมนต์	33
4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟัรริตเมนต์ โดยการระเบิดไอน้ำ (steam explosion) ของไมยคาลิปดัส กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม	34
4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่าง (alkaline extraction) ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดไอน้ำตามด้วยการสกัดด้วยน้ำ โดยใช้วิธีทะกัจจิ	47
4.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิ และปริมาณเชื้อไมยคาลิปดัส เชื้อไม้กระถินเทพา เชื้อลำต้นปาล์ม และเชื้อทางใบปาล์ม ในการผลิตเอทานอล ด้วยการย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)	92
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	119
บรรณานุกรม	120
ภาคผนวก	124
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์	124

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส	10
2 องค์ประกอบทางเคมีของไม้กระถินเทพา	11
3 องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมัน	13
4 องค์ประกอบทางเคมีของทางใบปาล์มน้ำมันที่ระยะต่าง ๆ	14
5 L-4 (23) Orthogonal array	23
6 สภาวะที่ใช้ในการระเบิดด้วยไอน้ำของชีวมวล โดยค่า severity factor จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาของการระเบิดด้วยไอน้ำ	27
7 ปัจจัยและระดับของแต่ละปัจจัยในการหาสภาวะการสกัดด้วยค่าของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อน	28
8 $L_9 (3^3)$ Orthogonal Array	29
9 ปัจจัยและระดับต่าง ๆ ในการทดลองการหาสภาวะการสกัดด้วยค่าของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อน	29
10 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส ไม้กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์มก่อนฟริทรีตเมนต์	33
11 ค่า severity factor ที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาของการระเบิดด้วยไอน้ำ	34
12 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ยูคาลิปตัส หลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ	35
13 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ยูคาลิปตัส หลังระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ	36
14 สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลงของเฮมิเซลลูโลสในแต่ละขั้นตอนของการฟริทรีตเมนต์ ของไม้ยูคาลิปตัส	37
15 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้กระถินเทพา หลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ	38
16 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้กระถินเทพา หลังระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ	39
17 สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลงของเฮมิเซลลูโลสในแต่ละขั้นตอนของการฟริทรีตเมนต์ ของไม้กระถินเทพา	40

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
18	ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ลำต้นปาล์ม หลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ 41
19	ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ลำต้นปาล์ม หลังระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ 42
20	สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลง ของเฮมิเซลลูโลสในแต่ละขั้นตอนของการพรีทรีตเมนต์ ของไม้ลำต้นปาล์มน้ำมัน 43
21	ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ทางใบปาล์ม หลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ 44
22	ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ทางใบปาล์ม หลังระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ 45
23	สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลง ของเฮมิเซลลูโลสในแต่ละขั้นตอนของการพรีทรีตเมนต์ ของไม้ทางใบปาล์ม 46
24	ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัสที่สกัดด้วยต่าง ณ สภาวะที่แตกต่างกัน 47
25	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส 48
26	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน 49
27	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส 49
28	สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส ลิกนินและเฮมิเซลลูโลส จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของเยื่อยูคาลิปตัส 52
29	อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมี ของเยื่อไม้ยูคาลิปตัสที่สกัดด้วยต่างแล้ว 53
30	สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยต่าง เพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลลูโลสและลด ค่าสัดส่วนลิกนินในเยื่อไม้ยูคาลิปตัสที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว ผ่านการคำนวณโดยวิธีทฤษฎี 56
31	องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัสที่ได้จากการทดลอง ของสภาวะเหมาะสม การสกัดด้วยต่างที่ได้จากวิธีทฤษฎี 57

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
32	เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริง และที่ได้จากการประมาณค่า ซึ่งคำนวณโดยวิธีทฤษฎี ของสภาวะการสกัดต่างเหมาะสม ของไม้ยูคาลิปตัส	58
33	สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส ที่ผ่านการฟิรทรีดเมนต์ สภาวะที่เหมาะสมในแต่ละขั้นตอน	59
34	ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีเชื้อกระถินเทพาที่สกัดด้วยค่า ณ สภาวะที่แตกต่างกัน	58
35	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส	59
36	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน	60
37	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส	60
38	สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส ลิกนินและเฮมิเซลลูโลส จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของไม้กระถินเทพา	63
39	อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อไม้กระถินเทพาที่สกัดด้วยค่าแล้ว	64
40	สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยค่า เพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลลูโลส และลดค่าสัดส่วนลิกนินในเชื้อไม้กระถินเทพาที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำ และสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว ผ่านการคำนวณ โดยวิธีทฤษฎี	67
41	องค์ประกอบทางเคมีของไม้กระถินเทพา ที่ได้จากการทดลองยืนยันผลของสภาวะที่เหมาะสมการสกัดค่าที่ได้จากวิธีทฤษฎี	68
42	เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริง และที่ได้จากการประมาณค่าซึ่งคำนวณโดยวิธีทฤษฎี ของสภาวะการสกัดค่าที่เหมาะสมของไม้กระถินเทพา	69
43	สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้กระถินเทพา ที่ผ่านการฟิรทรีดเมนต์ สภาวะเหมาะสมแต่ละขั้นตอน	69
44	ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ลำต้นปาล์มที่สกัดด้วยค่า ณ สภาวะที่แตกต่างกัน	71
45	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส	72
46	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน	72
47	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของเพนโตแซน	73
48	สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส ลิกนิน และเพนโตแซน จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของลำต้นปาล์มน้ำมัน	75

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
49 อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อลำต้นปาล์มน้ำมันที่สกัดด้วยด่างแล้ว	76
50 สรุปสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยด่างที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนคำนวณโดยวิธีทฤษฎี	79
51 องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมันจากการทดลองยืนยันผลของชุดการทดลอง A และ B โดยวิธีทฤษฎี	80
52 เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองและจากการประมาณค่าโดยวิธีทฤษฎี	80
53 สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการฟริทรีดเมนต์ในสถานะที่เหมาะสม	80
54 ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ทางใบปาล์มที่สกัดด้วยด่าง ณ สถานะที่แตกต่างกัน	82
55 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส	83
56 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน	83
57 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของเพนโตแซน	84
58 สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส ลิกนิน และเพนโตแซนจากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของทางใบปาล์ม	86
59 อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อทางใบปาล์มที่สกัดด้วยด่างแล้ว	87
60 สรุปสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยด่าง เพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลลูโลสและลดค่าสัดส่วนลิกนินในเชื้อทางใบปาล์มที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว ผ่านการคำนวณโดยวิธีทฤษฎี	90
61 องค์ประกอบทางเคมีทางใบปาล์มจากการทดลองยืนยันผลของชุดการทดลอง A และ B ในการสกัดด้วยด่างที่ได้จากวิธีทฤษฎี	91
62 เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริง และที่ได้จากการประมาณค่าซึ่งคำนวณโดยวิธีทฤษฎี ของสถานะการสกัดด้วยด่างที่เหมาะสมของทางใบปาล์ม	91
63 สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของทางใบปาล์ม ที่ผ่านการฟริทรีดเมนต์สถานะเหมาะสมแต่ละขั้นตอน	92

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
64	ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยราลัยปัส โดยแปรผันปริมาณเชื้อ และ อุณหภูมิในการหมักด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง
65	ผลลัพธ์ ANOVA การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเข้มข้นเอทานอล สำหรับปริมาณเชื้อและอุณหภูมิใน แผนการทดลองแฟคทอเรียล
66	ผลลัพธ์ ANOVA การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลได้ของเอทานอล สำหรับปริมาณเชื้อและอุณหภูมิใน แผนการทดลองแฟคทอเรียล
67	ผลลัพธ์ ANOVA การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลได้ของเอทานอลเทียบ กับทางทฤษฎีสำหรับปริมาณเชื้อและอุณหภูมิในแผนการทดลองแฟคทอเรียล
68	ผลลัพธ์ทางสถิติของการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ ของปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส
69	ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด และผลได้เอทานอลของกระบวนการย่อย และหมักพร้อมกันของเชื้อลำต้นปาล์ม
70	ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด และผลได้เอทานอลของกระบวนการย่อย และหมักพร้อมกันของเชื้อทางใบปาล์ม

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การจัดเรียงตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในชีวมวล	4
2 โครงสร้างทางเคมีเซลลูโลส	5
3 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส	7
4 โครงสร้างทางเคมีของลิกนิน	8
5 โครงสร้างโมโนเมอร์ของลิกนิน	9
6 การปรับสภาพ (pretreatment) เพื่อทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงของลิกโนเซลลูโลส	15
7 กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลส	20
8 การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล	21
9 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ตัวอย่าง 4 ชนิดก่อนพรีทรีตเมนต์	33
10 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลลูโลส	55
11 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน	55
12 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส	55
13 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลลูโลส	66
14 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน	66
15 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส	66
16 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลลูโลส	78
17 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน	78
18 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเพนโตแซน	78
19 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลลูโลส	89
20 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน	89
21 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเพนโตแซน	89
22 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยูกาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	93
23 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยูกาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	94

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
24 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	95
25 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	96
26 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	97
27 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	98
28 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	99
29 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	100
30 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วย กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	101
31 การผลิตเอทานอลโดย <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน	102
32 การผลิตเอทานอลโดย <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน	103
33 การผลิตเอทานอลโดย <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน	103
34 การผลิตเอทานอลโดย <i>S. cerevisiae</i> Sc90 และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน	105

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
35 การผลิตเอทานอลโดย <i>S. cerevisiae</i> Sc90 และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน	105
36 การผลิตเอทานอลโดย <i>S. cerevisiae</i> Sc90 และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน	106
37 การผลิตเอทานอลจากเชื้อกระถินเทพาโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	112
38 การผลิตเอทานอลจากเชื้อกระถินเทพาโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	113
39 การผลิตเอทานอลจากเชื้อลำต้นปาล์มโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	114
40 การผลิตเอทานอลจากเชื้อลำต้นปาล์มโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	115
41 การผลิตเอทานอลจากเชื้อทางใบปาล์มโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	117
42 การผลิตเอทานอลจากเชื้อทางใบปาล์มโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร	117

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เอทานอลเป็นพลังงานทดแทนที่ทั่วโลกกำลังให้ความสนใจ เนื่องจากน้ำมันซึ่งเป็นพลังงานหลักของโลกมาช้านาน ปรับราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในปัจจุบันทุกประเทศที่นำเข้าน้ำมันจึงตระหนักถึงความเสี่ยงจากการพึ่งพิงน้ำมันเป็นพลังงานหลักเพียงอย่างเดียว จึงเริ่มมองหาพลังงานทดแทน เพราะนอกจากจะช่วยลดการนำเข้าน้ำมันแล้ว พลังงานทดแทนอย่างเอทานอลยังได้รับความสนใจในฐานะพลังงานที่สะอาดกว่าน้ำมัน ซึ่งสอดคล้องกับกระแสการแก้ปัญหาโลกร้อนอันเกิดจากภาวะแก๊สเรือนกระจกอีกด้วย

ปัจจุบันการผลิตเอทานอลส่วนใหญ่ของโลกใช้วัตถุดิบหลัก 2 ประเภท คือ น้ำตาล เช่น อ้อย และกากน้ำตาล และแป้ง เช่น มันสำปะหลัง ข้าว และข้าวโพด อย่างไรก็ตาม เริ่มมีความกังวลว่าวัตถุดิบดังกล่าวอาจไม่เพียงพอต่อการผลิตเอทานอลในอนาคต และเป็นการนำพืชอาหารมาใช้ผลิตเอทานอลซึ่งในบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา และจีน ที่นำข้าวโพดมาใช้ผลิตเอทานอลส่งผลให้ราคาสินค้าอาหารภายในประเทศปรับสูงขึ้น ดังนั้นในปัจจุบันการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลในหลายประเทศจึงมุ่งเน้นไปที่วัตถุดิบประเภทอื่น คือ เซลลูโลส ซึ่งเป็นเศษเหลือใช้ที่ได้จากพืช และเนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีแหล่งชีวมวลจากภาคการเกษตรมากมาย จึงมีความได้เปรียบทางวัตถุดิบ

จากการศึกษาพบว่าวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว กากอ้อย ชังข้าวโพด และเปลือกไม้ ชีวมวลดังกล่าวประกอบด้วยวัสดุลิกโนเซลลูโลส (lignocellulosic material) ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืชนั้น มีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เนื่องจากชีวมวลมีองค์ประกอบที่เป็นลิกนินและเฮมิเซลลูโลสที่มีโครงสร้างซับซ้อน ทำให้ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนของการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและการหมักกลูโคสเพื่อเปลี่ยนให้เป็นเอทานอล ฉะนั้นจึงต้องทำการแยกโครงสร้างลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากเซลลูโลส และเพื่อปรับปรุงโครงสร้างของเซลลูโลสเอง (Mosier และคณะ, 2005) ซึ่งขั้นตอนการแยกลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากเซลลูโลส กระทำได้โดยการทำฟิรทรีด-เมนต์ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการหาสภาวะที่

เหมาะสมของการทำพรีทรีตเมนต์ โดยศึกษาเทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำ (steam explosion) และเทคนิคการกำจัดลิกนินโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์สกัด เพื่อช่วยทำให้โครงสร้างของเซลลูโลสที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่ายขึ้นและได้กลูโคสออกมาเพื่อใช้ในการหมักโดยเชื้อต่อไป โดยการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส เพื่อให้ได้เฉพาะปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด ซึ่งใช้ในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation) ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการพรีทรีตเมนต์ไม้อยูคาลิปตัส ไม่กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ เพื่อกำจัดเฮมิเซลลูโลส

1.2.2 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการพรีทรีตเมนต์โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กำจัดลิกนินออกจากของเชื้อไม้อยูคาลิปตัส ไม่กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม ที่ได้ภายหลังจากการระเบิดด้วยไอน้ำ และสกัดน้ำร้อน

1.2.3 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) ของเชื้อไม้อยูคาลิปตัส ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม

1.3 ขอบเขตการศึกษา

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการพรีทรีตเมนต์โดยกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำ การสกัดน้ำร้อน และการสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ของชีวมวล 4 ประเภท คือไม้อยูคาลิปตัส ไม่กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) ด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* SC90 ของเชื้อไม้อยูคาลิปตัส ลำต้นปาล์ม

น้ำมัน และทางใบปาล์ม โดยศึกษาปริมาณเชื้อ อุณหภูมิ และเวลาที่ระดับต่างๆ ของกระบวนการหมัก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

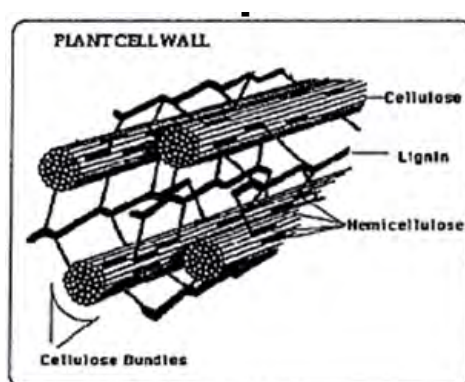
บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

2.1 ลิกโนเซลลูโลสิก (lignocellulosics)

ลิกโนเซลลูโลสิก (lignocellulosics) เป็นชีวมวลที่เป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีมากที่สุดในโลก จัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบไปด้วย เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ นอกจากเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน ยังมีองค์ประกอบอื่นอยู่ในผนังเซลล์ของพืช มีทั้งส่วนที่ต้องทำการสกัด และที่ไม่ต้องสกัด โดยสารที่ต้องทำการสกัดประกอบไปด้วย ไขมัน แวกซ์ แทนนิน เรซิน เป็นต้น ส่วนสารที่ไม่ต้องสกัด องค์ประกอบส่วนใหญ่คือพวกสารอนินทรีย์ เช่น ซิลิกา คาร์บอนेट ออกซาเลต เป็นต้น (Bharathi และ Ravindra, 2006)

ชีวมวลแต่ละชนิดจะมีอัตราส่วนระหว่างเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินไม่เท่ากันซึ่งจะขึ้นกับ ชนิดและอายุของไม้ โดยไม้ที่มีลิกนินมาก จะมีความแข็งแรงสูง และในไม้ชนิดเดียวกัน ไม้ที่มีอายุมากจะมีปริมาณลิกนินมาก โดยการจัดเรียงตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในไม้จะเป็นไป ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การจัดเรียงตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในชีวมวล

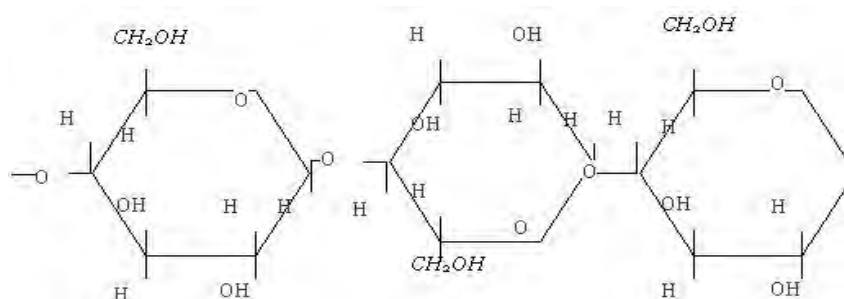
ที่มา: Sjostrom (1981)

ในผนังเซลล์ของพืช เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จะมีการจัดเรียงตัวดังภาพที่ 1 กล่าวคือ เซลลูโลสแต่ละโมเลกุลจะเกิดการรวมกันเป็นมัดของเซลลูโลส (cellulose bundles) ซึ่งมีลิกนินล้อมรอบอยู่ โดยมีเฮมิเซลลูโลสทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างเซลลูโลสกับลิกนินเข้าไว้ด้วยกัน การจัดเรียงตัวในลักษณะดังกล่าว ทำให้เส้นใยที่อยู่ในผนังเซลล์ มีความแข็งแรงสูงขึ้น

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของชีวมวล

1. เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลสเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งที่มีมากในผนังเซลล์ของพืช โครงสร้างของโมเลกุลเป็นแบบไม่มีกิ่งก้านสาขาประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคสหลายหน่วยมาต่อกันเป็นเส้นยาวด้วยพันธะแบบ $\beta(1-4)$ -glycosidic (ภาพที่ 2) เซลลูโลสจะไม่ละลายด้วยน้ำตัวทำละลายอินทรีย์ หรือสารละลายด่างอ่อน แต่จะละลายในกรดและด่างแก่ เมื่อไฮโดรไลซ์สลายโดยสมบูรณ์ด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว แต่ถ้าวินิจฉัยไฮโดรไลซิสสลายตัว ไม่สมบูรณ์จะได้เซลโลไบโอส ซึ่งเป็นไดแซ็กคาไรด์ และได้โอลิโกแซ็กคาไรด์



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีเซลลูโลส

ที่มา: Chemistryland (2010)

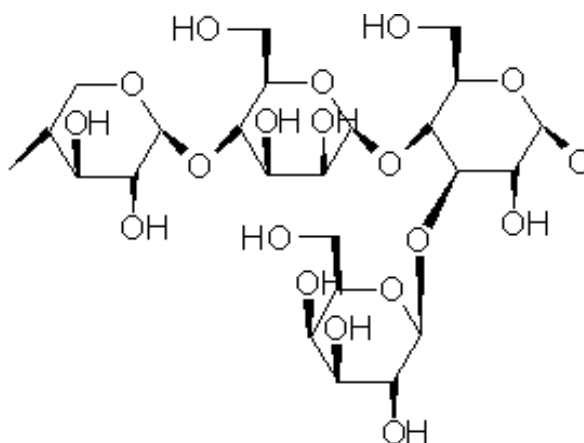
สายพอลิเมอร์แต่ละสายจะเรียงขนานกันและสร้างพันธะไฮโดรเจนเชื่อมต่อกัน ซึ่งอาจจะสูงถึง 3 พันธะต่อหน่วยกลูโคส แต่เมื่อรวมกันหลายสายจะเรียกว่าไมโครไฟบริล (microfibril) ซึ่งเป็นโครงสร้างแบบโครงผลึกสามมิติ ส่วนที่เป็นเซลลูโลสโครงสร้างแบบผลึก (crystalline) นั้นจะมีความคงทนต่อเอนไซม์และกรดมาก ส่วนที่ไม่ได้เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนแต่มีการจัดเรียงตัวแบบสุ่มจะเรียกว่าเซลลูโลสแบบหลวม (amorphous) เซลลูโลสธรรมชาติส่วนใหญ่จะ

เป็นเซลลูโลสแบบผลึก หรือโครงสร้างแบบระเบียบ ซึ่งเรียงแน่นเป็นมัดไมโครไฟบริล มีความแข็งแรงและไม่ละลายน้ำหรือสารอินทรีย์ใด ๆ ซึ่งสามารถแบ่งชนิดของเซลลูโลสตามปริมาณการละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. แอลฟาเซลลูโลส คือเซลลูโลสที่ไม่ละลายในสารละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์
2. บีต้าเซลลูโลส คือเซลลูโลสที่ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง แต่สามารถตกตะกอนได้ง่ายในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด
3. แกมมาเซลลูโลส คือเซลลูโลสที่ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายกรดแต่สามารถตกตะกอนได้โดยใช้แอลกอฮอล์ (วรณี และวิชัย, 2546)

2. เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses)

เฮมิเซลลูโลสเป็นสารประกอบพอลิเมอร์ไฮดรโทสฐาน (Amorphous polymeric carbohydrate) พบมากในพืชมะนาวและพืชมะนาว (ภาพที่ 3) เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 หรือ 6 โมเลกุล น้ำตาลที่ประกอบอยู่ในเฮมิเซลลูโลส ได้แก่ ไซโลส, อะราบิโนส, กลูโคส, กาแลกโตส และแมนโนส เฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์เฮเทอโรไกลแคน (Heteroglycan) คือประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ กันตั้งแต่ 2-4 ชนิด ส่วนเฮมิเซลลูโลสชนิดที่ประกอบด้วยน้ำตาลชนิดเดียวเรียกว่า โฮโมไกลแคน (Homoglycan) นั้นจะพบเป็นส่วนน้อย ซึ่งชนิดของน้ำตาลและปริมาณที่พบจะขึ้นอยู่กับชนิดและแหล่งของพืช เฮมิเซลลูโลสละลายในสารละลายที่เป็นด่างเจือจาง ปกติจะอยู่ร่วมกับเซลลูโลส ลิกนิน และสารประกอบเพกทินในผนังเซลล์ของพืช โดยส่วนใหญ่แล้วจะพบเฮมิเซลลูโลสในผนังเซลล์ประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์



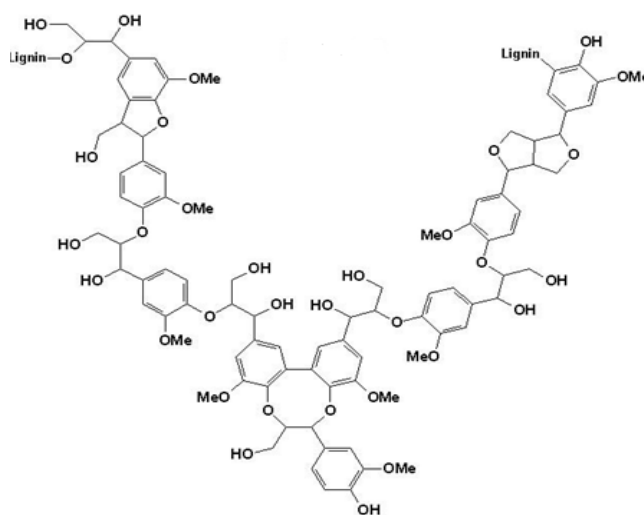
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา: Princeton (2010)

สายพอลิเมอร์ของเฮมิเซลลูโลสมีลักษณะเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดปนกัน คือ เพนโทแซน ส่วนใหญ่เป็นไซแลนและอะราบิแนน เมื่อนำไปไฮโดรไลซ์จะได้น้ำตาลไซโลสและอะราบิโนส ไซแลนเป็นสารที่มีอยู่ในเฮมิเซลลูโลสมากกว่าสารอื่นเฮกโซแซน ส่วนใหญ่เป็นแมนแนน กาแลกแทน และกลูแคน เมื่อถูกไฮโดรไลซ์จะได้น้ำตาล แมนโนส กาแลกโทส และกลูโคส ตามลำดับ พอลิยูโรไนด์ ส่วนมากเป็นสารประกอบของกรดพอลิยูโรนิกและยังพบกรดยูโรนิกปนอยู่ด้วย ที่สำคัญคือ เฮกซาลอนิก(วรณี และวิชัย, 2546)

3. ลิกนิน (lignin)

ลิกนิน เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มักพบอยู่ร่วมกับเซลลูโลส ลิกนินเป็นสารที่ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนรวมกันเป็นหน่วยย่อยหลายชนิดซึ่งเป็นสารอะโรมาติก ลิกนิน แสดงในภาพที่ 4 ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิดเช่น ในเอทานอลหรือเมทานอลที่ร้อน และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ไม่มีสมบัติทางการยึดหยุ่น เพราะฉะนั้นจึงทำให้พืชที่มีลิกนินมากมีความแข็งแรงทนทาน เมื่อพืชตายลิกนินจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ลิกเนส หรือลิกนินเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในรา

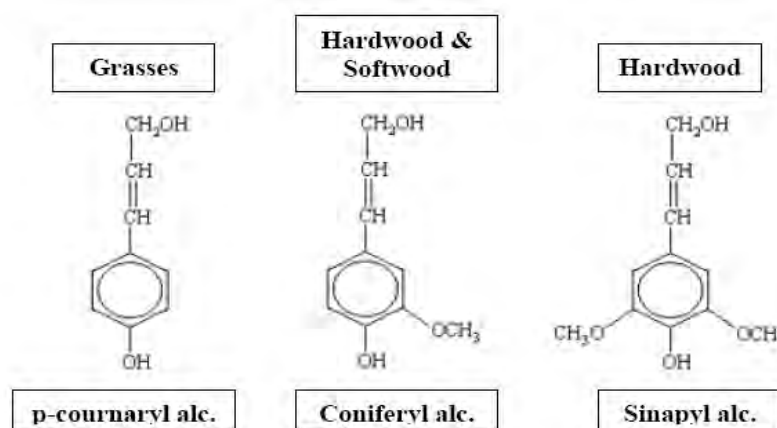


ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของลิกนิน

ที่มา: plantphys (2010)

ปกติลิกนินจะเกาะกันอยู่ในชั้นระหว่างเส้นใย (middle lamella) ซึ่งทำหน้าที่ยึดเกาะเส้นใยเข้าด้วยกันและมีบางส่วนผสมอยู่ในเส้นใยด้วย นอกจากนี้ยังพบในโครงสร้างของเซลล์พืชบริเวณรอบ ๆ เซลลูโลสทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันเซลลูโลสจากการไฮโดรลิซิสอีกด้วย โดยลิกนินนั้นจัดเป็นส่วนประกอบที่สำคัญอย่างหนึ่งของ ปัจจุบันยังไม่สามารถแยกลิกนินบริสุทธิ์ออกมาได้ ดังนั้นการศึกษาถึงโครงสร้างของลิกนินให้ชัดเจนจึงไม่อาจกระทำได้ แต่มีผู้ศึกษาสูตรเคมีซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ซึ่งวิเคราะห์ได้เป็น $C_9H_{8.83}O_{2.37} (OCH_3)_{0.96}$ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 3,000–30,000 (วรณี และวิชัย, 2546)

หน่วยย่อยของลิกนิน หรือ Monolignols มีรูปแบบหลัก ๆ ที่พบในธรรมชาติ 3 โมโนเมอร์ แสดงดังภาพที่ 5 โมโนเมอร์ลิกนินชนิด p-coumaryl alcohol พบมากในพืชตระกูลหญ้า ส่วน coniferyl alcohol เป็นโมโนเมอร์ลิกนินที่มีมากในพืชใบแคบ (softwood) ด้านไม้ใบกว้าง (hardwood) พบว่า มีทั้ง coniferyl และ sinapyl alcohols เป็นโครงสร้างหลักในการรวมตัวเป็นลิกนิน โดยในไม้ใบแคบมีลิกนินอยู่ 26-32 เปอร์เซ็นต์ และไม้ใบกว้าง มีลิกนินอยู่ประมาณ 20-28 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 5 โครงสร้างโมโนเมอร์ของลิกนิน

ที่มา: Noomjapan (2010)

ลิกนินสามารถนำไปใช้ในการผลิตเป็นกาวไม้ ส่วนผสมในคอนกรีต ส่วนผสมในอาหารสัตว์ หรือ ตัวเชื่อมต่อนในอาหารสัตว์ สารควบคุมฝุ่นในท้องถนน และใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง เป็นต้น

2.3 ชนิดของชีวมวล

การศึกษานี้ได้ศึกษาการใช้ชีวมวล 4 ชนิด คือ ยูคาลิปตัส กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม

1. ยูคาลิปตัส

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Eucalyptus* sp. ชื่อวงศ์คือ Myrtaceae ชื่อสามัญคือ ยูคาลิปตัสชื่อทางการค้าคือ Red gum ยูคาลิปตัสเป็นพันธุ์ไม้ต่างประเทศ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปออสเตรเลียเป็นส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ในทุกสภาพดิน ตั้งแต่ดินทราย ดินเค็ม ดินเปรี้ยว แต่ไม่ทนดินที่มีหินปูนสูงทนต่อความแห้งแล้งได้ (ศูนย์ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจ, 2550)ความต้องการเชื้อยูคาลิปตัสมีเพิ่มมากขึ้นในตลาดโลกของเชื้อไม้ไผ่กว้าง โดยจะมีการผลิต รวม 10 ล้านตัน/ปี และทุกปีมีปริมาณการผลิตจะเพิ่มขึ้น 6 เปอร์เซ็นต์ มากเป็นสองเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อไม้ทั่วไป (Patt และ คณะ, 2006) โดยองค์ประกอบทางเคมีของยูคาลิปตัสมีดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globulus*)

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ (เทียบกับน้ำหนักแห้งของชีวมวล)
เซลลูโลส	51.3
ลิกนิน	21.9
ไซแลน	19.9
กลูโคแมนแนน	1.4
สารแทรก	2.5

ที่มา: Patt และคณะ (2006)

2. กระถินเทพา

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Acacia mangium* Willd ชื่อวงศ์คือ Leguminosae-Mimosoideae ชื่อสามัญคือ Kra thin te pha (ไทย), Sabah salwood, Tongke hutan หรือ mangge hutan (อินโดนีเซีย) ชื่อทางการค้าคือ Brown salwood (ชื่อทางการค้าของออสเตรเลีย) (ศูนย์ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, ม.ป.ป.)

ไม้กระถินเทพาเป็นพันธุ์ไม้อะเคเซีย ที่มีการปลูกป่าเศรษฐกิจอย่างจริงจัง และเป็นชนิดไม้ที่ปลูกกันมาในต่างประเทศมากที่สุดโดยเฉพาะในประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย และเวียดนาม (Awang และ Taylor, 1993) สำหรับในประเทศไทยก็มีการปลูกกันมากเช่นเดียวกัน เพราะกระถินเทพามีการเจริญเติบโตเร็ว ลำต้นเปลาตรง ให้ผลผลิตได้สูง (Harwood และ Williams, 1992) ไม้กระถินเทพา ถูกศึกษาถึงปริมาณ และคุณลักษณะทางโครงสร้างของลิกนิน ไซแลนและเซลลูโลส โดย Pinto (2005) แสดงดังตารางที่ 2 สรุปองค์ประกอบทางเคมีโดยทั่วไปของไม้กระถินเทพา (*Acacia mangium*)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของไม้กระดินเทพา (*Acacia mangium*)

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ (เทียบกับน้ำหนักแห้งของชีวมวล)
Ashes	0.22
Extractives	
-Ethanol/Toluene	4.46
-Dichloromethane	1.32
-Methanol/water	4.05
Lignin	
-Klason lignin	27.1
-Acid soluble lignin	0.54
-Holocellulose	70.9
Cellulose (Kurschner-Hoffer)	46.5
Pentosans	13.3
Neutral monosaccharides c	
-Rhamnose	0.3
-Arabinose	0.2
-Xylose	10.9
-Mannose	1
-Galactose	0.6
-Glucose	48
-Uronic acids	7.6

ที่มา: Pinto และคณะ (2005)

3. ปาล์มน้ำมัน

ปาล์มน้ำมัน (oil palm) เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในทวีปแอฟริกา อยู่ในตระกูล Palmae ชื่อพฤกษศาสตร์ *Elaeis guineensis* Jacq.

พรชัย (2549) กล่าวว่าสภาพแวดล้อมทางภูมิอากาศมีผลต่อการเจริญเติบโตของปาล์มน้ำมันเป็นอย่างมาก ซึ่งปาล์มน้ำมันที่ปลูกในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันจะมีการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตที่ต่างกัน โดยปาล์มน้ำมันจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาพพื้นที่ที่มีปริมาณฝนตกกระจายประมาณ 1,800-2,000 มิลลิเมตร/ปี แสงแดดอย่างน้อยวันละ 5 ชั่วโมง อุณหภูมิเฉลี่ย 29-32 องศาเซลเซียส ความชื้นร้อยละ 75

การใช้ประโยชน์จากผลผลิตปาล์มน้ำมัน (พรชัย, 2549)

ผลผลิตหลักที่ได้จากปาล์มน้ำมันคือน้ำมันสามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในชีวิตประจำวันของมนุษย์ทั้งบริโภคและอุปโภคกว่า 2,300 ชนิด น้ำมันที่ได้จากผลปาล์มน้ำมันจัดเป็นน้ำมันที่มีคุณสมบัติทางเคมีดีที่สุดประเภทหนึ่ง นอกจากนี้แล้วผลพลอยได้จากปาล์มน้ำมันยังมีอีกมากมาย ได้แก่

1. ทะลายปาล์มน้ำมัน เป็นส่วนเหลือจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มในโรงงาน ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารและกากใยเป็นจำนวนมาก จึงใช้กลับคืนสู่สวนปาล์มน้ำมันเพื่อคลุมโคนต้น เพาะเห็ด เป็นต้น
2. กากใยจากส่วนเปลือก เป็นส่วนของเปลือกที่เหลือจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน ส่วนนี้สามารถนำไปทำปุ๋ยอินทรีย์ เฟอร์นิเจอร์ และใช้เป็นเชื้อเพลิงของโรงงานในหม้อไอน้ำ
3. กะลาปาล์มน้ำมัน ที่เหลือจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม กะลาปาล์มน้ำมันสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงของหม้อไอน้ำในโรงงาน อาจนำไปทำถ่านกัมมันต์ (activated carbon) ที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ และวงการแพทย์
4. ทางใบปาล์มน้ำมัน สามารถนำไปทำปุ๋ย ใช้คลุมหน้าดินเพื่อเพิ่มความชื้น หรืออาจนำส่วนของทางใบไปทำเฟอร์นิเจอร์
5. ต้นปาล์มน้ำมันเก่า นำไปทำเชื้อเพลิงซึ่งมีชีวมวล (biomass) สูงมาก

3.1 ลำต้นปาล์มน้ำมัน

ลักษณะทางกายภาพ Hartley (1988) กล่าวว่า ลำต้นจะมีการเจริญเติบโตในช่วงต้นเป็นไปอย่างช้า ๆ ลำต้นจะพัฒนาการเจริญเติบโตออกทางด้านข้างก่อนแล้วจึงมีการยืดตัวขึ้นทางส่วนสูง เมื่อลำต้นเริ่มยืดตัวทางด้านสูงฐานของใบก็จะถูกสร้างขึ้น ซึ่งส่วนของลำต้นประกอบไปด้วยส่วนของใบและปล้อง ส่วนของข้อจะปรากฏให้เห็นภายนอกก็ต่อเมื่อใบหลุดร่วง ในส่วนของฐานใบจะติดอยู่กับลำต้นเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ปี ส่วนในเรื่องของอัตราการขยายตัวของลำต้นก่อนข้างจะแผ่แปรซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อม และทางพันธุกรรม

สมบัติทางเคมี Khozirah และคณะ (1991) อธิบาย ส่วนลำต้นของปาล์มน้ำมันจะมีปริมาณลิกนินและไฮโดรเซลลูโลส น้อยอย่างเห็นได้ชัด แต่มีสารแทรกในปริมาณสูง ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมัน

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ (เทียบกับน้ำหนักแห้งของชีวมวล)
สารแทรกที่ละลายในเอทานอล-เบนซีน	9.8
ไฮโดรเซลลูโลส	45.7
แอลฟาเซลลูโลส	29.2
ลิกนิน	18.8
เพนโตแซน	18.8
เถ้า	2.3

ที่มา: คัดแปลงจาก Mohamad และคณะ (1985)

3.2 ทางใบปาล์มน้ำมัน

ลักษณะทางกายภาพ ใบปาล์มน้ำมันมีลักษณะคล้ายใบมะพร้าว สด และจาก ซึ่งเป็นแบบทางใบ และมีใบประกอบ ใบปาล์มน้ำมันจะถูกพัฒนาจากเนื้อเยื่อในส่วนของ terminal bud ของ apical meristematic tissue การผลิตทางใบขึ้นอยู่กับอายุของปาล์มน้ำมัน ในปาล์มอายุน้อยจะมีการผลิตทางใบในรอบปีสูงกว่าปาล์มน้ำมันอายุมาก โดยที่ต้นอายุน้อย 3 ปีแรกจะมีอัตราการผลิตทาง

ใบ 3-4 ทาง/เดือน หรือประมาณปีละ 36-48 ทาง ในขณะที่ปาล์มน้ำมันอายุเกิน 3 ปีไปแล้ว จะมี อัตราการผลิตทางใบช้าลงเป็น 2-3 ทาง/เดือน หรือประมาณปีละ 24-36 ทาง

Nikhom (1996) กล่าวว่า จำนวนของทางใบนั้นสามารถที่จะตัดได้จำนวน 2 ทางใบต่อต้น ต่อเดือน ซึ่งเมื่อฝังให้แห้งแล้วจะได้น้ำหนัก 1.2 กิโลกรัมต่อทางใบ และ 125 ต้นต่อเฮกเตอร์ ซึ่ง สามารถประมาณได้ว่าจะได้ผลผลิตประมาณ 3,600 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ต่อปี ซึ่งจำนวนทางใบที่สามารถผลิตได้ในโลกนี้ประมาณ 18,000,000 ตัน (คำนวณจากพื้นที่ปลูกทั้งหมดเป็นน้ำหนักแห้ง ในปี 1992)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของทางใบปาล์มน้ำมันที่ระยะต่าง ๆ

องค์ประกอบทางเคมี (%)	A	B	C	D
สกัดด้วยแอลกอฮอล์-เบนซิน	4	4.7	4.6	2.6
Klason lignin	19.7	19.7	19	22.2
ลิกนิน	22.5	22.7	22.1	25.2
โซโลเซลลูโลส	76.7	79.8	80.5	84.9
แอลฟา-เซลลูโลส	41.9	44.9	44.6	50.4
เฮมิเซลลูโลส	34.8	34.9	34.9	34.5

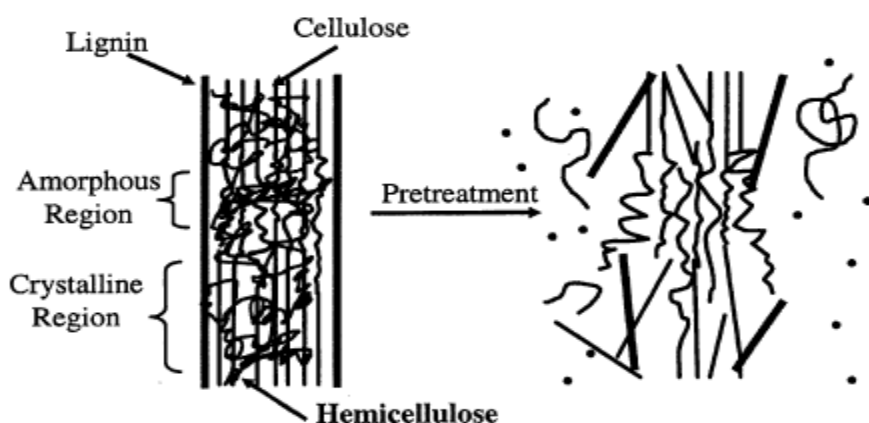
หมายเหตุ A = โคนใบ, B = ก้านใบ 4 ฟุตหลังจากโคนใบ, C = ก้านใบระหว่าง 4-8 ฟุต, D = ก้านใบ ระหว่าง 8-12 ฟุต

ที่มา : Hiroshi *et al.* (1988)

2.4 การพรีทรีตเมนต์ (pretreatment)

วัสดุลิกโนเซลลูโลสนั้นประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก ๆ คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน ซึ่งเซลลูโลสและลิกนินนี้จะอยู่รวมกันที่บริเวณผนังเซลล์ และเนื้อเยื่อชั้นในของเซลล์ โดยมี เฮมิเซลลูโลสเป็นตัวเชื่อมประสานระหว่างเซลลูโลสและลิกนินเข้าไว้ด้วยกัน ทำให้ผนังเซลล์ของพืชมีความแข็งแรงสูง การปรับสภาพวัตถุดิบนั้นทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยเซลลูโลสได้มากขึ้น เพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลนำไปใช้ในการหมักต่อไป และมีจุดประสงค์เพื่อทำให้โครงสร้างที่เป็น ผลึก หรือโครงสร้างระเบียบ (crystalline) ของเซลลูโลส และลิกนินที่ติดอยู่แตกออกดังภาพที่ 6

นอกจากนี้ยังกำจัดเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความเป็นรูพรุนของลิกโนเซลลูโลส โดยการปรับสภาพวัตถุดิบมีประโยชน์ดังนี้ 1) ปรับปรุงโครงสร้างของน้ำตาล หรือเพิ่มความสามารถในขั้นตอนการย่อยให้น้ำตาล 2) ลดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรต 3) ลดการเกิด by-products ซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งในขั้นตอนการย่อย และการหมัก และ 4) ลดต้นทุนในการผลิต การปรับสภาพวัตถุดิบเป็นหนึ่งในขั้นตอนที่แพงที่สุดในการเปลี่ยนชีวมวลเป็นน้ำตาลที่ใช้ในการหมัก และจะเป็นขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพและมีค่าใช้จ่ายลดลงหากมีการวิจัยและพัฒนาที่เหมาะสม (Mosier และคณะ, 2005; Kumar และคณะ, 2009)



ภาพที่ 6 การปรับสภาพ (pretreatment) เพื่อทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงของลิกโนเซลลูโลส

ที่มา: Mosier และคณะ (2005)

วิธีการฟิรติเมนต์ชีวมวลมีมากมาย ซึ่งสามารถแบ่งจำแนกออกได้ดังนี้ คือกระบวนการทางกายภาพ เคมีกายภาพ เคมี และชีวภาพ

1. การฟิรติเมนต์โดยกระบวนการทางกายภาพ

เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบชีวมวล และทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออก ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิว เพื่อให้เอนไซม์เซลลูเลสสามารถเข้าไปไฮโดรไลซ์ทำปฏิกิริยาได้มากขึ้น และเพื่อลดโครงสร้างของเซลลูโลสที่เป็นโครงสร้างแบบผลึก ถ้าใช้กระบวนการทางกล วัตถุดิบจะถูกบดให้ละเอียด โดยการตัด การบด หรือ การใช้ความร้อน ซึ่งขนาดของวัตถุดิบจะถูกทำให้อยู่ระหว่าง 10-30 มิลลิเมตร หลังจากที่ผ่านมาการ

2. การพรีทรีตเมนต์โดยกระบวนการทางเคมีกายภาพ

2.1 การระเบิดไอน้ำ (steam explosion หรือ autohydrolysis)

การระเบิดด้วยไอน้ำ (steam explosion) การระเบิดด้วยไอน้ำถูกนำมาใช้ในการแยกวัสดุจำพวกไม้ และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เมื่อประมาณ 60 ปีมาแล้ว และเทคโนโลยีนี้ได้มีการศึกษาปรับปรุงจนในปัจจุบันเครื่องระเบิดด้วยไอน้ำสามารถทำงานได้ทั้งรูปของกระบวนการแบบเบ็ดเสร็จ (batch) และแบบต่อเนื่อง (continuous) ในการทำงานจะใช้ไอน้ำที่มีอุณหภูมิและความดันสูงไปแยกเอาส่วนของเฮมิเซลลูโลสออกจากส่วนของเซลลูโลส และลิกนินที่ประกอบอยู่ในไม้หรือวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยระยะเวลาของการระเบิดด้วยไอน้ำจะไม่เกิน 5 นาที ส่วนของเซลลูโลส และลิกนินที่เหลือจะแยกออกจากกันโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งจากเทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำนี้ก็จะสามารถแยกเอาส่วนต่าง ๆ คือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน ไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารเคมีมูลค่าเพิ่มต่าง ๆ ได้ ๆ (Biorefinary) ตัวแปรที่สำคัญของเทคนิคการระเบิดด้วยไอน้ำ คือ อุณหภูมิของไอน้ำและระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิด ซึ่งตัวแปรทั้งสองจะรวมกันเป็นตัวแปรเดียวเรียกว่า Severity factor (R_0) ดังสมการแสดงความสัมพันธ์ดังนี้

$$R_0 = \int_0^t \exp\left[\frac{(T-100)}{14.75}\right] dt$$

$$\text{หรือ} \quad \log R_0 = \log \left\{ t \exp\left[\frac{(T-100)}{14.75}\right] \right\}$$

เมื่อ R_0 คือ ค่า Severity factor

t คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิด (นาที)

T คือ อุณหภูมิของไอน้ำ ($^{\circ}\text{C}$)

กลไกในการทำงานของปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในเครื่องระเบิดด้วยไอน้ำ คือ ไอน้ำที่อุณหภูมิสูงจะไปทำให้หมู่แอซิติล (acetyl group) ของโมเลกุลของไซแลนกลายเป็นกรดแอซิดิก ซึ่งกรดแอซิดิกนี้จะทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิส โมเลกุลของไซแลนให้กลายเป็นไซโลส และโอลิโกไซโลสเกิดขึ้น นอกจากนี้ถ้าสภาวะในการระเบิดด้วยไอน้ำรุนแรงก็สามารถเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน ทำให้โมเลกุลของไซโลสกลายเป็นเฟอร์ฟูรอลเกิดขึ้นได้ด้วย รวมทั้งเกิดการไฮโดรลิซิสโมเลกุล

ของเซลลูโลสเป็นกลูโคส และสลายพันธะโมเลกุลของลิกนินให้กลายเป็นลิกนินที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเกิดขึ้นได้ ดังนั้นในการระเบิดด้วยไอน้ำผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในสารละลายเอมิเซลลูโลสก็คือ ไซโลส โอลิโกไซโลส เฟอร์ฟูรอล 5-ไฮดรอกซีฟูรอล กลูโคส และสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดจากการสลายตัวของลิกนิน ดังนั้นสถานะที่เหมาะสมของการระเบิดด้วยไอน้ำจึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อประโยชน์ในการใช้งาน

3. การพรีทรีตเมนต์โดยกระบวนการทางเคมี

3.1 การพรีทรีตเมนต์โดยใช้กรด

กรดซัลฟูริกเจือจางจะผสมเข้ากับชีวมวล เพื่อไฮโดรไลซ์เอมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาลไซโลส และน้ำตาลชนิดอื่น ๆ และสลายน้ำตาลไซโลสให้กลายเป็นเฟอร์ฟูรอลต่อ เฟอร์ฟูรอลจะนำกลับคืนมาโดยการกลั่น กรดที่ผสมหรือสัมผัสกับชีวมวลจะคงอยู่ในอุณหภูมิ 160-220 องศาเซลเซียส ใช้ช่วงเวลาจากวินาทีเป็นนาาที โดยกรดซัลฟูริกถูกนำมาใช้ในการกำจัดเอมิเซลลูโลส และการไฮโดรลิซิสเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส

การไฮโดรลิซิสโดยกรด จะเกิดการปลดปล่อยสารโมเลกุลขนาดกลางหรือโอลิโกเมอร์และสารโมเลกุลเดี่ยวหรือโมโนเมอร์ นั่นคือกรดจะไฮโดรไลซ์เซลลูโลสเป็นกลูโคส ตามด้วยการไฮโดรลิซิสกลูโคสเป็น 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ และผลิตภัณฑ์ตัวอื่นออกมา (Mosier, 2005)

ข้อดีของการพรีทรีตเมนต์โดยใช้กรดคือ ให้ผลได้ของน้ำตาลเอมิเซลลูโลสมากรวมถึงการทำให้ความสามารถในการไฮโดรลิซิสเซลลูโลสสูง โดยการกำจัดเอมิเซลลูโลสและลิกนินได้มากกว่าเซลลูโลส ทำให้เหมาะสมต่อการไฮโดรลิซิสเอนไซม์ต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถละลายโลหะหนักที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบออกได้ ส่วนข้อเสียของวิธีนี้คือจำเป็นต้องมีขั้นตอนการสะเทินกรดให้เป็นกลาง ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการไฮโดรลิสน้ำตาลต่อ ทำให้ผลได้ของน้ำตาลลดลง และได้องค์ประกอบอื่นเกิดขึ้น ได้แก่ กรดแอซิดิก และเฟอร์ฟูรอล เป็นต้น ที่จะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและยีสต์ในขั้น ตอนการหมักได้ วิธีการนี้ยังต้องการอุปกรณ์ที่มีราคาแพง โดยถึงปฏิกิริยาที่ใช้ต้องมีความทนทานต่อการกัดกร่อน และแข็งแรงในอุณหภูมิและความดันสูงได้ (Pauley, 2007)

3.2 การพรีทรีตเมนต์โดยต่าง

การใช้สารละลายต่าง ในการพรีทรีตเมนต์วัตถุดิบชีวมวล มีประสิทธิภาพคือขึ้นอยู่กับปริมาณลิกนิน โดยมีกลไกของปฏิกิริยา saponification ของพันธะเชื่อมโยงของเอสเทอร์ภายในโมเลกุลของไซแกลนของเฮมิเซลลูโลส และองค์ประกอบอื่น เช่น ลิกนิน กับด่างแก่ มีรายงานว่ารูพรุนของวัสดุลิกโนเซลลูโลสเพิ่มขึ้น โดยการกำจัดพันธะเชื่อมโยง (Silverstein, 2004) การพรีทรีตเมนต์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางทำให้วัสดุเกิดการพองตัวส่งผลให้พื้นที่ผิวภายในเพิ่มขึ้น degree of polymerization และความเป็นผลึกลดลง เกิดการแยกตัวของโครงสร้างลิกนินและเฮมิเซลลูโลส การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางนี้สามารถลดเปอร์เซ็นต์ของลิกนินลงได้ในไม้ใบกว้างและส่งผลดีต่อพืชจำพวกพวงที่มีปริมาณลิกนินต่ำ

4. การพรีทรีตเมนต์โดยกระบวนการทางชีวภาพ

การพรีทรีตเมนต์ทางชีวภาพ จะใช้เชื้อรา เช่น brown-rot, white-rot และ soft-rot เป็นต้นซึ่งจะไฮโดรไลซ์ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสที่สามารถไฮโดรไลซ์ได้ โดยรากลุ่ม White-rot เป็นกลุ่มราในคลาส Basidiomycetes ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด ส่วนการไฮโดรไลซ์ลิกนิน ของรากลุ่ม White-rot ได้แก่ Phanerochaete chrysosporium, Pleurotus ostreatus, และ Trametes versicolor เกิดด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน ราประกอบด้วยเอนไซม์ลิกนิน เพอร์ออกซิเดส (LiP) แมงกานีสเพอร์ออกซิเดส (MnP) และ แล็กเคส (laccases) (Silverstein, 2004)

ข้อดีของการพรีทรีตเมนต์โดยใช้เชื้อราคือ ไม่ต้องใช้สารเคมีที่มีความรุนแรง และอุณหภูมิที่ใช้ไม่สูง ใช้พลังงานต่ำ เป็นสภาวะที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิมที่ใช้สารเคมีและอุณหภูมิสูง ส่วนข้อเสียคือ เนื่องจากสภาวะที่ใช้ไม่รุนแรง จึงทำให้ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ลิกนินนานขึ้น เพราะเกิดอัตราการไฮโดรไลซ์ชีวมวลต่ำ (Silverstein, 2004)

2.5 การย่อย (Hydrolysis)

เนื่องจากวัสดุลิกโนเซลลูโลสมีองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินดังนั้นเมื่อทำการย่อยเซลลูโลสจะได้น้ำตาลออกมา โดยถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว แต่ถ้าการย่อยเกิดไม่สมบูรณ์จะเกิดทั้งกลูโคส เซลโลไบโอส และ โอลิโกแซคคา

ไรด์ ส่วนเฮมิเซลลูโลสนั้นจะได้น้ำตาลหลายชนิดปะปนกัน ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของน้ำตาลในเฮมิเซลลูโลส รวมทั้งสารอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นจากการย่อย สำหรับการย่อยมี 2 วิธีได้แก่ วิธีการย่อยด้วยกรด และวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์

1. การไฮโดรลิซิสด้วยกรด (acid hydrolysis)

สามารถทำได้โดยใช้กรดเข้มข้น หรือกรดเจือจาง ซึ่งเป็นวิธีการย่อยเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส แต่ได้ผลผลิตค่อนข้างน้อย เนื่องจากการทำลายน้ำตาลที่เกิดขึ้นโดยน้ำตาลจะทำปฏิกิริยาต่อไป ทำให้ได้ผลพลอยได้อื่น ๆ ได้แก่ เฟอฟูรอล นอกจากนี้กรดยังทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ไม่ใช่เซลลูโลส ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ สำหรับกรดที่ใช้ในวิธีนี้ได้แก่ กรดซัลฟูริกเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป กรดซัลฟูริกเจือจาง 1 เปอร์เซ็นต์เป็นต้น และในการเกิดปฏิกิริยาต้องใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 140-160 องศาเซลเซียส ซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดรุนแรง และไม่เฉพาะเจาะจง โดยภาชนะที่ใช้ต้องทนต่อการกัดกร่อนจึงมีราคาแพง นอกจากนี้ น้ำทิ้งจากการย่อยจะก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากมีกรดเจือปน

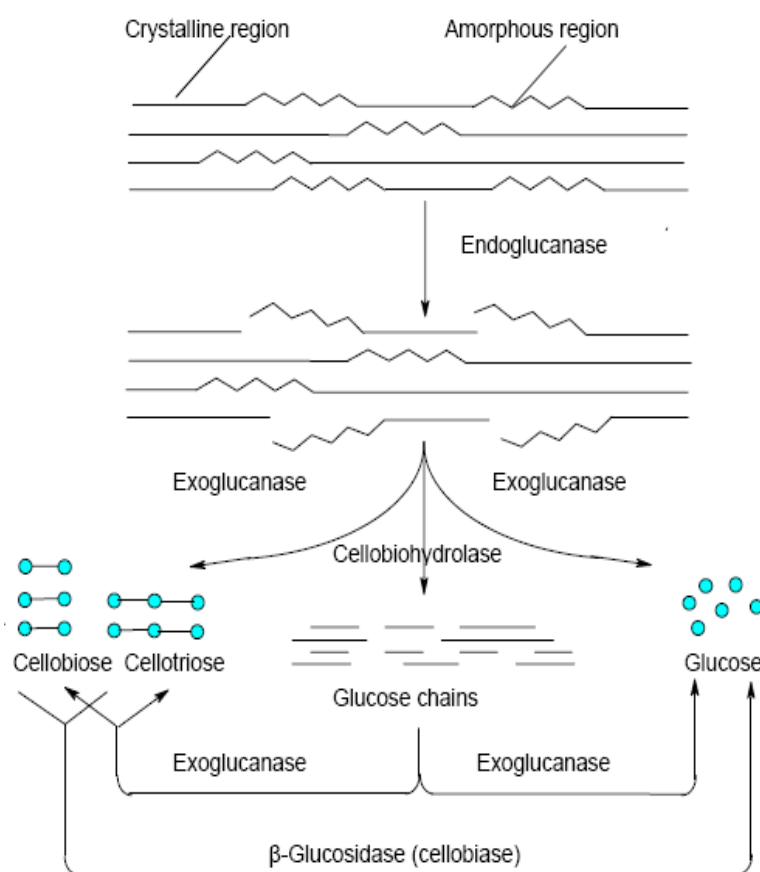
2. การไฮโดรลิซิสด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis)

ลิกโนเซลลูโลสมีองค์ประกอบสำคัญคือ เซลลูโลสซึ่งเซลลูโลสมีโครงสร้างที่เป็นกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-Glucosidic linkage ดังนั้นจึงใช้เอนไซม์กลุ่มเซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เชิงซ้อน 3 ส่วน (Lyn และคณะ, 2002) ดังนี้

1. Endoglucanase (EG; 1, 4- β -D-glucan-4-glucanohydrolase; EC 3.2.1.4) ทำหน้าที่ย่อย β -1, 4-glucosidic linkage โดยจะตัดแบบสุ่มภายในสายจะได้ cello-oligosaccharide, glucose, cellobiose
2. Exoglucanase หรือ cellobiohydrolase (CBH; 1, 4- β -D-glucan cellobiohydrolase; EC 3.2.1.91) ทำหน้าที่ร่วมกับ Endoglucanase ในการย่อยเซลลูโลสจากปลายด้าน non-reducing ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายส่วนใหญ่ คือ cellobiose
3. β -glucosidase (β -D-glucosidase; EC 3.2.1.21) ทำหน้าที่ย่อย cellobiose และ cello-oligosaccharide ได้เป็นกลูโคส

เอนไซม์เซลลูเลสเป็นเอนไซม์พวกโกลโคโปรตีนที่มีอัตราส่วนของคาร์โบไฮเดรตต่อโปรตีน เท่ากับ 1:1 ละลายน้ำได้ดี ไม่ต้องการโคแฟกเตอร์ หรือโลหะอื่นในการเร่ง โดยทั่วไปเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน 50 องศาเซลเซียส แต่อาจจะต่ำกว่าหรือสูงกว่า 50 องศาเซลเซียสขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่นำผลิต

เนื่องจากโครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยโครงสร้างผลึก หรือส่วนที่เป็นระเบียบ (crystalline region) และส่วนที่ไม่มีระเบียบ (amorphous region) เอนไซม์ endoglucanase จะเข้าไปย่อยสลายส่วนที่ไม่มีเป็นระเบียบ ทำให้เส้นใยเซลลูโลสขาดเป็นช่วง ๆ เอนไซม์ exoglucanase เข้าไปย่อยส่วนปลายของเส้นใยที่ขาดออกมา จากนั้นโมเลกุลของเซลลูโลสจะถูกย่อยสลายให้เป็นโมเลกุลที่สั้นลงโดยเอนไซม์ exoglucanase และโมเลกุลที่สั้นลงนั้นถูกย่อยด้วยเอนไซม์ β glucosidase ให้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกลูโคส (Zhu, 2005) ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลส

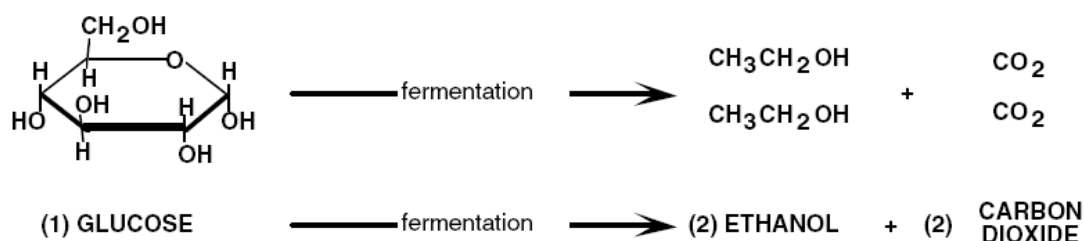
ที่มา: Zhu (2005)

2.5 กระบวนการหมักเอทานอลจากกลูโคส

ในกระบวนการผลิตเอทานอล กระบวนการหมักเป็นขั้นตอนที่สำคัญเนื่องจากเป็นขั้นตอนที่จุลินทรีย์เปลี่ยนวัตถุดิบให้กลายเป็นเอทานอล ดังสมการ



การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นเอทานอลนั้น โดยน้ำตาลแต่ละชนิดเมื่อนำมาหมักเพื่อผลิตเอทานอลนั้นจะได้ปริมาณเอทานอล และผลผลิตอื่น ๆ ที่แตกต่างกัน เช่น น้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล เมื่อนำมาผลิตเอทานอล จะได้เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล

ที่มา: Murphy และ McCarthy (2005)

2.6 การผลิตเอทานอลจากชีวมวลโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักแบบพร้อมกัน

(Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

กระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (SSF) เป็นการรวมการย่อยเซลลูโลส และการหมักไว้ในขั้นตอนเดียว สำหรับข้อได้เปรียบของการหมักแบบ SSF คือ สามารถเพิ่มอัตราการย่อยได้ เนื่องจากกลูโคสที่ได้จากการย่อยเป็นตัวกลางที่จุลินทรีย์ผลิตเอทานอลนำไปใช้ต่อไป เมื่อระดับของเซลลูโลส ไบโอสและกลูโคสต่ำมาก การยับยั้งของเซลลูเลสจะลดลง ซึ่งทำให้อัตราการผลิตน้ำตาลรวมทั้งผลได้เพิ่มขึ้น และเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการลดลง ใช้อุปกรณ์ หรือถึงปฏิบัติการในการผลิตเอทานอลน้อยลง เนื่องจากรวมถึงในขั้นตอนการย่อย และการหมักไว้ในถึงเดียวกัน ใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง (Sun และ Cheng, 2002)

กระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลนั้นต้องนำวัตถุดิบผ่านการพรีทรีตเมนต์ เพื่อกำจัด ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสให้ได้มากที่สุดแล้ว ใช้เอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสให้ได้กลูโคสมากที่สุดเช่นกัน แล้วนำกลูโคสที่ได้มาใช้ในการผลิตเอทานอลโดยจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ ในการผลิตเอทานอลจากชีวมวลนั้นต้องใช้ถึง 3 ขั้นตอนด้วยกันคือ การพรีทรีตเมนต์ชีวมวล การย่อยด้วยเอนไซม์ และการหมักด้วยจุลินทรีย์ซึ่งได้เอทานอลออกมา ในปัจจุบันมีการใช้กระบวนการหมักและการย่อยพร้อมกันในการผลิตเอทานอลโดยใช้ชีวมวลกันอย่างแพร่หลาย เป็นการรวมการย่อยเซลลูโลส และการหมักไว้ในขั้นตอนเดียว เนื่องจากกลูโคสที่ได้จากการย่อยเป็นตัวกลางที่ จุลินทรีย์ผลิตเอทานอลนำไปใช้ได้ต่อไป ซึ่งจะช่วยในการแก้ปัญหาเรื่องเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย อาทิ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการลดลง มีผลทำให้ลดต้นทุนในการผลิตลง และเมื่อระดับของ เซลโลไบโอสและกลูโคสต่ำมากการยับยั้งของเซลลูเลสจะลดลงซึ่งทำให้อัตราการผลิตน้ำตาลและ ผลได้เพิ่มขึ้น (Philippidis, 1996) มีการศึกษาการใช้ปริมาณเชื้อและเอนไซม์ต่ำในการหมักเอทานอลโดยกระบวนการหมักและย่อยพร้อมกัน เพื่อลดค่าใช้จ่ายในการผลิต โดยใช้วัตถุดิบจากฟาง ข้าวบาร์เลย์ที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำ และใช้เอนไซม์ Celluclast 1.5 L และ Novozym 188 และยีสต์ขนมปังในการย่อยและหมักพร้อมกัน

แม้ว่าการย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักพร้อมกัน (SSF) จะมีข้อดีทางเศรษฐศาสตร์มากกว่า การย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักแยกกัน (separate hydrolysis and fermentation, SHF) แต่วิธีการย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักพร้อมกัน (SSF) ยังมีปัญหาในเรื่องอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยและเชื้อที่ใช้ในการหมักแตกต่างกัน (Kádár และคณะ, 2004) เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการหมักและย่อยพร้อมกัน (SSF) อยู่ระหว่างอุณหภูมิที่ดีที่สุดสำหรับการย่อย (45-50 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิที่ดีที่สุดที่ต่ำที่สุดสำหรับการทำงานของยีสต์ (30 องศาเซลเซียส) (Philippidis, 1996)

นอกจากนี้กระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้กระบวนการหมักและย่อยพร้อมกันนั้นยังช่วยแก้ปัญหาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสของน้ำตาลกลูโคส และเซลโลไบโอสได้ เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลสจะย่อยเซลลูโลส ได้น้ำตาลกลูโคสและเซลโลไบโอสที่เกิดขึ้นจะถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญเติบโต พร้อมทั้งผลิตเอทานอลในเวลาเดียวกัน ทำให้ไม่เกิดการสะสมในระบบ (Molds และคณะ, 2000)

2.7 การออกแบบการทดลองด้วยวิธีการทากูจิ

การออกแบบการทดลองด้วยวิธีการทากูจิถูกพัฒนาโดย Dr. Genichi Taguchi เมื่อปี ค.ศ. 1980 ซึ่งเป็นเทคนิค หรือกลไกทางวิทยาศาสตร์สำหรับการกำหนดค่า และการปรับปรุงเครื่องมือ กระบวนการ และวัตถุดิบที่เกี่ยวข้องกับการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ให้ง่าย หรือสะดวกขึ้น การปรับปรุงนี้มีจุดประสงค์เพื่อปรับปรุงลักษณะ และลดจำนวนของความผิดพลาดลงพร้อม ๆ กัน โดยศึกษาถึงการควบคุมตัวแปรหลักในกระบวนการ และการหาสภาวะที่เหมาะสมของการทดลองหรือ ออกแบบการทดลองเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุด (Madhav, 1989) วิธีการทากูจิออกแบบการทดลอง โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ fractional factorial ร่วมกับ orthogonal array (OA)(Box และ คณะ, 1988) ซึ่งเป็นตารางที่ประกอบไปด้วยการทดลอง และระดับของปัจจัยในแต่ละการทดลอง มีหลายประเภทขึ้นกับจำนวนปัจจัยและระดับของปัจจัยนั้น โดย OA จะมีจำนวนน้อยที่สุดเท่ากับ L4 (Lochner and Matar, 1990) แสดงตัวอย่าง OA (L4) ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 L-4 (23) Orthogonal array

ชุดการทดลอง	ปัจจัย		
	A	B	C
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1

ที่มา: Roy (2001)

ซึ่งเทคนิคนี้ประกอบด้วย 8 ขั้นตอน และในขั้นตอนทั้งหมดสามารถจัดกลุ่มใหญ่ ๆ ออกได้ 3 กลุ่ม (Madhav, 1989) คือ

1. การออกแบบการทดลอง (Designing of experiment : DOE)

1.1 บ่งชี้หน้าที่หลัก ผลข้างเคียง และแบบ หรือชนิดของความผิดพลาด

1.2 บ่งชี้ปัจจัยรบกวน และสภาวะที่ใช้ในการทดสอบสำหรับการคำนวณการเสื่อมคุณภาพ

1.3 บ่งชี้ลักษณะของคุณภาพที่สังเกตได้ และหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการทดลอง

1.4 บ่งชี้ปัจจัยควบคุม และระดับต่าง ๆ ของปัจจัย

1.5 ออกแบบการทดลองแบบเมทริกซ์ และการวิเคราะห์ข้อมูลการทดลอง

2. การทำการทดลอง (Conducting experiment)

ทำการทดลองโดยใช้การทดลองแบบเมทริกซ์

3. การวิเคราะห์ และการยืนยันผลการทดลอง (Analyzing and confirming predicted result)

3.1 การวิเคราะห์ข้อมูล ทำนายระดับที่เหมาะสมของปัจจัยควบคุม และทำนายการทดลองภายใต้ระดับเหล่านี้

3.2 ยืนยันผลการทำนาย และออกแบบการทดลองต่อไป

การวัดค่าในวิธีการทางสถิติจะแสดงในรูปของอัตราส่วน Signal/Noise (อัตราส่วน S/N) ซึ่งถูกใช้เพื่อวัดอิทธิพลของ noise factor (ตัวแปรที่ไม่สามารถควบคุมได้ในกระบวนการ) ที่มีต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ หรือกระบวนการ โดยอาศัยการวัดลักษณะของคุณภาพ (quality characteristic, QC) ซึ่งสามารถแสดงถึงความต้องการการเปลี่ยนแปลงของผลการทดลองที่ต้องการต่างกันออกไปประกอบด้วย 3 รูปแบบ ดังนี้ 1. $QC = B$ (Bigger is better) 2. $QC = S$ (Smaller is better) และ 3. $QC = N$ (Nominal is best) นอกจากนี้ วิธีการทางสถิติยังนำเอาการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance, ANOVA) มาใช้เพื่อพิจารณาอิทธิพลของแฟกเตอร์ที่มีผลต่อการทดลองที่ได้

4. ข้อดีของการออกแบบการทดลองโดยอาศัยวิธีการทางสถิติ

4.1 เป็นวิธีที่สามารถนำไปใช้ได้ง่าย และใช้ได้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมการสื่อสาร และโทรคมนาคม เป็นต้น

4.2 ช่วยลดจำนวนของการทดลอง ทำให้ประหยัดเวลา และต้นทุนในการทดลอง

4.3 ช่วยให้การทำการทดลองง่าย และสะดวกขึ้น

4.4 ให้ผลลัพธ์ที่น่าเชื่อถือได้ และตรงตามวัตถุประสงค์ของการทดลอง

บทที่ 3

วัตถุดิบ และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อชีวมวล 4 ชนิด คือ ไม้ยูคาลิปตัส ไม้กระถินเทพา ลำต้นปาล์ม และทางใบปาล์ม

- ไม้ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus spp.*) และกระถินเทพา (*Acacia mangium Willd.*) ที่ได้จาก ศูนย์งานพัฒนาวิจัยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อำเภอน้ำเหว จังหวัดนครราชสีมา ชนิดละ 1 ต้น ทำการปลอกเปลือกและตัดให้เป็นชิ้นพอดีที่จะเข้าเครื่องทำ chip

- ลำต้นปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นลำต้นปาล์มน้ำมันสดอายุ 28 ปี จำนวน 2 ต้น และทางใบปาล์มน้ำมันจำนวน 150 ทาง จากเกษตรกรในจังหวัดกระบี่ ทำการปลอกเปลือกและตัดให้เป็นชิ้นพอดีที่จะเข้าเครื่องทำ chip

3.2 การเตรียมชีวมวล

จากนั้นบดให้เป็นชิ้นไม้ (chip) แบ่งมาหาความชื้นเริ่มต้น นำเปอร์เซ็นต์ความชื้นเริ่มต้นที่หาได้ มาคำนวณน้ำหนักชีวมวลเปียกที่จะใช้เข้าเครื่องระเบิดด้วยไอน้ำ เพื่อให้ได้เป็นน้ำหนักชีวมวลแห้ง เท่ากับ 200 กรัม จากนั้น นำชิ้นไม้ที่เหลือไปตากแดดเป็นเวลา 3 วันให้แห้ง และนำมาเข้าเครื่องบด และร่อนให้ได้ขนาดระหว่าง 40 ถึง 60 mesh ด้วยตะแกรง วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามมาตรฐานของ Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI) ได้แก่ สารแทรก (TAPPI T 264 om-97, 1997) เซลลูโลส (TAPPI T 203 om-93, 1988) เพนโตแซน (TAPPI T 223 om-84, 1984) ลิกนินที่ไม่ละลายในกรด (Acid insoluble lignin, AIL) (TAPPI T 222 om-98, 1998) เถ้า (TAPPI T 211 om-85, 1985) ไฮโดรเซลลูโลสวิเคราะห์ตามวิธีของBrowning (1983)

3.3 การหาสถานะที่เหมาะสมในการทำพรีทรีตเมนต์ โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ ของไม้ยูคาลิปตัส กระดาษทิชชู ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม

การระเบิดด้วยไอน้ำแต่ละครั้งจะใช้ชีวมวลอบแห้งครั้งละ 200 กรัมน้ำหนัก โดยแปรผันสถานะการระเบิดด้วยไอน้ำดังตารางที่ 6 และเมื่อระเบิดเสร็จแต่ละสถานะใส่ในถุงพลาสติกปิดปากถุงด้วยยางรัดให้แน่น แช่ที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ ก่อนเก็บจะแบ่งมา 20 กรัม นำมาตากแห้ง บดและร่อนเพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน เป็นต้น และอีก 1 กรัม มาหาปริมาณเถ้า ตามมาตรฐานการวิเคราะห์ TAPPI การระเบิดแต่ละสถานะ จะทำการทดลองสถานะละ 3 ซ้ำ และแบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งประมาณ 1 กรัม ไว้เพื่อหาความชื้นของเชื้อหลังระเบิดด้วยไอน้ำ ก่อนที่จะนำไปสกัดด้วยน้ำเพื่อหาสถานะที่ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลส สูงสุด

ตารางที่ 6 สถานะที่ใช้ในการระเบิดด้วยไอน้ำของชีวมวล โดยค่า severity factor จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาของการระเบิดด้วยไอน้ำ

ชีวมวล	สถานะ		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ค่า Severity factor ($\log(R_0)$)
ไม้ยูคาลิปตัส	200	2	3.24
ไม้กระถินเทพา		4	3.55
ลำต้นปาล์มน้ำมัน		6	3.72
ทางใบปาล์ม	210	2	3.54
		4	3.84
		6	4.02

3.4 การสกัดน้ำร้อน ของไม้ยูคาลิปตัส กระดาษทิชชู ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม

นำเชื้อทั้งหมดที่ได้ภายหลังการระเบิด นำไปล้างในน้ำร้อน ซึ่งใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น โดยมีสัดส่วนเชื้อต่อน้ำ เท่ากับ 1:8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (กรัมต่อมิลลิเมตร) ให้ความร้อน ใน water bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที คนเป็นครั้งคราว เมื่อครบกำหนดเวลา ทิ้งให้เย็น แล้วกรองแยกเอาเชื้อออก ด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นล้างเชื้อด้วยน้ำประปา จนน้ำล้างใส ไม่มี

สี โดยเก็บน้ำล้างเยื่อครั้งแรกใส่ขวดเก็บตัวอย่างพร้อมปิดฝาให้สนิท เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณเพอร์ฟอรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟอรอล นำเยื่อมาตั้งทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ บันทึกน้ำหนักเยื่อที่ได้ แบ่งเยื่อออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปวิเคราะห์หาค่าประกอบทางเคมีหลังการสกัดด้วยน้ำร้อน ตามมาตรฐานการวิเคราะห์ TAPPI ส่วนที่เหลือเก็บในถุงพลาสติกปิดปากถุงด้วยยางรัดให้แน่นนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส รอนำไปสกัดด้วยด่าง (alkaline extraction) ขึ้นต่อไป

3.5 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่าง (Alkaline extraction) ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อน

- การออกแบบการทดลองโดยวิธีทฤษฎี

ออกแบบการทดลองโดยใช้วิธีทฤษฎีแบบ Three Level Orthogonal Array (L-9) ออกแบบเพื่อศึกษาหาระดับที่เหมาะสมของตัวแปร 3 ปัจจัย ซึ่งแต่ละปัจจัยแบ่งออกเป็น 3 ระดับ โดยแบ่งออกเป็นความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้สกัด ดังนั้นจึงได้การทดลองทั้งหมด 9 ชุดการทดลอง ประกอบด้วยจำนวนการทดลองที่ขึ้นอยู่กับระดับของแต่ละปัจจัยที่กำหนดดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปัจจัยและระดับของแต่ละปัจจัยในการหาสภาวะการสกัดด้วยด่าง ของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อน

ปัจจัย	ระดับ		
	1	2	3
1: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	15	20	25
2: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	70	80	90
3: เวลาการสกัด (นาที)	30	60	90

ตารางที่ 8 $L_9 (3^3)$ Orthogonal Array

ชุดการทดลอง	ปัจจัย		
	1	2	3
1	1	1	1
2	1	2	2
3	1	3	3
4	2	1	2
5	2	2	3
6	2	3	1
7	3	1	3
8	3	2	1
9	3	3	2

ตารางที่ 9 ปัจจัยและระดับต่าง ๆ ในการทดลองการหาสถานะการสกัดด้วยค่าของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อน

ชุดการทดลอง	ปัจจัยการทดลอง		
	ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
1	15	70	30
2	15	80	60
3	15	90	90
4	20	70	60
5	20	80	90
6	20	90	30
7	25	70	90
8	25	80	30
9	25	90	60

ขั้นตอนการสกัดด้วยด่าง

นำชิ้นไม้มาทำการระเบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะที่เหมาะสมและสกัดด้วยน้ำร้อนใหม่ให้เพียงพอต่อการ ศึกษาสภาวะการสกัดด้วยด่าง นำมาคลุกรวมกัน หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นเพื่อชั่งเชื้อ หลังระเบิดและสกัดด้วยน้ำร้อนมา 50 กรัม น้ำหนักแห้ง ทำการแปรผันเปอร์เซ็นต์โซเดียมไฮดรอกไซด์ (น้ำหนักด่างต่อปริมาตรสารละลายต่าง) อุณหภูมิและเวลาการสกัด ดังตารางที่ 9 ทำการทดลองสภาวะละ 3 ชั่วโมง สัดส่วนเชื้อต่อน้ำด่างเท่ากับ 1:8 (กรัมเชื้อต่อมิลลิลิตรน้ำด่าง)

ในการสกัดด่าง ใส่ในบีกเกอร์ คนโดยใช้แท่งแก้วเป็นครั้งคราว ปล่อยให้ไอน้ำให้เย็น กรองด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนที่เป็นเส้นใยไว้ ล้างด้วยน้ำประปาจนน้ำที่ผ่านออกมาใสไม่มีสี และจนกว่าน้ำที่ผ่านออกมาจะมีค่า pH เป็นกลาง วัดโดยใช้กระดาษยูนิเวอร์แซลจุ่ม เทียบสี จากนั้นตั้งทิ้งไว้จน สะเด็ดน้ำ รวบรวมใส่ในถุงพลาสติกปิดปากถุงด้วยยางรัดให้แน่นแช่ที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ โดยจะทำการตากแห้ง บดและร่อนเพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ตามมาตรฐานการวิเคราะห์ TAPPI จากนั้นวิเคราะห์ผลการทดลองตามวิธีทฤษฎี เพื่อสรุปผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการสกัดด้วยด่างในชีวิตจริง แต่ละชนิด เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วจึงทำการทดลองซ้ำภายใต้สภาวะดังกล่าว เพื่อยืนยันผลการทดลอง และประมาณค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ เพื่อศึกษาอิทธิพลของแต่ละปัจจัย ที่มีผลต่อค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีดังกล่าว

3.6 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการย่อยและหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

-การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* SC90

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* SC90 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ YPD ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร ประมาณ 30 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที แล้วถ่ายเชื้อลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อใหม่

ปริมาตร 270 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำหมักไปใช้เป็นก้ำเชื้อต่อไป

-การย่อย และการหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

ทำการผลิตเอทานอลและน้ำตาล ในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้เชื้อที่ผ่านพรีทรีตเมนต์ (pretreatment) และกำจัดลิกนินในสถานะที่เหมาะสมที่สุด เป็นแหล่งคาร์บอน โดยผันแปรความเข้มข้นของเชื้อที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และเติมเปปโตน 20 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร แทนการใช้อาหาร YPD และทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ทางการค้า ประกอบด้วย Celluclast 1.5L ความเข้มข้น 15 FPU ต่อกรัมเชื้อ และ Novozym 188 ความเข้มข้น 15 IU ต่อกรัมเชื้อ ใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรยีสต์ต่อปริมาตรน้ำหมัก) ภายใต้สภาวะการหมักที่ความเร็ว 150 รอบต่อวินาที บนเครื่องเขย่า ศึกษาการหมักที่อุณหภูมิ 30 , 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างน้ำหมักครั้งละ 4 มิลลิลิตร เป็นเวลา 96 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ กลูโคส และเอทานอล

3.7 วิเคราะห์ผลการทดลอง

3.7.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของชีวมวล ซึ่งประกอบด้วย

- การลุ่มและการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ ตามมาตรฐาน TAPPI T257 cm-85 และมาตรฐาน TAPPI T264 om-88
- ปริมาณสารแทรก ตามมาตรฐาน TAPPI T264 om-88 และมาตรฐาน TAPPI T264 cm-97
- ปริมาณลิกนิน วิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐาน TAPPI T222 om-98
- ปริมาณไฮโดรเซลลูโลส วิเคราะห์โดยวิธีของ Browning in method of wood chemistry (1967)
- ปริมาณแอลฟาเซลลูโลส วิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐาน TAPPI T203 om-88
- ปริมาณเพนโตแซน วิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐาน TAPPI T223 cm-84

- ปริมาณเถ้า วิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐาน TAPPI T211 om-93
- ปริมาณเฟอร์ฟูรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรอล วิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

3.7.2 การวิเคราะห์กระบวนการหมักแบบแบบ Simultaneous saccharification and fermentation (SSF)

- การหาปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (สาโรจน์ และคณะ, 2544)
- การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและเอทานอลด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

3.7.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

- โปรแกรม SAS
- Taguchi method

บทที่ 4

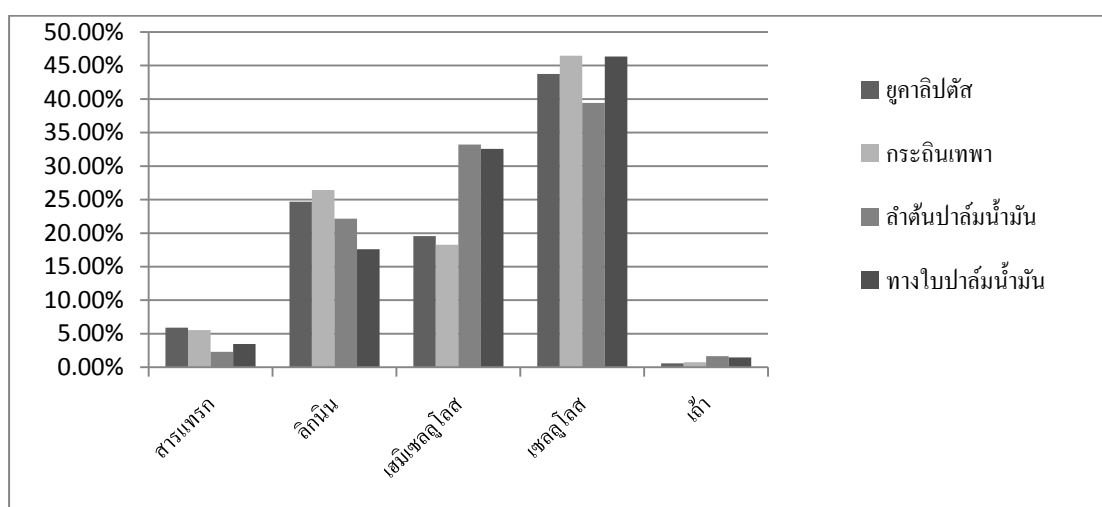
ผลและการอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การหาค่าประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส ไม้กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์มก่อน ฟรिटริตเมนต์

ผลการทดลองหาค่าประกอบทางเคมีของชีวมวลทั้ง 4 ชนิดก่อนฟรिटริตเมนต์โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ ได้ผลดังตารางที่ 10 และภาพที่ 9

ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส ไม้กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์มก่อนฟรिटริตเมนต์

องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)	ยูคาลิปตัส	กระถินเทพา	ลำต้นปาล์ม น้ำมัน	ทางใบปาล์ม น้ำมัน
สารแทรก	5.91%	5.54%	2.31%	3.46%
ลิกนิน	24.69%	26.44%	22.15%	17.60%
เฮมิเซลลูโลส	19.55%	18.28%	33.22%	32.57%
เซลลูโลส	43.75%	46.47%	39.41%	46.35%
เถ้า	0.57%	0.76%	1.66%	1.46%



ภาพที่ 9 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ตัวอย่าง 4 ชนิดก่อนฟรिटริตเมนต์

4.2 การหาสถานะที่เหมาะสมในการพรีทรีตเมนต์ โดยการระเบิดไอน้ำ (steam explosion) ของไม้ยูคาลิปตัส กระถินเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม

โดยสถานะการระเบิดด้วยไอน้ำ จะแสดงอยู่ในรูปค่า severity factor ($\log Ro$) ซึ่งเป็นตัวแปรที่รวมตัวแปรอุณหภูมิและเวลาเป็นตัวแปรเดียวกัน ดังตารางที่ 11

$$\text{จากสูตร} \quad \log Ro = \log \{t \exp [(T-100)/14.75] \}$$

เมื่อ t คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิด (นาที)

T คือ อุณหภูมิของไอน้ำ (องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 11 ค่า severity factor ที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาของการระเบิดด้วยไอน้ำ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	$\log Ro$
200	2	3.24
	4	3.55
	6	3.72
210	2	3.54
	4	3.84
	6	4.02

4.2.1 การหาสถานะที่เหมาะสมในการพรีทรีตเมนต์โดยการระเบิดไอน้ำไม้ยูคาลิปตัส

นำตัวอย่างไม้ที่ได้ซังแบ่งไว้ ถุงละ 200 กรัม น้ำหนักแห้ง ทำการระเบิดด้วยไอน้ำแต่ละสถานะ สถานะละ 3 ซ้ำ แล้วรวบรวมตัวอย่างที่ผ่านการระเบิดโดยไม่ผ่านการล้างเช็ดด้วยน้ำลงถุงมัดปาก เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้นแบ่งนำเชื้อบางส่วนไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี หลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำ โดยได้ผลองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ยูคาลิปตัสหลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)				
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	42.17	26.47	20.19	0.46	10.71
3.54	44.36	28.25	14.33	0.45	12.61
3.55	42.31	27.59	20.91	0.4	8.79
3.72	44.87	27.94	17.28	0.57	9.34
3.84	44.86	29.91	15.27	0.43	9.53
4.02	41.53	30.91	11.69	0.56	15.31

จากวัตถุประสงค์ในการพรีทรีตเมนต์โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ เพื่อทำลายโครงสร้างและกำจัด เฮมิเซลลูโลสออก จะพบว่าผลจากตารางที่ 12 เมื่อสภาวะที่รุนแรงขึ้นทำให้สัดส่วนค่าของเฮมิเซลลูโลสมีแนวโน้มลดลงอย่างเห็นได้ชัด และสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีตัวอื่นค่าแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

เมื่อนำเชื้อไม้ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำแบ่งออกมา 100 กรัม น้ำหนักแห้ง มาทำการล้างด้วยน้ำร้อนดังสภาวะที่ได้กำหนด แล้วนำตัวอย่างมากรอง เอาแต่เชื้อไว้ และแบ่งนำเชื้อบางส่วนไปวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีหลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว จะได้ผลองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ยูคาลิปตัสหลังระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)				
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	45.20 ^c	27.93 ^c	17.31 ^a	0.20 ^a	9.36
3.54	53.08 ^a	32.27 ^{ab}	8.69 ^b	0.22 ^a	5.74
3.55	48.83 ^b	31.09 ^b	9.59 ^b	0.19 ^a	10.3
3.72	49.07 ^b	32.79 ^a	7.80 ^b	0.21 ^a	10.13
3.84	53.94 ^a	33.16 ^a	3.64 ^c	0.16 ^a	9.1
4.02	53.34 ^a	33.35 ^a	2.62 ^c	0.18 ^a	10.51

หมายเหตุ –^{a,b,c} เป็นกลุ่มของตัวอย่างทดลองที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 95 เปอร์เซ็นต์ระดับความเชื่อมั่น

จากตารางที่ 13 จะพบว่า เชื้อหลังการระเบิดด้วยไอน้ำ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว สภาวะที่รุนแรงขึ้น มีแนวโน้มสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในเชื้อลดลงได้มากกว่า เมื่อเทียบกับก่อนล้างด้วยน้ำร้อน ทำให้สัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีอื่นมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของการระเบิดด้วยไอน้ำ จึงทำการเลือกสภาวะหลังจากที่ผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว เนื่องจากเชื้อที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำ อาจยังมีน้ำตาล สารพิษหรือกรดเกิดขึ้นระหว่างการระเบิด สังเกตได้ว่า ค่าเฮมิเซลลูโลสลดลงไปมากขึ้น เมื่อผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว โดยค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส สูงสุดที่เหลืออยู่คือ 17.31 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุดคือ 2.62 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสภาวะที่รุนแรงขึ้น

การทดลองนี้เป็นการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยเป็นกรณีที่มีปัจจัยที่ต้องการเปรียบเทียบเพียงปัจจัยเดียวในการทดลอง คือ logRo ซึ่งในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของการระเบิดด้วยไอน้ำ ข้อมูลที่ได้จากผลการทดลอง จะถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยแบบจำลองเชิงเส้นตรง (General linear model หรือ GLM) ในรูปแบบแผนการทดลองแบบ CRD และมีการทดสอบความแตกต่างแบบ least significant difference หรือ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS รุ่น 8.01 (SAS, 2000)

หลังจากใช้โปรแกรม SAS คำนวณทางสถิติเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมแล้ว จากตารางที่ 8 พบว่าในเชิงสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เลือกที่สถานะ logRo 3.84 ให้สัดส่วนเซลล์โลสคงเหลือมากที่สุด คือ 53.94 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในกลุ่ม a และคงเหลือสัดส่วนเซลล์โลสน้อย ซึ่งอยู่ในกลุ่ม c คือเหลือ 3.64 เปอร์เซ็นต์ โดยมองในแง่สัดส่วนเซลล์โลสคงเหลือ กลุ่ม c มี 2 สถานะ จะเป็นกลุ่มที่คงเหลือสัดส่วนเซลล์โลสที่ต่ำที่สุด ซึ่งจากผลทางสถิติ รวมทั้งปัจจัยทางด้านพลังงาน ความคุ้มทุน โดยที่สถานะ logRo 4.02 สิ้นเปลืองพลังงานในการระบิดมากกว่า เนื่องจากใช้เวลาในการระบิดนานกว่า เมื่อเทียบกับสัดส่วนเซลล์โลสที่ลดลงไม่แตกต่างกันกับสถานะ logRo 3.84 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกที่สถานะ logRo 3.84 คือที่อุณหภูมิ 210 °C เวลา 4 นาที เป็นสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการกำจัดเซลล์โลส ในไม้มูลาปิศาจตัวอย่าง

ตารางที่ 14 สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลงของเซลล์โลสในแต่ละขั้นตอนของการฟัรริตเมนต์ ที่สถานะการระบิดด้วยไอน้ำ 210 °C เวลา 4 นาที และการล้างด้วยน้ำร้อน 80 °C เวลา 30 นาที ของไม้มูลาปิศาจ

ขั้นตอน	ประสิทธิภาพ	องค์ประกอบทางเคมี				
		(เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
		เซลล์โลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
วัตถุดิบเริ่มต้น	0	43.75	24.69	19.55	0.57	11.44
การระบิดด้วยไอน้ำ	21.89	44.86	29.91	15.27	0.43	9.53
การล้างด้วยน้ำร้อน	81.38	53.94	33.16	3.64	0.16	9.1

จากผลการทดลองที่ได้จากตารางที่ 14 องค์ประกอบทางเคมีของไม้มูลาปิศาจ เมื่อผ่านทุกขั้นตอนการฟัรริตเมนต์ โดยสัดส่วนของเซลล์โลสที่คงเหลืออยู่ลดลงอย่างชัดเจนจาก 19.55 เหลือ 3.64 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ทำให้ส่วนของเซลล์โลสและลิกนินมีสัดส่วนที่เพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากปริมาณเซลล์โลสและลิกนินส่วนใหญ่แทบจะไม่หายไปในช่วงขั้นตอนการระบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน และในแต่ละขั้นตอนจะเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเซลล์โลสออกจากเชื้อได้เพิ่มขึ้น คือ หลังจากผ่านกระบวนการระบิดด้วยไอน้ำจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ 21.89 เปอร์เซ็นต์ แต่พอนำมาล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว จะพบว่าประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเป็น 81.38 เปอร์เซ็นต์

เนื่องจากน้ำร้อนจะชะล้างและสกัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่ถูกย่อยแล้วในขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำ บางส่วนที่เคลือบอยู่ที่ผิวเยื่อออกไป

4.2.2 การหาสถานะที่เหมาะสมในการฟิรทรีดเมนต์ โดยการระเบิดไอน้ำไม้กระถินเทพา

เมื่อนำตัวอย่างไม้ที่ได้ซังแบ่งไว้ ถูกละ 200 กรัม น้ำหนักแห้ง ทำการระเบิดด้วยไอน้ำแต่ละสถานะ สถานะละ 3 ชั่วโมง แล้วรวบรวมตัวอย่างที่ผ่านการระเบิดโดยไม่ผ่านการล้างเชื่อมด้วยน้ำลงถุงมัดปาก เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้นแบ่งนำเยื่อบางส่วนไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี หลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำ โดยได้ผลองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้กระถินเทพาหลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)				
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	45.14	28.44	19.32	0.76	6.34
3.54	44.44	29.33	17.92	0.68	7.63
3.55	45.15	29.72	16.37	0.64	8.12
3.72	45.35	31.03	15.49	0.71	7.42
3.84	43.71	31.49	16.09	0.79	7.92
4.02	43.2	32.34	13.07	0.72	10.67

จากวัตถุประสงค์ในการฟิรทรีดเมนต์โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ เพื่อทำลายโครงสร้างและกำจัด เฮมิเซลลูโลสออก จะพบว่า ผลจากตารางที่ 15 เมื่อสถานะที่รุนแรงขึ้น จะทำให้สัดส่วนค่าของเฮมิเซลลูโลสมีแนวโน้มลดลงอย่างเห็นได้ชัด และสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีตัวอื่นค่าแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

เมื่อนำเยื่อไม้ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำแบ่งออกมา 100 กรัม น้ำหนักแห้ง มาทำการล้างด้วยน้ำร้อนดังสถานะที่ได้กำหนด แล้วนำตัวอย่างมากรอง เอาแต่เยื่อไว้ และแบ่งนำเยื่อบางส่วนไป

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว จะได้ผล
องค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้กระถินเทพาหลังระเบิด
ด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)				
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	49.27 ^c	31.02 ^c	14.26 ^a	0.53 ^a	4.92
3.54	51.05 ^a	33.80 ^{ab}	8.00 ^{bc}	0.40 ^a	6.75
3.55	51.21 ^a	32.71 ^{bc}	11.84 ^a	0.44 ^a	3.8
3.72	50.37 ^{ab}	34.00 ^{ab}	9.19 ^b	0.43 ^a	6.01
3.84	50.75 ^a	34.02 ^{ab}	8.36 ^{bc}	0.57 ^a	6.3
4.02	49.49 ^{bc}	35.34 ^a	6.01 ^c	0.57 ^a	8.59

หมายเหตุ – ^{a,b,c} เป็นกลุ่มของตัวอย่างทดลองที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 95 เปอร์เซ็นต์
ระดับความเชื่อมั่น

จากตารางที่ 16 จะพบว่า เมื่อหลังการระเบิดด้วยไอน้ำที่ผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว โดย
สถานะที่รุนแรงขึ้น มีแนวโน้มสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในเชื้อลดลงได้มากกว่า เมื่อเทียบกับ
กับก่อนล้างด้วยน้ำร้อน ทำให้สัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีอื่นมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นในการ
เลือกสถานะที่เหมาะสมของการระเบิดด้วยไอน้ำ จึงทำการเลือกสถานะหลังจากที่ผ่านการล้างด้วย
น้ำร้อนแล้ว เนื่องจากเชื้อที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำ อาจยังมีน้ำตาล สารพิษหรือกรดเกิดขึ้นระหว่าง
การระเบิด ดังเหตุได้ว่า ค่าเฮมิเซลลูโลสลดลงไปมากขึ้น เมื่อผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว โดยค่า
สัดส่วนเฮมิเซลลูโลสสูงสุดที่เหลืออยู่คือ 14.26 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุดคือ 6.01 เปอร์เซ็นต์ เมื่อ
สถานะที่รุนแรงขึ้น

การทดลองนี้เป็น การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized
Design, CRD) โดยเป็นกรณีที่มีปัจจัยที่ต้องการเปรียบเทียบเพียงปัจจัยเดียวในการทดลอง คือ
logRo ซึ่งในการเลือกสถานะที่เหมาะสมของการระเบิดด้วยไอน้ำ ข้อมูลที่ได้จากผลการทดลอง จะ
ถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยแบบจำลองเชิงเส้นตรง (General linear model หรือ GLM)

ในรูปแบบแผนการทดลองแบบ CRD และมีการทดสอบความแตกต่างแบบ least significant difference หรือ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS รุ่น 8.01 (SAS, 2000)

หลังจากใช้โปรแกรม SAS คำนวณทางสถิติเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมแล้ว จากตารางที่ 11 พบว่าในเชิงสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เลือกที่สภาวะ logRo 3.54 ให้สัดส่วนเซลลูโลส คงเหลือมากที่สุด คือ 51.05 เปอร์เซนต์ ซึ่งอยู่ในกลุ่ม a และคงเหลือสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสน้อย อยู่ใน กลุ่ม c คือเหลือ 8.00 เปอร์เซนต์ ที่เลือกสภาวะนี้ เนื่องจากภายในกลุ่ม c ที่สภาวะ logRo 4.02 ให้ค่า สัดส่วนเฮมิเซลลูโลสคงเหลือน้อยที่สุดก็จริง แต่เมื่อเทียบกับสภาวะ logRo 3.54 และ 3.84 ซึ่ง ในทางสถิติ ถือว่าค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสไม่แตกต่างกันในกลุ่ม ($p < 0.05$) ดังนั้นจึงคัดสภาวะ logRo 4.02ทิ้งเนื่องจากปัจจัยทางด้านพลังงานและความคุ้มค่า เหลือสภาวะ logRo 3.54 และ 3.84 ในการ เลือกสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งเลือกที่สภาวะ logRo 3.54 คือที่อุณหภูมิ 210 °C เวลา 2 นาที เป็นสภาวะ ที่เหมาะสมที่สุดในการกำจัดเฮมิเซลลูโลส ในไม้ตัวอย่างกระถินเทพา เนื่องจากใช้พลังงานที่ต่ำกว่า (เวลาในการระเหิดที่สั้นกว่า) และทำให้สัดส่วนเฮมิเซลลูโลสคงเหลืออยู่น้อยกว่าที่สภาวะ logRo 3.84 คืออุณหภูมิที่ 210 °C เวลา 4 นาที

ตารางที่ 17 สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลงของเฮมิเซลลูโลส ในแต่ละขั้นตอนของการพรีทรีตเมนต์ ที่สภาวะการระเหิดด้วยไอน้ำที่เหมาะสม คือ 210 °C เวลา 2 นาที และการล้างด้วยน้ำร้อน 80 °C เวลา 30 นาที ของไม้กระถินเทพา

ขั้นตอน	ประสิทธิภาพ	องค์ประกอบทางเคมี				
		(เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
การพรีทรีตเมนต์	การลดลงของ เพนโตแซน (เปอร์เซ็นต์)	เซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
วัตถุดิบเริ่มต้น	0	46.47	26.44	18.28	0.76	8.05
การระเหิดด้วยไอน้ำ	1.97	44.44	29.33	17.92	0.68	7.63
การล้างด้วยน้ำร้อน	56.24	51.05	33.8	8	0.4	6.75

จากผลการทดลองที่ได้จากตารางที่ 17 องค์ประกอบทางเคมีของไม้กระถินเทพา เมื่อผ่าน ทุกขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์ โดยสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่คงเหลืออยู่ ลดลงอย่างชัดเจน จาก 18.28 เหลือ 8.00 เปอร์เซนต์น้ำหนักแห้ง ทำให้ส่วนของเซลลูโลสและลิกนินมีสัดส่วนที่เพิ่มสูงขึ้น

เล็กน้อย เนื่องจากปริมาณเซลลูโลสและลิกนินส่วนใหญ่แทบจะไม่หายไปในช่วงขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน และในแต่ละขั้นตอนจะเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกจากเชื้อได้เพิ่มขึ้น คือ หลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ 1.97 เปอร์เซ็นต์ แต่พอนำมาล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว จะพบว่าประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเป็น 56.24 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากน้ำร้อนจะชะล้างและสกัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่ถูกย่อยแล้วในช่วงขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำ บางส่วนที่เคลือบอยู่ที่ผิวเชื้อออกไป

4.2.3 การหาสถานะที่เหมาะสมในการพรีทรีตเมนต์ โดยการระเบิดไอน้ำไม้ลำต้นปาล์ม

นำตัวอย่างไม้ที่ได้ซึ่งแบ่งไว้ ถูกละ 150 กรัม น้ำหนักแห้ง ทำการระเบิดด้วยไอน้ำแต่ละสถานะ สถานะละ 3 ชั่วโมง แล้วรวบรวมตัวอย่างที่ผ่านการระเบิดโดยไม่ผ่านการล้างเชื้อด้วยน้ำลงถุงมัดปาก เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้นแบ่งนำเชื้อบางส่วนไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี หลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำ โดยได้ผลองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ลำต้นปาล์มหลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (% น้ำหนักแห้ง)				
	แอลฟาเซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	38.45	21.12	18.45	3.38	18.6
3.54	38.29	23.74	17.12	3.59	17.26
3.55	39.02	26.74	15.77	3.39	15.08
3.72	39.44	29.07	10.49	3.9	17.1
3.84	38.14	28.94	9.16	3.99	19.77
4.02	37.02	34.5	5.29	4.28	18.91

จากผลการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าเมื่อใช้สภาวะของการระเบิดด้วยไอน้ำที่รุนแรงขึ้นทำให้ปริมาณของเพนโตแซนลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับปริมาณเพนโตแซนในชั้นไม้ก่อนการระเบิด ส่วนองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

เมื่อนำเชื้อไม้ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำแบ่งออกมา 50 กรัม น้ำหนักแห้ง มาทำการล้างด้วยน้ำร้อนดังสภาวะที่ได้กำหนด แล้วนำมากรองเชื้อ และแบ่งน้ำเชื้อบางส่วนไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว จะได้ผลองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ลำต้นปาล์มหลังระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (% น้ำหนักแห้ง)				
	แอลฟาเซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	50.69 ^c	24.41 ^c	15.73 ^a	0.68	8.49
3.54	55.51 ^b	26.28 ^b	9.81 ^b	0.4	8
3.55	56.03 ^b	26.74 ^b	8.17 ^b	0.52	8.54
3.72	57.04 ^{a,b}	28.80 ^a	4.48 ^c	0.39	9.29
3.84	58.83 ^a	27.12 ^b	4.03 ^c	0.34	9.68
4.02	56.53 ^b	26.47 ^b	2.84 ^c	0.27	13.89

หมายเหตุ – ^{a,b,c} เป็นกลุ่มของตัวอย่างทดลองที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 95 เปอร์เซนต์ระดับความเชื่อมั่น

จากตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า เชื้อหลังระเบิดด้วยไอน้ำที่ผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนทำให้ปริมาณเพนโตแซนลดลงเมื่อเทียบกับปริมาณเพนโตแซนก่อนล้างด้วยน้ำร้อน เนื่องจากน้ำร้อนได้ชะเอาน้ำตาลที่เกาะบริเวณเชื้อออก โดยปริมาณเพนโตแซนสูงสุดคือ 15.73% ปริมาณเพนโตแซนต่ำสุดคือ 2.84% ส่วนปริมาณแอลฟาเซลลูโลสมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังการล้างด้วยน้ำร้อน โดยปริมาณแอลฟาเซลลูโลสสูงสุดคือ 58.83% ปริมาณแอลฟาเซลลูโลสต่ำสุดคือ 50.69%

การทดลองนี้เป็นการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยเป็นกรณีที่มีปัจจัยที่ต้องการเปรียบเทียบเพียงปัจจัยเดียวในการทดลอง คือ logRo ซึ่งในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของการระเบิดด้วยไอน้ำ ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง จะถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยแบบจำลองเชิงเส้นตรง (General linear model หรือ GLM)

ในรูปแบบแผนการทดลองแบบ CRD และมีการทดสอบความแตกต่างแบบ least significant difference หรือ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS รุ่น 8.01 (SAS, 2000)

หลังจากใช้โปรแกรม SAS คำนวณทางสถิติเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมแล้ว จากตารางที่ 19 พบว่าในเชิงสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เลือกที่สภาวะ logRo 3.72 และ 3.84 ให้สัดส่วนเซลลูโลสคงเหลือในกลุ่มทดลองมากคือ 57.83 และ 58.83 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในกลุ่ม a,b และ a ตามลำดับ กลุ่ม a เป็นกลุ่มที่มีสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด สัดส่วนเพนโตแซนที่น้อยอยู่ในกลุ่ม c คือเหลือ 4.48 และ 4.03 เปอร์เซ็นต์ โดยมองในแง่สัดส่วนเพนโตแซนคงเหลือ กลุ่ม c เป็นกลุ่มที่คงเหลือสัดส่วนเพนโตแซนที่ต่ำที่สุด ซึ่งจากผลทางสถิติพบว่าที่สภาวะ logRo 3.72 กับสภาวะ logRo 3.84 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาที่สัดส่วนของเซลลูโลส และเพนโตแซนจากความต้องการให้มีสัดส่วนของเซลลูโลสมากที่สุด และมีสัดส่วนของเพนโตแซนน้อยที่สุดจึงเลือกที่สภาวะ logRo 3.84 คือที่อุณหภูมิ 210 °C เวลา 4 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการกำจัดเฮมิเซลลูโลส ในไม้ลำต้นปาล์มน้ำมันตัวอย่าง

ตารางที่ 20 สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลงของเฮมิเซลลูโลสในแต่ละขั้นตอนของการฟัรริตเมนต์ ที่สภาวะการระบิดด้วยไอน้ำที่เหมาะสม คือ 210 °C เวลา 4 นาที และการล้างด้วยน้ำร้อน 80 °C เวลา 30 นาที ของไม้ลำต้นปาล์มน้ำมัน

ขั้นตอน การฟัรริตเมนต์	ประสิทธิภาพ การลดลงของ เพนโตแซน (เปอร์เซ็นต์)	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
		เซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
วัตถุดิบเริ่มต้น	0	40.83	21.64	29.53	2.4	5.6
การระบิดด้วยไอน้ำ	68.98	38.14	28.94	9.16	3.99	19.77
การล้างด้วยน้ำร้อน	86.35	58.83	27.12	4.03	0.34	9.68

จากผลการทดลองที่ได้จากตารางที่ 20 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ลำต้นปาล์ม เมื่อผ่านทุกขั้นตอนการฟัรริตเมนต์ โดยสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่คงเหลืออยู่ลดลงอย่างชัดเจน จาก 29.53 เหลือ 4.03 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ทำให้ส่วนของเซลลูโลสและลิกนินมีสัดส่วนที่เพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากปริมาณเซลลูโลสและลิกนินส่วนใหญ่แทบจะไม่หายไปในช่วงขั้นตอนการระบิด

ด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน และในแต่ละขั้นตอนจะเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกจากเยื่อได้เพิ่มขึ้น คือ หลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ 68.98 เปอร์เซ็นต์ แต่พอนำมาล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว จะพบว่าประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเป็น 86.35 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากน้ำร้อนจะชะล้างและสกัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่ถูกย่อยแล้วในขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำ บางส่วนที่เคลือบอยู่ที่ผิวเยื่อ ออกไป

4.2.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟรียทรีตเมนต์ โดยการระเบิดไอน้ำไม้ทางใบปาล์ม

นำชิ้นไม้สับทางใบปาล์ม 200 กรัม น้ำหนักแห้ง ทำการระเบิดไอน้ำด้วยสภาวะที่ต่างๆ ดังตารางที่ 2 สภาวะละ 3 ชั่วโมง โดยวัตถุประสงค์ของการทำฟรียทรีตเมนต์โดยการระเบิดด้วยไอน้ำคือ เพื่อทำลายหรือกำจัดโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสออกจากส่วนของเซลลูโลสและลิกนิน จากนั้นนำเยื่อที่ได้จากการระเบิดด้วยไอน้ำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี จะเห็นได้ว่าเมื่อสภาวะที่ใช้ในการระเบิดไอน้ำรุนแรงขึ้นจะส่งผลทำให้สัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสลดลงอย่างเห็นได้ชัด และสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีของตัวอื่นๆ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างเล็กน้อยดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ทางใบปาล์มหลังระเบิดด้วยไอน้ำ (SE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (% น้ำหนักแห้ง)				
	แอลฟาเซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	36.86	21.07	20.71	4.95	16.41
3.54	35.77	26.33	16.3	4.91	16.69
3.55	35.76	26.22	15.85	5.87	16.3
3.72	37.04	28.6	12.67	5.76	15.93
3.84	36.17	30.2	7.36	5.48	20.79
4.02	36.52	33.44	6.72	5.87	17.45

จากนั้นนำเยื่อที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำตามสภาวะต่างๆข้างต้นแล้ว มาทำการสกัดด้วยน้ำที่สภาวะที่กำหนดไว้คือ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทำการกรองเยื่อที่ได้จากนั้นนำเยื่อไป

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหลังจากผ่านการระบิดด้วยไอน้ำแล้วตามด้วยการสกัดด้วยน้ำ ซึ่งได้ผลองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ของตัวอย่างไม้ทางใบปาล์มหลังระบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน (WE) ตามลำดับ

logRo	องค์ประกอบทางเคมี (% น้ำหนักแห้ง)				
	แอลฟาเซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
3.24	46.11 ^b	27.2 ^d	18.59 ^a	1.44 ^{a,b}	6.66
3.54	48.42 ^{a,b}	31.52 ^c	11.78 ^b	1.39 ^b	6.89
3.55	51.08 ^a	33.32 ^{b,c}	10.17 ^{b,c}	1.56 ^{a,b}	3.87
3.72	48.62 ^{a,b}	34.95 ^b	8.02 ^{c,d}	1.64 ^{a,b}	6.77
3.84	47.87 ^{a,b}	35.28 ^{a,b}	6.02 ^{d,e}	1.44 ^{a,b}	9.39
4.02	46.01 ^b	37.91 ^a	4 ^e	1.7 ^a	10.38

หมายเหตุ – ^{a,b,c,d,e} เป็นกลุ่มของตัวอย่างทดลองที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 95 เปอร์เซ็นต์ระดับความเชื่อมั่น

จากตารางที่ 22 จะเห็นว่าเมื่อหลังการระบิดด้วยไอน้ำที่สภาวะรุนแรงขึ้น เมื่อผ่านการสกัดด้วยน้ำจะมีแนวโน้มสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับก่อนสกัดด้วยน้ำ มีผลทำให้สัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีอื่นๆเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเช่นกัน อาจเนื่องจากยังมีสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสเหลืออยู่ในเชื้อหลังการสกัดด้วยน้ำ

การเลือกสภาวะที่เหมาะสมของการระบิดด้วยไอน้ำ จะทำการเลือกสภาวะหลังจากกระบวนการสกัดด้วยน้ำ เนื่องจากเชื้อที่ผ่านการระบิดด้วยไอน้ำผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในสารละลายเฮมิเซลลูโลสคือ ไชโลส โอลิโกไชโลส เฟอร์ฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเฟอร์ฟูรอล กลูโคส และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารบางตัวจะเป็นพิษส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ดังนั้นการสกัดด้วยน้ำจะไปกำจัดหรือลดสารพิษที่ได้จากสภาวะการระบิดด้วยไอน้ำที่รุนแรง จากการคำนวณทางสถิติเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการพรีทรีตเมนต์โดยการระบิดด้วยไอน้ำดังตารางที่ 17 พบว่าสภาวะที่ $\log R_0 3.55$ มีสัดส่วนของเซลลูโลสสูงที่สุด ซึ่งให้ผลสัดส่วนของเซลลูโลสทางสถิติไม่แตกต่างจากสภาวะที่ $\log R_0 3.54, \log R_0 3.72$ และ $\log R_0 3.84$ แต่แบ่งในสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลส

พบว่าสภาวะที่ $\log R_0$ 3.84 มีสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสต่ำที่สุด และเมื่อพิจารณาต่อจะพบว่าสภาวะที่ $\log R_0$ 3.84 และ $\log R_0$ 4.02 มีสัดส่วนของทั้งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อคำนึงถึงปัจจัยในด้านอื่นเช่น พลังงานและค่าใช้จ่ายสภาวะที่ $\log R_0$ 4.02 จะใช้เวลาในการเปิดนานกว่าซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองพลังงานและค่าใช้จ่ายมากกว่าเมื่อเทียบกับสภาวะที่ $\log R_0$ 3.84 ดังนั้นสภาวะที่ $\log R_0$ 3.84 จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการทำพรีทรีตเมนต์โดยระเบิดด้วยไอน้ำ คือที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส เวลา 4 นาที

ตารางที่ 23 สรุปค่าสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการลดลงของเฮมิเซลลูโลสในแต่ละขั้นตอนของการพรีทรีตเมนต์ ที่สภาวะการระเบิดด้วยไอน้ำที่เหมาะสม คือ 210 °C เวลา 4 นาที และการล้างด้วยน้ำร้อน 80 °C เวลา 30 นาที ของไม้ทางใบปาล์ม

ขั้นตอน การพรีทรีตเมนต์	ประสิทธิภาพ การลดลงของ เพนโตแซน (เปอร์เซ็นต์)	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
		เซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่น ๆ
วัตถุดิบเริ่มต้น	0	42.46	15.63	28.27	1.82	11.82
การระเบิดด้วยไอน้ำ	73.97	36.17	30.2	7.36	5.48	20.79
การล้างด้วยน้ำร้อน	78.71	47.87	35.28	6.02	1.44	9.39

จากผลการทดลองที่ได้จากตารางที่ 23 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ทางใบปาล์ม เมื่อผ่านทุกขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์ โดยสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสที่คงเหลืออยู่ ลดลงอย่างชัดเจน จาก 28.27 เหลือ 6.02 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ทำให้ส่วนของเซลลูโลสและลิกนินมีสัดส่วนที่เพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากปริมาณเซลลูโลสและลิกนินส่วนใหญ่แทบจะไม่หายไปในช่วงขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน และในแต่ละขั้นตอนจะเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกจากเยื่อได้เพิ่มขึ้น คือ หลังจากผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ 73.97 เปอร์เซ็นต์ แต่พอนำมาล้างด้วยน้ำร้อนแล้ว จะพบว่าประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเป็น 78.71 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากน้ำร้อนจะชะล้างและสกัดส่วนของ เฮมิเซลลูโลสที่ถูกย่อยแล้วในขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำ บางส่วนที่เคลือบอยู่ที่ผิวเยื่อออกไป

4.3 การหาสถานะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่าง (alkaline extraction) ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดไอน้ำตามด้วยการสกัดด้วยน้ำ โดยใช้วิธีทะกุกิ

4.3.1 การหาสถานะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่าง ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อเยื่อคัลิปัสที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดไอน้ำตามด้วยการสกัดด้วยน้ำ โดยใช้วิธีทะกุกิ

หลังจากเยื่อถูกนำมาสกัดด้วยด่าง ณ สถานะต่าง ๆ ภายใต้สภาวะการทดลองทั้ง 9 ชุด การทดลอง ออกแบบการทดลองโดยวิธีทะกุกิ เมื่อนำเยื่อคัลิปัสสกัดด้วยด่างวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้ผลดังตารางที่ 24

ตารางที่ 24 ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้เยื่อคัลิปัสที่สกัดด้วยด่าง ณ สถานะที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	องค์ประกอบทางเคมี (%)				
	ไฮโดรเซลลูโลส	ลิกนิน	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า
1	79.14	18.74	72.33	2.29	1.11
2	77.72	20.4	71.54	1.81	0.93
3	73.4	22.24	70.39	1.5	1.52
4	80.17	18.32	74.7	2.15	0.96
5	77.76	20.47	72.01	1.32	0.86
6	75.34	22.37	70.3	1.55	1.72
7	81.41	16.79	76.84	2.11	1.24
8	78.5	19.89	72.73	1.85	1.11
9	75.89	21.3	71.84	1.38	1.64

การวิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้ง 9 ชุดการทดลอง จะอาศัย ค่าสัดส่วนเซลลูโลส สัดส่วนลิกนิน เป็นพารามิเตอร์หลัก เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการสกัดด้วยด่าง ต้องการกำจัดลิกนินออก

จากเชื้อเพื่อให้มีสัดส่วนลิกนินต่ำที่สุด และเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสให้มากที่สุด ส่วนค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสและเถ้า เป็นพารามิเตอร์รอง ซึ่งการวิเคราะห์แบ่งออกเป็นหัวข้อหลักได้ดังนี้ การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อสัดส่วนเซลลูโลสและลิกนิน การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยด่าง การประมาณค่าสัดส่วนเซลลูโลส และลิกนิน ที่ได้จากการสกัดด้วยด่างที่สภาวะที่เหมาะสม

4.3.1.1 การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อสัดส่วนเซลลูโลส และลิกนินของเยื่อเยื่อคัลิปัส

การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีสามารถหาได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยจะแสดงถึงร้อยละอิทธิพลของปัจจัยการทดลอง (Percent contribution) ที่มีผลต่อการสกัดด้วยด่างเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลส ลดสัดส่วนลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเถ้า ซึ่งเป็นค่าที่สามารถบอกได้ว่าปัจจัยที่ใช้ในการทดลองใดมีผลต่อการสกัดด้วยด่างบ้าง และมีอิทธิพลมากหรือน้อย นอกจากนี้การวิเคราะห์ความแปรปรวนยังสามารถบอกได้ถึงระดับความเชื่อมั่นของปัจจัยการทดลองที่มีต่อการสกัดด้วยด่าง ได้ผลการวิเคราะห์สรุปดังตารางที่ 25, 26 และ 27

ตารางที่ 25 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส

Factor	DOF ^A	SS ^A	V ^A	F ^A	S'	Percent	Confidence ^A	Significant
						contribution (%)	(%)	
N	2	26.17	13.1	10.83	23.75	19.225	99.93	***
T	2	65.38	32.7	27.058	62.97	50.961	100	***
t	2	7.839	3.92	3.244	5.423	4.389	93.98	*
Other Error	20	24.16	1.21					
Total	26	123.6				100		
หมายเหตุ	N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)					P<0.001	***	
	T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)					P<0.01	**	
	t: เวลาการสกัด (นาที)					P<0.05	*	

ตารางที่ 26 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน

Factor	DOF ^A	SS ^A	V ^A	F ^A	S'	Percent	Confidence ^A	Significant
						contribution (%)	(%)	
N	2	7.235	3.62	10.226	6.527	7.36	99.91	***
T	2	73.23	36.6	103.501	72.52	81.768	100	***
t	2	1.151	0.58	1.628	0.444	0.501	77.87	-
Other Error	20	7.074	0.35			93.446		
Total	26	88.69				100		
หมายเหตุ	N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)					P<0.001	***	
	T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)					P<0.01	**	
	t: เวลาการสกัด (นาทีก)					P<0.05	*	

ตารางที่ 27 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส

Factor	DOF ^A	SS ^A	V ^A	F ^A	S'	Percent	Confidence ^A	Significant
						contribution (%)	(%)	
N	2	0.168	0.08	1.635	0.065	1.685	78	-
T	2	2.413	1.21	23.358	2.309	59.273	100	***
t	2	0.281	0.14	2.726	0.178	4.576	91.02	*
Other Error	20	1.032	0.05			34.466		
Total	26	3.896				100		
หมายเหตุ	N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)					P<0.001	***	
	T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)					P<0.01	**	
	t: เวลาการสกัด (นาทีก)					P<0.05	*	

ผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยอาศัยค่าสัดส่วนเซลลูโลส จากตารางที่ 25 พบว่า ร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของอุณหภูมิการสกัดมีค่ามากที่สุด เท่ากับ 50.961 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 19.225 ส่วนเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่มีค่าร้อยละอิทธิพลน้อยที่สุด เท่ากับ 4.389 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่า อุณหภูมิ

การสกัด และความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $p < 0.001$ ส่วนปัจจัยด้านเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $p < 0.05$

ด้านผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนหลักนิน จากตารางที่ 26 พบว่าร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของอุณหภูมิการสกัด มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 81.768 รองลงมาคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 7.36 ส่วนเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่มีค่าร้อยละอิทธิพลน้อยที่สุด เท่ากับ 0.501 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่า ปัจจัย ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิการสกัด ไซด์ มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $p < 0.001$ ส่วนเวลาการสกัด เป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลส จากตารางที่ 27 พบว่าร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของอุณหภูมิการสกัด มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 59.273 รองลงมาคือ เวลาการสกัด เท่ากับ 4.576 ส่วนความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่มีค่าร้อยละอิทธิพลน้อยที่สุด เท่ากับ 1.685 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่า ปัจจัยอุณหภูมิการสกัด มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.001$ และ เวลาการสกัด มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ส่วนความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน สามารถสรุปได้ว่า เมื่อพิจารณาจากค่าสัดส่วนเซลล์โลส พบว่า อุณหภูมิการสกัด มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีอิทธิพลมากที่สุดต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลล์โลส รองลงมาคือความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเวลาการสกัด ที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านค่าสัดส่วนหลักนิน ก็เช่นเดียวกัน คือปัจจัย อุณหภูมิการสกัด มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อลดสัดส่วนหลักนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ ส่วนปัจจัยเวลาการสกัด ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อลดสัดส่วนหลักนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลส ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดเมื่อพิจารณาเฮมิเซลล์โลส คืออุณหภูมิการสกัด และรองลงมาคือเวลาการสกัดทั้งสาม ส่วนปัจจัยความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลส ไม่ใช่พารามิเตอร์หลักในการหาสถานะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยค่า จึงไม่นำผลการวิเคราะห์ของค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลสมาใช้

พิจารณา เช่นเดียวกับค่าสัดส่วนเก๋า ถึงแม้ อนุกรมการสัปดาห์จะมีอิทธิพลต่อการสัปดาห์อย่างมีนัยสำคัญเพื่อลดสัดส่วนเก๋า แต่เนื่องจากค่าสัดส่วนเก๋าที่มีค่าน้อยมาก จึงไม่นำไปใช้พิจารณาสถานะที่เหมาะสม เช่นเดียวกับค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลส ดังนั้น จึงใช้เพียงค่าสัดส่วนเซลล์โลสและลิกนินในการพิจารณาหาสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการสัปดาห์ด้วยค่า ในขั้นต่อไป

4.3.1.2 การหาสถานะที่เหมาะสมในการสัปดาห์ด้วยค่า เชื้อยาลิปตัส

หลักในการหาสถานะที่เหมาะสมโดยวิธีทฤษฎีแบ่งประเภทของการทดลองออกเป็น 3 ประเภท คือ The Smaller is better, The Nominal is better และ The Bigger is better ซึ่งการทดลองนี้จัดอยู่ในทั้งประเภท The Bigger is better (B) และ The Smaller is better (S) โดยต้องการสัดส่วนเซลล์โลสสูงสุดจึงใช้ประเภท The Bigger is better อีกด้าน ต้องการสัดส่วนลิกนิน เฮมิเซลล์โลส และเก๋า ต่ำสุด จึงใช้ประเภท The Smaller is better การทดลองครั้งนี้สนใจที่ค่าสัดส่วนเซลล์โลสสูงสุด และสัดส่วนลิกนินต่ำสุด จึงต้องหาสถานะที่ให้ค่าสัดส่วนดังกล่าว

นำค่าสัดส่วนเซลล์โลส และสัดส่วนลิกนิน ของทั้ง 9 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ชั่วโมง ค่าอัตราส่วน Signal-to-Noise (S/N-Ratio) เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมต่อการทดลอง ซึ่งสูตรการคำนวณค่า S/N-Ratio แสดงในภาคผนวก และสรุปผลได้ดังตารางที่ 28 โดยนำ S/N-Ratio มาคำนวณร้อยละอิทธิพลหลักของปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับการทดลอง ซึ่งสรุปผลดังตารางที่ 29

ตารางที่ 28 สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูลอส ลิกนินและเฮมิเซลลูลอส จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของเยื่อคาลิปต์

ชุดการทดลอง	สัดส่วนเซลลูลอส (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนเฮมิเซลลูลอส (เปอร์เซ็นต์)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)
1	71.86	71.89	73.23	37.185	18.36	18.35	19.51	25.445	2.51	2.15	2.2	7.124
2	72.16	71.17	71.29	37.090	20.55	19.39	21.25	26.172	1.51	1.71	2.22	4.844
3	70.68	69.33	71.15	36.948	22.10	21.64	22.99	26.936	1.69	1.47	1.34	3.405
4	74.84	74.49	74.76	37.466	18.24	18.81	17.91	25.253	2.01	2.06	2.37	6.568
5	72.02	70.63	73.39	37.145	20.11	20.04	21.25	26.212	1.35	1.29	1.33	2.429
6	69.28	69.69	71.94	36.936	22.34	22.71	22.06	26.991	1.82	1.44	1.39	3.626
7	76.92	77.84	75.76	37.710	17.32	16.68	16.38	24.496	1.99	2.49	1.86	6.303
8	73.74	71.82	72.62	37.232	19.33	20.61	19.72	25.962	1.86	2.00	1.69	5.281
9	69.97	72.98	72.58	37.123	21.44	21.15	21.31	26.567	1.38	1.35	1.40	2.774

ตารางที่ 29 อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อไม้ยูคาลิปตัสที่สกัดด้วยด่างแล้ว

สัดส่วนเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	37.075	37.182	37.355	0.281	31.822
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	37.454	37.156	37.002	0.451	51.164
เวลาการสกัด (นาท)	37.118	37.227	37.268	0.15	17.014

สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	26.184	26.152	25.675	0.509	20.15
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	25.065	26.115	26.831	1.767	69.896
เวลาการสกัด (นาท)	26.133	25.998	25.881	0.252	9.954

สัดส่วนเฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	5.124	4.208	4.786	0.917	16.334
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	6.665	4.185	3.268	3.397	60.527
เวลาการสกัด (นาท)	5.344	4.728	4.045	1.299	23.14

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเซลลูโลส ดังแสดงในตารางที่ 29 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของอุณหภูมิการสกัด มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 51.164 ส่วน

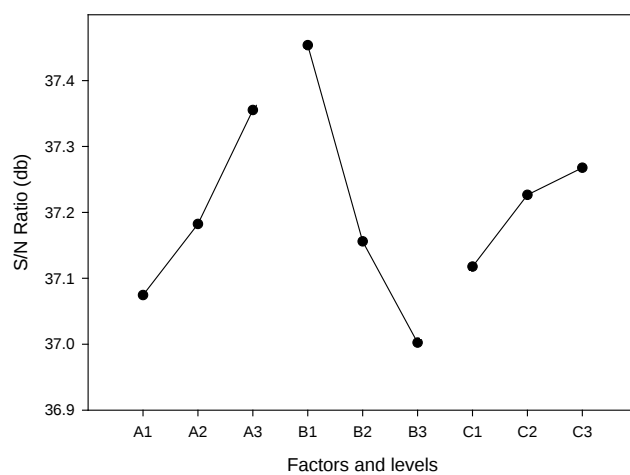
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเวลาการสกัด มีค่าร้อยละอิทธิพลหลักถัดลงมา เท่ากับ 31.822 และ 17.014 ตามลำดับ และจากค่าดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า อุณหภูมิการสกัด เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลลูโลส มากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ดังที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

การวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนลิกนิน จากตารางที่ 29 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของอุณหภูมิการสกัด มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 69.896 ส่วนความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเวลาการสกัด มีค่าร้อยละอิทธิพลหลักถัดลงมา เท่ากับ 20.150 และ 9.954 ตามลำดับ และจากค่าดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า อุณหภูมิการสกัด เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อลดค่าสัดส่วนลิกนิน มากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ดังที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

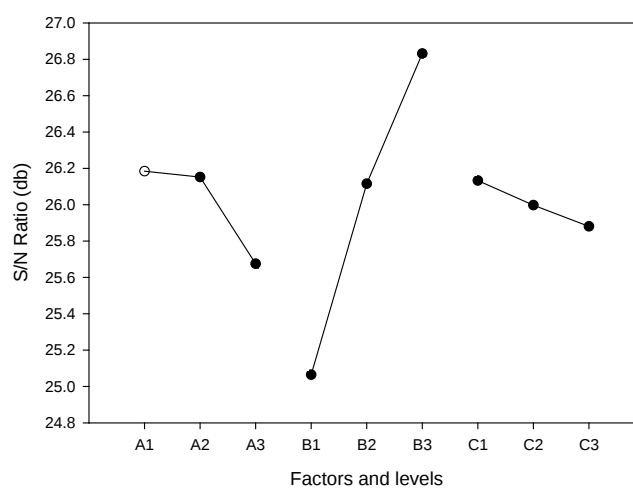
ส่วนผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเอมิเซลลูโลส ดังแสดงในตารางที่ 29 พบว่า ค่าร้อยละอิทธิพลหลักของอุณหภูมิการสกัด มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 60.527 ส่วนเวลาการสกัด และความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่าร้อยละอิทธิพลหลักถัดลงมา เท่ากับ 23.140 และ 16.334 ตามลำดับ และจากค่าดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า อุณหภูมิการสกัด เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อลดค่าสัดส่วนเอมิเซลลูโลส มากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ดังที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก เมื่อพิจารณาที่พารามิเตอร์หลัก คือ ค่าสัดส่วนเซลลูโลสและลิกนิน พบว่าอุณหภูมิการสกัด เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่ามากที่สุด รองลงมาคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ และถัดมา คือเวลาการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

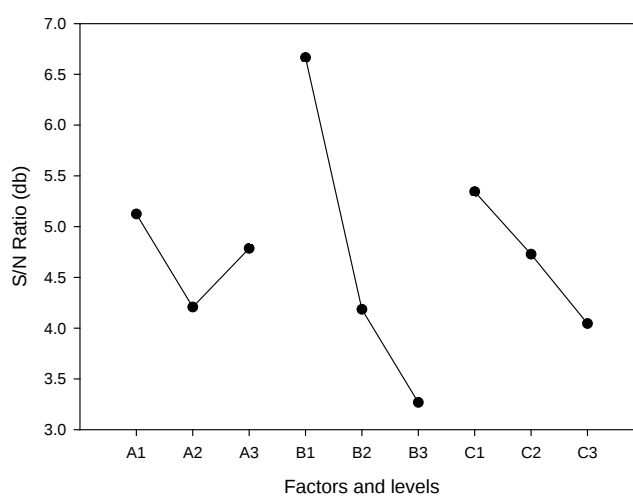
นำอัตราส่วน S/N ตามตารางที่ 28 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วน S/N กับปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับของปัจจัยของการทดลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยค่า เพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลส และลดสัดส่วนลิกนินในเชื้อไมยคาลิปดัส ได้ผลดังภาพที่ 10, 11 และ 12



ภาพที่ 10 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลล์โลส



ภาพที่ 11 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน



ภาพที่ 12 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส

จากภาพที่ 10-12 สามารถพิจารณาระดับของแต่ละปัจจัยที่ให้อัตราส่วน S/N สูงสุด ซึ่งสรุปเป็นสถานะที่เหมาะสม 3สถานะที่แตกต่างกัน คือ สถานะที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด สถานะที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุด และสถานะที่ให้ค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสต่ำสุด แต่เนื่องจากเยื่อไม้ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำยังคงมีค่าสัดส่วนลิกนินที่สูง ดังนั้นวัตถุประสงค์หลักของการสกัดด้วยด่าง เพื่อกำจัดลิกนินและเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสในเยื่อไม้ ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว การหาสถานะการสกัดด้วยด่างที่ดีที่สุด จึงควรมีเพียงสถานะเดียว ดังนั้นในการพิจารณา จึงใช้พารามิเตอร์หลักคือ ค่าสัดส่วนเซลลูโลส และค่าสัดส่วนลิกนิน

ตารางที่ 30 สรุปสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยด่าง เพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลลูโลสและลดค่าสัดส่วนลิกนินในเยื่อไม้ยูคาลิปตัสที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว ผ่านการคำนวณโดยวิธีหะกุจิ

ปัจจัยการทดลอง	ระดับการทดลอง	สถานะ
ชุดการทดลอง C		
N: ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	3	25
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	1	70
t: เวลาการสกัด (นาที)	3	90

หมายเหตุ: ชุดการทดลอง C คือ สถานะการสกัดด่างที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด และสัดส่วนลิกนินต่ำสุด ของไม้ยูคาลิปตัส

จากตารางที่ 30 สรุปสถานะเหมาะสมการสกัดด่างของไม้ยูคาลิปตัส ที่ได้จากการคำนวณโดยวิธีหะกุจิ พิจารณาสถานะการสกัดด่างที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด และให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุด เป็นสถานะเดียวกัน กับชุดการทดลองที่ 7 ในตารางที่ 24 (ชุดการทดลอง C ในตารางที่ 30) โดยวิธีหะกุจิ ใช้หาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด่าง และสามารถนำค่าสถานะที่เหมาะสมมาประมาณค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด และลิกนินต่ำสุด ของชุดการทดลอง C ตามลำดับ ต่อมานำค่าองค์ประกอบที่ได้จากสถานะการสกัดด่างเหมาะสมที่คำนวณได้โดยวิธีหะกุจิมาแสดง โดยไม่ต้องทำการทดลองยืนยันซ้ำ เนื่องจากสถานะที่เหมาะสมดังกล่าว เป็นสถานะเดียวกับชุดการทดลองที่ 7 ในตารางที่ 24 ดังตารางที่ 31 และตารางที่ 32 ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด และลิกนินต่ำสุด เปรียบเทียบระหว่างที่ได้จากการทดลอง กับการประมาณค่าโดยวิธีหะกุจิ

ตารางที่ 31 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัสที่ได้จากการทดลอง ของสภาวะเหมาะสมการ สกัดค่าที่ได้จากวิธีหะกุกิ ที่ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที

สภาวะ	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า
ชุดการทดลอง C	76.84	16.79	2.11	1.24

หมายเหตุ : สภาวะที่เหมาะสมของชุดการทดลอง C เป็นสภาวะเดียวกับการทดลองที่ 7 ในตาราง 19 จึงใช้ค่าองค์ประกอบในตาราง เป็นตัวแทนของชุดการทดลองนี้

ตารางที่ 32 เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริง และที่ได้จากการประมาณค่า ซึ่งคำนวณโดยวิธี หะกุกิ ของสภาวะการสกัดค่าเหมาะสม ของไม้ยูคาลิปตัส ที่ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที

	ค่าจากการทดลอง (เปอร์เซ็นต์)		ค่าประมาณ (เปอร์เซ็นต์)	
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เซลลูโลส	ลิกนิน
ชุดการทดลองเหมาะสม				
ชุดการทดลอง C	76.84	16.79	76.452	16.995

จากตารางที่ 31 จะเห็นว่า สภาวะการสกัดค่าที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด เป็นสภาวะเดียวกับที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุด เท่ากับ 76.84 และ 16.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เห็นได้จาก ตารางที่ 32 โดยเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองจริงและค่าที่ประมาณจากการคำนวณโดยวิธี หะกุกิ มีค่าใกล้เคียงกันมาก ดังตารางที่ 32

ตารางที่ 33 สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส ที่ผ่านการฟิรทริตเมนต์ สภาวะที่เหมาะสมในแต่ละขั้นตอน

ขั้นตอนการฟิรทริตเมนต์	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า
วัตถุดิบเริ่มต้น	43.75	24.69	19.55	0.76
การระเบิดด้วยไอน้ำ	44.86	29.91	15.27	0.43
การล้างด้วยน้ำร้อน	53.94	33.16	3.64	0.16
การสกัดด้วยด่าง	76.84	16.79	2.11	1.24

จากตารางที่ 33 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยูคาลิปตัส เมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยค่าสภาวะเหมาะสมที่ทำได้โดยวิธีทะกุกิ จากวัตถุดิบเริ่มต้นมีสัดส่วนเซลลูโลส 43.75 เพิ่มขึ้นเป็น 76.84 เปอร์เซนต์ และ สัดส่วนลิกนินของวัตถุดิบเริ่มต้น 24.69 ลดลงเหลือ 16.79 เปอร์เซนต์ เมื่อคิดเป็นประสิทธิภาพการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนเซลลูโลส เท่ากับ 43.06 เปอร์เซนต์ และประสิทธิภาพการลดลงของสัดส่วนลิกนิน เท่ากับ 32 เปอร์เซนต์ เนื่องจากค่าเข้าไปทำการแยกโครงสร้างระหว่างลิกนิน และคาร์โบไฮเดรต และเข้าไปทำลายโครงสร้างลิกนิน (Fan และคณะ, 1987) ทำให้ลิกนินหลุดออกมากับสารละลายค่าได้ง่าย สัดส่วนลิกนินจึงลดลง อีกทั้งสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสซึ่งไม่เสถียร ก็ถูกทำลายเพิ่ม ทำให้สัดส่วนเซลลูโลสเพิ่มขึ้น

4.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยค่า ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อกระดาษ เทพาที่ผ่านขั้นตอนการระบิดไอน้ำตามด้วยการสกัดด้วยน้ำ โดยใช้วิธีทะกุกิ

หลังจากเยื่อ ถูกนำมาสกัดด้วยค่า ณ สภาวะต่าง ๆ ภายใต้สภาวะการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ซึ่งออกแบบการทดลองโดยวิธีทะกุกิ เมื่อนำเยื่อยูคาลิปตัสสกัดด้วยค่าวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้ผลดังตารางที่ 34

ตารางที่ 34 ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีเยื่อกระดาษเทพาที่สกัดด้วยค่า ณ สภาวะที่แตกต่าง

ชุดการทดลอง	องค์ประกอบทางเคมี (%)				
	ไฮโดรเซลลูโลส	ลิกนิน	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า
1	67.75	29.59	59.12	4.36	1.58
2	67.79	29.59	59.52	4.02	3.04
3	66.37	30.05	59.37	3.39	2.82
4	68.25	30.04	60.61	3.65	1.88
5	67.39	30.55	60.05	3.68	2.4
6	66.37	30.69	58.71	3.72	2.68
7	68.26	29.86	61.45	3.77	2.15
8	67.76	30.24	61.58	3.25	1.63
9	66.61	30.98	59.84	3.29	3.25

ตารางที่ 36 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน

Factor	DOF ^A	SS ^A	V ^A	F ^A	S'	Percent contribution	Confidence ^A	Significant
						(%)	(%)	
N	2	2.549	1.27	1.425	0.761	3.314	73.61	-
T	2	2.532	1.27	1.416	0.744	3.24	73.401	-
t	2	0.012	0.01	0.006	0	0	0.598	-
Other Error	20	17.88	0.89			93.446		
Total	26	22.97				100		
หมายเหตุ								
N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)						P<0.001	***	
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)						P<0.01	**	
t: เวลาการสกัด (นาทีก)						P<0.05	*	

ตารางที่ 37 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส

Factor	DOF ^A	SS ^A	V ^A	F ^A	S'	Percent contribution	Confidence ^A	Significant
						(%)	(%)	
N	2	1.075	0.54	1.228	0.2	1.828	68.597	-
T	2	0.979	0.49	1.119	0.104	0.955	65.379	-
t	2	0.133	0.66	0.152	0	0	14.003	-
Other Error	20	8.75	0.44			97.217		
Total	26	10.94				100		
หมายเหตุ								
N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)						P<0.001	***	
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)						P<0.01	**	
t: เวลาการสกัด (นาทีก)						P<0.05	*	

ผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยอาศัยค่าสัดส่วนเซลลูโลส จากตารางที่ 35 พบว่า ร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่ามากที่สุด เท่ากับ

22.927 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อุณหภูมิการสกัด เท่ากับ 9.91 ส่วนเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่ไม่มีค่าร้อยละอิทธิพลเลย เท่ากับ 0 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.01$ และอุณหภูมิการสกัด มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ส่วนปัจจัยด้านเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ด้านผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนลักษณะจากตารางที่ 36 พบว่า ร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 3.314 รองลงมาคือ อุณหภูมิการสกัด เท่ากับ 3.240 ส่วนเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่ไม่มีค่าร้อยละอิทธิพล เท่ากับ 0 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่า ทั้งสามปัจจัยคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัด เป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนสมิเซลลูโลสจากตารางที่ 37 พบว่า ร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 1.828 รองลงมาคือ อุณหภูมิการสกัด เท่ากับ 0.955 ส่วนเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่ไม่มีค่าร้อยละอิทธิพล เท่ากับ 0 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่า ทั้งสามปัจจัยคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัด เป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เหมือนกับผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนลักษณะ

จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน สามารถสรุปได้ว่า เมื่อพิจารณาจากค่าสัดส่วนเซลลูโลส พบว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีอิทธิพลมากที่สุดต่อการสกัดด้วยด่างเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลส รองลงมาคืออุณหภูมิการสกัดที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ส่วนเวลาการสกัด ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างอย่างมีนัยสำคัญ ด้านค่าสัดส่วนลักษณะ พบว่า ปัจจัยทั้งสาม คือความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัด ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างเพื่อลดสัดส่วนลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าสัดส่วนสมิเซลลูโลส ปัจจัยทั้งสาม ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างอย่างมีนัยสำคัญ และไม่ใช่ว่าพารามิเตอร์หลักในการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่างจึงไม่นำผลการวิเคราะห์ของค่าสัดส่วนสมิเซลลูโลสมาใช้พิจารณา เช่นเดียวกับค่าสัดส่วนถั่วถึงแม้จะมีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่เนื่องจากค่าสัดส่วนที่มีค่าน้อยมาก จึงไม่

นำไปใช้พิจารณาสถานะที่เหมาะสม เช่นเดียวกับค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลส ดังนั้น จึงใช้เพียงค่าสัดส่วนเซลล์โลสและลิกนินในการพิจารณาหาสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดด้วยค่า ในขั้นต่อไป

4.3.2.2 การหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยค่าไม้กระธินเทพา

หลักในการหาสถานะที่เหมาะสมโดยวิธีทะกุกิแบ่งประเภทของการทดลองออกเป็น 3 ประเภท คือ The Smaller is better, The Nominal is better และ The Bigger is better ซึ่งการทดลองนี้จัดอยู่ในทั้งประเภท The Bigger is better (B) และ The Smaller is better (S) โดยต้องการสัดส่วนเซลล์โลสสูงสุดจึงใช้ประเภท The Bigger is better อีกด้าน ต้องการสัดส่วนลิกนิน เฮมิเซลล์โลส และเถ้า ต่ำสุด จึงใช้ประเภท The Smaller is better การทดลองครั้งนี้สนใจที่ค่าสัดส่วนเซลล์โลสสูงสุด และสัดส่วนลิกนินต่ำสุด จึงต้องหาสถานะที่ให้ค่าสัดส่วนดังกล่าว

นำค่าสัดส่วนเซลล์โลส และสัดส่วนลิกนิน ของทั้ง 9 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ชั่วโมง ค่าอัตราส่วน Signal-to-Noise (S/N-Ratio) เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมต่อการทดลอง ซึ่งสูตรการคำนวณค่า S/N-Ratio แสดงในภาคผนวก และสรุปผลได้ดังตารางที่ 38 โดยนำ S/N-Ratio มาคำนวณร้อยละอิทธิพลหลักของปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับการทดลอง ซึ่งสรุปผลดังตารางที่ 39

ตารางที่ 38 สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูลอส ลิกนินและเฮมิเซลลูลอส จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของไม้กระถินเทพา

ชุดการทดลอง	สัดส่วนเซลลูลอส (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนเฮมิเซลลูลอส (เปอร์เซ็นต์)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)
1	59.82	59.82	58.7	35.482	30.04	28.23	30.49	29.407	4.41	4.02	4.66	12.745
2	57.76	57.76	61.60	35.411	28.45	29.29	31.04	29.407	3.88	3.37	4.81	11.808
3	59.57	59.57	59.57	35.501	29.70	28.80	31.65	29.536	2.89	3.01	4.27	10.227
4	60.49	60.49	59.94	35.607	29.74	30.47	29.91	29.553	3.32	3.77	3.87	11.198
5	60.34	60.34	60.11	35.601	30.58	30.43	30.64	29.700	2.92	4.22	3.89	10.975
6	58.85	58.85	59.34	35.419	29.84	30.90	31.34	29.735	3.33	3.37	4.46	11.182
7	61.68	61.68	59.87	35.715	29.97	30.80	28.80	29.491	2.87	5.15	3.29	10.764
8	60.57	60.57	60.65	35.649	30.53	29.61	30.57	29.608	3.12	3.45	3.18	10.212
9	59.23	59.23	59.82	35.479	29.94	30.78	32.21	29.809	3.04	3.88	2.94	10.141

ตารางที่ 39 อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อไม้กระถิน
เทพาที่สกัดด้วยด่างแล้ว

สัดส่วนเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพล หลัก	ค่าร้อยละ อิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	35.464	35.542	35.614	0.150	38.343
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	35.601	35.554	35.466	0.135	34.480
เวลาการสกัด (นาทีก)	35.516	35.499	35.606	0.106	27.177

สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพล หลัก	ค่าร้อยละ อิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	29.450	29.663	29.636	0.213	48.775
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	29.484	29.572	29.693	0.209	48.068
เวลา (นาทีก)	29.584	29.589	29.576	0.014	3.157

สัดส่วนเฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพล หลัก	ค่าร้อยละ อิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	11.593	11.119	10.372	1.221	40.739
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	11.569	10.999	10.517	1.052	35.092
เวลา (นาทีก)	11.380	11.049	10.655	0.724	24.169

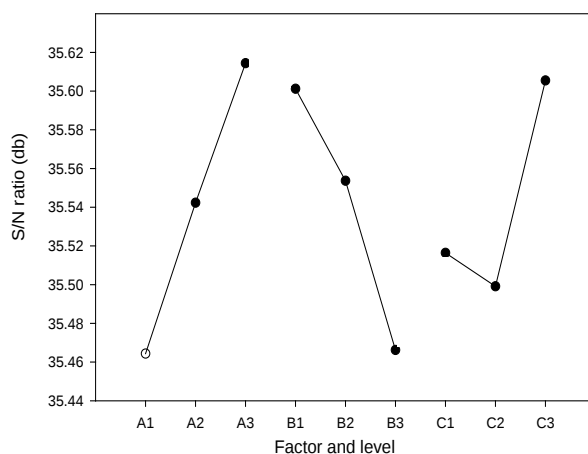
จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเซลล์โลส ดังแสดงในตารางที่ 39 พบว่า ค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 38.343 ส่วนอนุกรมการสกัด และเวลาการสกัด มีค่าร้อยละอิทธิพลหลักถัดลงมา เท่ากับ 34.480 และ 27.177 ตามลำดับ และจากค่าดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างเพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลล์โลส มากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ดังที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

การวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนลิกนิน จากตารางที่ 39 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 48.775 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับอนุกรมการสกัด เท่ากับ 48.068 ส่วนปัจจัยด้านเวลาการสกัดมีค่าร้อยละอิทธิพลหลักน้อยที่สุด เท่ากับ 3.157 และจากค่าดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างเพื่อลดค่าสัดส่วนลิกนิน มากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ดังที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

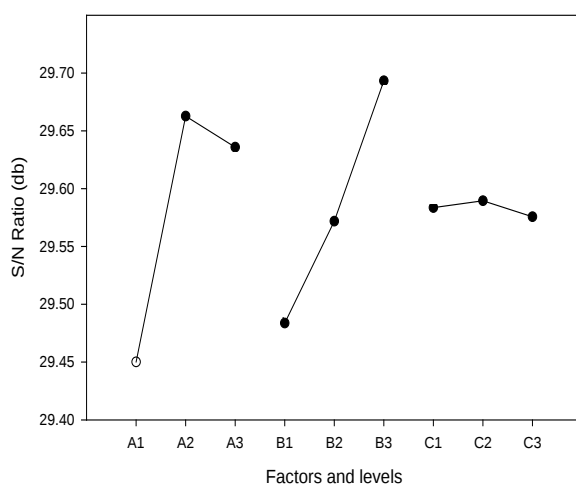
ส่วนผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลส ดังแสดงในตารางที่ 39 พบว่า ค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 40.739 ส่วนอนุกรมการสกัด และเวลาการสกัด มีค่าร้อยละอิทธิพลหลักถัดลงมา เท่ากับ 35.092 และ 24.169 ตามลำดับ และจากค่าดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างเพื่อลดค่าสัดส่วนเฮมิเซลล์โลส มากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ดังที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก เมื่อพิจารณาที่พารามิเตอร์หลัก คือ ค่าสัดส่วนเซลล์โลสและลิกนิน พบว่าความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยด่างมากที่สุด รองลงมาคือ อนุกรมการสกัด และถัดมา คือเวลาการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

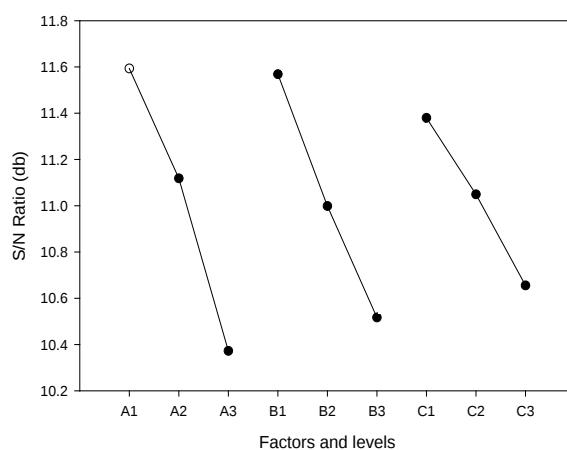
นำอัตราส่วน S/N ตามตารางที่ 38 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วน S/N กับปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับของปัจจัยของการทดลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยด่าง เพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลล์โลส และลดสัดส่วนลิกนินในเยื่อไม้กระถินเทพา ได้ผลดังภาพที่ 13, 14, และ 15



ภาพที่ 13 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลล์โลส



ภาพที่ 14 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน



ภาพที่ 15 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเฮมิเซลลูโลส

จากภาพที่ 13-15 สามารถพิจารณาระดับของแต่ละปัจจัยที่ให้อัตราส่วน S/N สูงสุด ซึ่งสรุปเป็นสถานะที่เหมาะสม 3สถานะที่แตกต่างกัน คือ สถานะที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด สถานะที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุด และสถานะที่ให้ค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสต่ำสุด แต่เนื่องจากเยื่อไม้ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำยังคงมีค่าสัดส่วนลิกนินที่สูง ดังนั้นวัตถุประสงค์หลักของการสกัดด้วยด่าง เพื่อกำจัดลิกนินและเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสในเยื่อไม้ ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว การหาสถานะการสกัดด้วยด่างที่ดีที่สุด จึงควรมีเพียงสถานะเดียว ดังนั้นในการพิจารณา จึงใช้พารามิเตอร์หลักคือ ค่าสัดส่วนเซลลูโลส และค่าสัดส่วนลิกนิน

ตารางที่ 40 สรุปสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยด่าง เพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลลูโลสและลดค่าสัดส่วนลิกนินในเยื่อไม้กระถินเทพาที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว ผ่านการคำนวณโดยวิธีทะกุกิ

ปัจจัยการทดลอง	ระดับการทดลอง	สถานะ
ชุดการทดลอง A		
N: ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	3	25
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	1	70
t: เวลาการสกัด (นาที)	3	90
ชุดการทดลอง B		
N: ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	1	15
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	1	70
t: เวลาการสกัด (นาที)	3	90

หมายเหตุ: ชุดการทดลอง A คือ สถานะการสกัดต่างที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุดของไม้กระถินเทพา

ชุดการทดลอง B คือ สถานะการสกัดต่างที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุดของไม้กระถินเทพา

จากตารางที่ 40 สรุปสถานะเหมาะสมการสกัดต่างที่ได้จากการคำนวณโดยวิธีทะกุกิ พิจารณาสถานะการสกัดต่างที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด เป็นสถานะเดียวกับชุดการทดลองที่ 7 ในตารางที่ 34 (ชุดการทดลอง A ในตารางที่ 40) ขณะที่สถานะที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุด ไม่ได้อยู่ในชุดการทดลองใด ในตารางที่ 29 (ชุดการทดลอง B ในตารางที่ 40) โดยวิธีทะกุกิ ใช้หาสถานะที่เหมาะสมใน

การสกัดต่าง และสามารถนำค่าสถานะที่เหมาะสมมาประมาณค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด และลิกนินต่ำสุด ของชุดการทดลอง A และ B ตามลำดับ ต่อมานำสถานะการสกัดต่างเหมาะสมที่คำนวณได้โดยวิธีทฤษฎี ทำการทดลองยืนยันผล เพื่อหาค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จริงจากสถานะดังกล่าว ดังตารางที่ 41 และตารางที่ 42 ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด และลิกนินต่ำสุด เปรียบเทียบระหว่างที่ได้จากการทดลอง (รวมถึงการทำการทดลองยืนยันผล) กับการประมาณค่าโดยวิธีทฤษฎี

ในตารางที่ 41 ชุดการทดลอง A สถานะที่ได้จากการคำนวณวิธีทฤษฎี เป็นสถานะเดียวกับชุดการทดลองที่ 7 (ตารางที่ 34) ดังนั้น จึงใช้ค่าองค์ประกอบที่ได้จากการทดลองของชุดการทดลองที่ 7 แต่ชุดการทดลอง B สถานะที่ได้จากการคำนวณวิธีทฤษฎี ไม่ได้อยู่ในชุดการทดลองใด ดังนั้น จึงต้องทำการทดลองยืนยันผล ซึ่งจุดแตกต่างของสถานะทั้งสองคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยชุดการทดลอง A ใช้ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุด ส่วนชุดการทดลอง B ใช้ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด

ตารางที่ 41 องค์ประกอบทางเคมีของไม้กระถินเทพา ที่ได้จากการทดลองยืนยันผล ของสถานะที่เหมาะสมการสกัดต่างที่ได้จากวิธีทฤษฎี

สถานะ	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า
ชุดการทดลอง A *	61.45	29.86	3.77	2.15
ชุดการทดลอง B **	57.77	29.59	3.76	6.67

หมายเหตุ : * หมายถึง ชุดการทดลอง B เท่านั้นที่ทำการทดลองใหม่ เพื่อยืนยันผล

** หมายถึง สถานะที่เหมาะสมของชุดการทดลอง A เป็นสถานะเดียวกับชุดการทดลองที่ 7 ในตาราง 5 จึงใช้ค่าองค์ประกอบในตาราง เป็นตัวแทนของชุดการทดลองนี้

ตารางที่ 42 เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริง และที่ได้จากการประมาณค่าซึ่งคำนวณโดยวิธี
ทฤษฎี ของสภาวะการสกัดต่างที่เหมาะสมของไม้กระถินเทพา

ชุดการทดลองเหมาะสม	ค่าจากการทดลอง (เปอร์เซ็นต์)		ค่าประมาณ (เปอร์เซ็นต์)	
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เซลลูโลส	ลิกนิน
ชุดการทดลอง A	61.45	29.86	61.59	-
ชุดการทดลอง B	57.77	29.59	-	29.37

จากตารางที่ 41 และ 42 จะเห็นว่า ค่าสัดส่วนเซลลูโลสที่ได้จากชุดการทดลอง A เท่ากับ 61.54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่า ชุดการทดลอง B ที่มีค่าเท่ากับ 57.77 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ค่าสัดส่วนลิกนินใกล้เคียงกันมาก คือ 29.86 และ 29.59 ของชุดการทดลอง A และ B ตามลำดับ เห็นได้จากตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนินที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทุกพารามิเตอร์ ดังนั้น จึงพิจารณาที่สัดส่วนเซลลูโลส ดังนั้นจึงเลือกที่ชุดการทดลอง A เป็นสภาวะการสกัดต่างในเชื้อไม้กระถินเทพา ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด

ตารางที่ 43 สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้กระถินเทพา ที่ผ่านการฟิรทรีตเมนต์สภาวะเหมาะสมแต่ละขั้นตอน

ขั้นตอนการฟิรทรีตเมนต์	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า
วัตถุดิบเริ่มต้น	46.47	26.44	18.28	0.76
การระบัดด้วยไอน้ำ	44.44	29.33	17.92	0.68
การล้างด้วยน้ำร้อน	51.05	33.8	8	0.4
การสกัดด้วยด่าง	61.45	29.86	3.77	2.15

จากตารางที่ 43 องค์ประกอบทางเคมีของไม้กระถินเทพา เมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยด่าง สภาวะเหมาะสมที่ทำได้โดยวิธีทฤษฎี จากวัตถุดิบเริ่มต้นมีสัดส่วนเซลลูโลส 46.47 เพิ่มขึ้นเป็น 61.45 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคิดเปื้อประสิทธิภาพการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนเซลลูโลส เท่ากับ 24.38 เปอร์เซ็นต์

ด้านสัดส่วนลิกนิน ควรมีค่าลดลง เมื่อผ่านการสกัดด้วยด่าง เทียบกับวัตถุดิบเริ่มต้น กลับพบว่ามีความ
สัดส่วนที่เพิ่มขึ้น คือ จาก 26.44 เป็น 29.86 แต่เมื่อเทียบกับหลังขั้นตอนการล้างด้วยน้ำร้อน ซึ่ง
พบว่ามีความลดลงบ้างเล็กน้อย คือ จาก 33.80 เป็น 29.86 เปอร์เซ็นต์ โดยสัดส่วนลิกนินหลังสกัดด้วย
ด่าง เมื่อเทียบกับวัตถุดิบเริ่มต้น เพิ่มขึ้นนั้น อาจเนื่องมาจาก สัดส่วนเฮมิเซลลูโลสที่ลดลงมาก หลัง
ระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน ทำให้ไปเพิ่มสัดส่วนของลิกนิน อีกทั้งยังไปเพิ่มตรงส่วน
เซลลูโลส ซึ่งลิกนินและเซลลูโลสหลังระเบิดด้วยไอน้ำ แทบจะไม่มีเปลี่ยนแปลง หรือสูญหาย
น้อยมาก จึงทำให้สัดส่วนลิกนิน และเซลลูโลสมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ขั้นตอนแรก แต่หลังจากสกัดด้วย
ด่าง ซึ่งด่างจะเข้าไปทำการแยกโครงสร้างระหว่างลิกนิน และคาร์โบไฮเดรต และเข้าไปทำลาย
โครงสร้างลิกนิน (Fan และคณะ, 1987) ทำให้ลิกนินหลุดออกมากับสารละลายด่างได้ง่าย สัดส่วน
ลิกนินจึงลดลง แต่ที่ลดลงเพียงเล็กน้อยหลังสกัดด้วยด่าง เมื่อเทียบกับสัดส่วนลิกนินหลังระเบิดด้วย
ไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน อาจเนื่องมาจาก ไม่กระดินเทพาเป็นไม้เนื้อแข็งที่มีเส้นใยยาว มีความ
แข็งและความหนาแน่นค่อนข้างสูงเทียบเท่ากับไม้ที่นิยมทำตู้มากที่สุด ในแถบอเมริกาเหนือ อาจ
เนื่องจากการจัดเรียงโครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีมีความซับซ้อน และแน่นหนามาก ด่างจึงเข้าไป
ทำปฏิกิริยากับโครงสร้างลิกนินได้ยากกว่า

4.3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่าง ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อลำต้น ปาล์มที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดไอน้ำตามด้วยการสกัดด้วยน้ำ โดยใช้วิธีทะกุกิ

หลังจากเยื่อถูกนำมาสกัดด้วยด่าง ณ สภาวะต่าง ๆ ภายใต้อุณหภูมิการทดลองทั้ง 9 ชุดการ
ทดลอง ออกแบบการทดลองโดยวิธีทะกุกิ เมื่อนำเยื่อคุณภาพดีสกัดด้วยด่างวิเคราะห์องค์ประกอบ
ทางเคมี ได้ผลดังตารางที่ 44

การวิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้ง 9 ชุดการทดลอง จะอาศัย ค่าสัดส่วนเซลลูโลส สัดส่วน
ลิกนิน เป็นพารามิเตอร์หลัก เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการสกัดด้วยด่าง ต้องการกำจัดลิกนินออก
จากเยื่อเพื่อให้มีสัดส่วนลิกนินต่ำที่สุด และเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสให้มากที่สุด ส่วนค่าสัดส่วนเฮมิ
เซลลูโลสและเถ้า เป็นพารามิเตอร์รอง ซึ่งการวิเคราะห์แบ่งออกเป็นหัวข้อหลักได้ ดังนี้ การหา
อิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อสัดส่วนเซลลูโลสและลิกนิน การหาสภาวะที่เหมาะสมในการ

สกัดด้วยต่าง การประมาณค่าสัดส่วนเซลลูโลส และลิกนิน ที่ได้จากการสกัดด้วยต่างที่สภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ 44 ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ลำต้นปาล์มที่สกัดด้วยต่าง ณ สภาวะที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	องค์ประกอบทางเคมี (%)				
	ลิกนิน	เซลลูโลส	เพนโตแซน	เถ้า	อื่นๆ
1	7.03	79.92	3.04	0.74	9.27
2	7.34	86.67	3	0.62	2.37
3	6.63	87.61	3	0.64	2.12
4	8.82	81.21	2.19	0.89	6.89
5	9.36	84.18	2.27	0.69	4.19
6	8.89	82.31	2.28	0.78	5.74
7	9.68	83.28	1.91	1.06	4.07
8	11.03	84.24	2.08	0.84	1.81
9	9.25	83.08	1.72	0.83	5.01

4.3.3.1 การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อสัดส่วนเซลลูโลส และลิกนินของเยื่อลำต้นปาล์ม

การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีสามารถหาได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยจะแสดงถึงร้อยละอิทธิพลของปัจจัยการทดลอง (Percent contribution) ที่มีผลต่อการสกัดด้วยต่างเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลส ลดสัดส่วนลิกนิน เหมิเซลลูโลส และเถ้า ซึ่งเป็นค่าที่สามารถบอกได้ว่าปัจจัยที่ใช้ในการทดลองใดมีผลต่อการสกัดด้วยต่างบ้าง และมีอิทธิพลมากหรือน้อย นอกจากนี้การวิเคราะห์ความแปรปรวนยังสามารถบอกได้ถึงระดับความเชื่อมั่นของปัจจัยการทดลองที่มีต่อการสกัดด้วยต่าง ได้ผลการวิเคราะห์สรุปดังตารางที่ 45 46 และ 47

ตารางที่ 45 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเซลล์โลส

Factor	DOF	SS	V	F	S'	Percent	Confidence	Significant
						contribution (%)	(%)	
N	2	0.048	0.02	1.076	0.003	0.633	51.83	-
T	2	0.272	0.14	6.08	0.227	42.122	85.88	-
t	2	0.175	0.09	3.904	0.13	33.164	79.61	-
Other Error	2	0.044	0.02			33.164		
Total	8	0.54				100		
<u>หมายเหตุ</u>	N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)					P<0.001	***	
	T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)					P<0.01	**	
	t: เวลาการสกัด (นาทีก)					P<0.05	*	

ตารางที่ 46 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน

Factor	DOF	SS	V	F	S'	Percent	Confidence	Significant
						contribution (%)	(%)	
N	2	15.03	7.51	359.184	14.99	89.037	99.72	**
T	2	1.431	0.72	34.211	1.389	8.255	97.16	*
t	2	0.33	0.17	7.89	0.288	1.712	88.75	-
Other Error	2	0.041	0.02			0.996		
Total	8	16.83				100		
<u>หมายเหตุ</u>	N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)					P<0.001	***	
	T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)					P<0.01	**	
	t: เวลาการสกัด (นาทีก)					P<0.05	*	

ตารางที่ 47 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของเพนโตแซน

Factor	DOF	SS	V	F	S'	Percent	Confidence	Significant
						contribution	(%)	
N	2	21.39	10.7	35.136	20.78	85.702	97.23	*
T	2	0.966	0.48	1.588	0.358	1.477	61.36	-
t	2	0.282	0.64	2.106	0.673	2.777	67.8	-
Other Error	2	0.608	0.3			10.044		
Total	8	24.25				100		
หมายเหตุ								
N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)						P<0.001	***	
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)						P<0.01	**	
t: เวลาการสกัด (นาที)						P<0.05	*	

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจากสัดส่วนเซลล์โลสในตารางที่ 45 พบว่าร้อยละอิทธิพล (percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 0.633, 42.122 และ 24.081% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นเห็นว่าทั้งความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจากสัดส่วนลิกลินในตารางที่ 46 พบว่าร้อยละอิทธิพล (percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 89.037, 8.255 และ 1.712% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นพบว่าปัจจัยความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิ มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.001$ และ $p < 0.05$ ตามลำดับ เวลาไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจากสัดส่วนเพนโตแซนในตารางที่ 47 พบว่าร้อยละอิทธิพล (percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 85.702, 1.47 และ 2.777% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นพบว่าปัจจัยความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ อุณหภูมิ และเวลาไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากปัจจัยในการสกัดด้วยค่าต่าง คือความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา ที่มีผลต่อสัดส่วนของเซลลูโลส และลิกนิน เป็นพารามิเตอร์หลักที่ใช้ในการพิจารณาภาวะที่ดีที่สุดของการสกัดด้วยค่าต่าง พิจารณาจากค่าสัดส่วนเซลลูโลสพบว่าปัจจัยในการสกัดด้วยค่าต่างไม่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาจากค่าสัดส่วนลิกนินพบว่าความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์และอุณหภูมิมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับ

4.3.3.2 การหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยค่าต่างไม้ลำต้นปาล์ม

หลักในการหาสถานะที่เหมาะสมโดยวิธีทะกุกิแบ่งประเภทของการทดลองออกเป็น 3 ประเภท คือ The Smaller is better, The Nominal is better และ The Bigger is better ซึ่งการทดลองนี้จัดอยู่ในทั้งประเภท The Bigger is better (B) และ The Smaller is better (S) โดยต้องการสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุดจึงใช้ประเภท The Bigger is better อีกด้าน ต้องการสัดส่วนลิกนิน เหมิเซลลูโลสต่ำสุด จึงใช้ประเภท The Smaller is better การทดลองครั้งนี้สนใจที่ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด และสัดส่วนลิกนินต่ำสุด จึงต้องหาสถานะที่ให้ค่าสัดส่วนดังกล่าว

นำค่าสัดส่วนเซลลูโลส และสัดส่วนลิกนิน ของทั้ง 9 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ หาค่าอัตราส่วน Signal-to-Noise (S/N-Ratio) เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมต่อการทดลอง ซึ่งสรุปผลได้ดังตารางที่ 48 โดยนำ S/N-Ratio มาคำนวณร้อยละอิทธิพลหลักของปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับการทดลอง ซึ่งสรุปผลดังตารางที่ 49

ตารางที่ 48 สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูโลส ลิกนิน และเพนโตแซน จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของลำต้นปาล์มน้ำมัน

ชุดการทดลอง	สัดส่วนเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนเพนโตแซน (เปอร์เซ็นต์)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N (เดซิเบล)
1	80.64	79.99	79.13	38.052	6.40	7.11	7.58	-16.96	3.13	2.96	3.02	-9.650
2	86.5	86.73	86.78	38.757	7.46	7.20	7.35	-17.311	2.94	3.03	3.02	-9.534
3	87.99	87.63	87.22	38.851	6.75	6.55	6.60	-16.436	2.96	3.03	3.01	-9.543
4	81.84	80.78	81.01	38.191	8.17	8.80	9.48	-18.923	2.12	2.23	2.23	-6.825
5	85.6	85.74	84.87	38.629	9.44	9.15	9.50	-19.43	2.36	2.08	2.38	-7.149
6	82.31	82.67	81.96	38.309	9.00	8.82	8.85	-18.979	2.33	2.17	2.33	-7.151
7	83.2	83.65	82.99	38.41	9.50	9.22	10.33	-19.731	1.95	1.95	1.82	-5.610
8	83.85	84.4	84.47	38.51	11.65	10.72	10.71	-20.856	2.26	2.21	2.38	-7.176
9	82.63	83.31	83.29	38.389	9.18	9.36	9.21	-19.324	2.16	1.63	1.37	-4.866

ตารางที่ 49 อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อลำต้นปาล์ม
น้ำมันที่สกัดด้วยค้างแล้ว

สัดส่วนเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	38.553	38.376	38.436	0.176	18.945
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	38.218	38.632	38.516	0.414	44.564
เวลาการสกัด (นาทีก)	37.118	38.446	38.63	0.339	36.491
สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	-16.902	-19.11	-19.97	3.068	69.208
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	-18.538	-19.199	-18.25	0.953	21.498
เวลาการสกัด (นาทีก)	-18.931	-18.519	-18.53	0.412	9.294
สัดส่วนเฮมิเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	-9.576	-7.041	-5.884	3.692	68.688
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	-7.362	-7.953	-7.187	0.766	14.251
เวลาการสกัด (นาทีก)	-7.992	-7.075	-7.434	0.917	17.06

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเซลลูโลส ดังแสดงในตารางที่ 49 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา

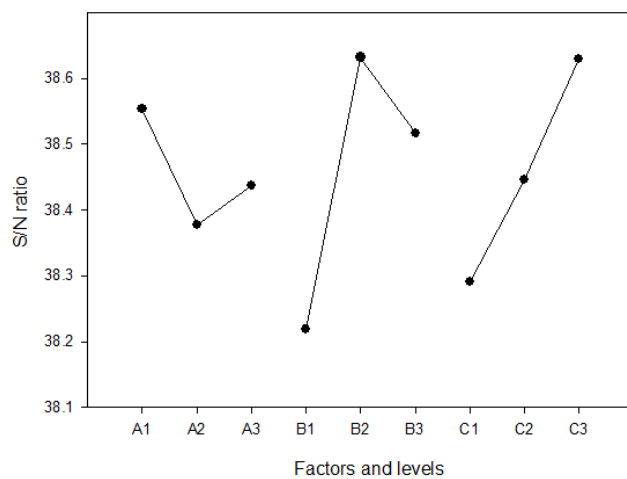
คือ 18.945, 44.564 และ 36.491 ตามลำดับ จากค่าร้อยละอิทธิพลหลักพบว่าไม่มีปัจจัยใดที่มีผลต่อค่าสัดส่วนของเซลล์โลสสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ค่าอิทธิพลหลักที่มีผลมากที่สุดคือ อุณหภูมิในการสกัดแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนลิกนิน ดังแสดงในตารางที่ 49 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 69.208, 21.498 และ 9.294 ตามลำดับ จากร้อยละอิทธิพลหลักพบว่าความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อค่าสัดส่วนลิกนินมากที่สุดสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

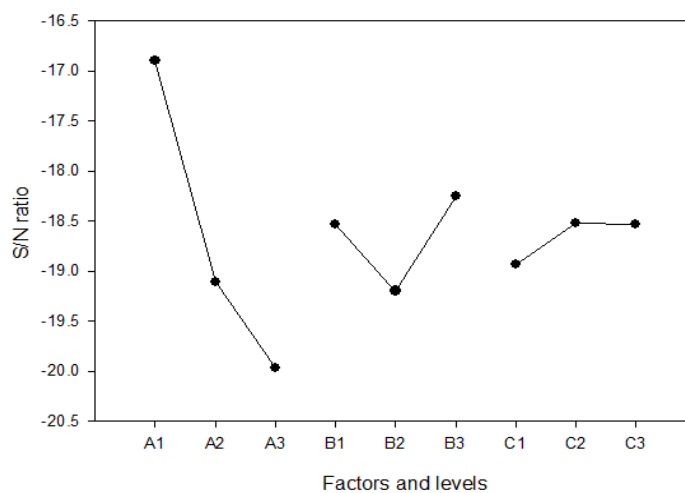
จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเพนโตแซน ดังแสดงในตารางที่ 49 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 68.688, 14.251 และ 17.060 ตามลำดับ จากร้อยละอิทธิพลหลักพบว่าความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อค่าสัดส่วนเพนโตแซนมากที่สุดสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก เมื่อพิจารณาที่พารามิเตอร์หลัก คือ ค่าสัดส่วนเซลล์โลสและลิกนิน พบว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่ามากที่สุด รองลงมาคือ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

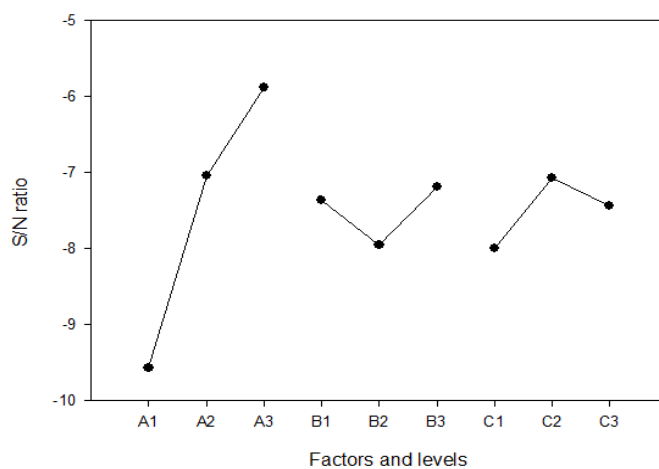
นำอัตราส่วน S/N ตามตารางที่ 48 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วน S/N กับปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับของปัจจัยของการทดลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยค่า เพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลล์โลส และลดสัดส่วนลิกนินในเชื้อไม้ลำต้นปาล์ม ได้ผลดังภาพ 16, 17, และ 18



ภาพที่ 16 ค่าอัตราส่วนของปัจจัยต่างๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลล์โลส



ภาพที่ 17 ค่าอัตราส่วนของปัจจัยต่างๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน



ภาพที่ 18 ค่าอัตราส่วนของปัจจัยต่างๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเพนโตแซน

ตารางที่ 50 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยค่าที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนคำนวณโดยวิธีทฤษฎี

ปัจจัยการทดลอง	ระดับการทดลอง	สภาวะ
ชุดการทดลอง A		
N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	1	15
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	2	80
t: เวลาการสกัด (นาทีก)	3	90
ชุดการทดลอง B		
N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	1	15
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	3	90
t: เวลาการสกัด (นาทีก)	2	60

หมายเหตุ: ชุดการทดลอง A คือ สภาวะการสกัดด้วยค่าที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุดของลำต้นปาล์มน้ำมัน

ชุดการทดลอง B คือ สภาวะการสกัดด้วยค่าที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุดของลำต้นปาล์มน้ำมัน

จากตารางที่ 50 สรุปสภาวะที่ดีที่สุดโดยการคำนวณด้วยวิธีทฤษฎีชุดการทดลอง A ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสที่มากที่สุด คือ 88.125 % โดยใช้สภาวะในการสกัดด้วยค่าความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์, อุณหภูมิ และเวลา คือ 15%, 80 องศาเซลเซียส และ 90 นาที ตามลำดับ ชุดการทดลอง B ให้ค่าสัดส่วนลิกนินน้อยที่สุด คือ 6.567 % โดยใช้สภาวะในการสกัดด้วยค่าความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์, อุณหภูมิ และเวลา คือ 15%, 90 องศาเซลเซียส และ 60 นาที ตามลำดับ โดยทำยืนยันผลการทดลองดังตารางที่ 51

ตารางที่ 51 องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมันจากการทดลองยืนยันผลของชุดการทดลอง A และ B โดยวิธีหะกุจิ

สภาวะ	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า
ชุดการทดลอง A*	87.89	7.53	1.29	1.29
ชุดการทดลอง B**	87.14	6.13	1.4	1.4

ตารางที่ 52 เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองและจากการประมาณค่าโดยวิธีหะกุจิ

ชุดการทดลอง	ค่าจากการทดลอง (เปอร์เซ็นต์)		ค่าประมาณ (เปอร์เซ็นต์)	
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เซลลูโลส	ลิกนิน
ชุดการทดลอง A	87.89	7.53	88.12	-
ชุดการทดลอง B	87.14	6.13	-	6.57

จากตารางที่ 51 พบว่าสัดส่วนของเซลลูโลสในชุดการทดลอง A และ B คือ 87.89 และ 87.14 %ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ในตารางที่ 49 พบว่าทั้งความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสัดส่วนของลิกนินในชุดการทดลอง A และ B คือ 7.53 และ 6.13% ตามลำดับ โดยความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์และอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงเลือกชุดการทดลอง B เป็นสภาวะที่ใช้ในการสกัดด้วยค่าในการเพิ่มสัดส่วนของเซลลูโลสและลดสัดส่วนของลิกนินเพื่อการผลิตเอทานอล

ตารางที่ 53 สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมันที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ในสถานะที่เหมาะสม

ขั้นตอน	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า
การพรีทรีตเมนต์				
วัตถุดิบเริ่มต้น	40.83	21.64	29.53	2.40
การระเบิดด้วยไอน้ำ	38.14	28.94	9.16	3.99
การล้างด้วยน้ำร้อน	58.83	27.12	4.03	0.34
การสกัดด้วยด่าง	87.14	6.13	1.40	1.40

จากตารางที่ 53 พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นปาล์มน้ำมันมีการเปลี่ยนแปลงจากวัตถุดิบ เมื่อผ่านการพรีทรีตเมนต์ในขั้นตอนการระเบิดด้วยไอน้ำ การล้างด้วยน้ำร้อน และการสกัดด้วยด่าง โดยสัดส่วนเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจาก 40.83 เป็น 87.14% สัดส่วนลิกนินลดลงจาก 21.64 เป็น 6.13% เพนโตแซนลดลงจาก 29.53 เป็น 1.40% คิดเป็นประสิทธิภาพการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนเซลลูโลส การลดลงของสัดส่วนลิกนินและเพนโตแซนเท่ากับ 53.14, 71.67 และ 95.26% ตามลำดับ จากสัดส่วนเซลลูโลส 87.14% แสดงให้เห็นว่าลำต้นปาล์มน้ำมันจัดเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการใช้เป็นสับสเตรทสำหรับการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลส

4.3.4 การหาสถานะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยด่าง ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อทางใบปาล์มที่ผ่านขั้นตอนการระเบิดไอน้ำตามด้วยการสกัดด้วยน้ำ โดยใช้วิธีหะกุจิ

หลังจากเยื่อถูกนำมาสกัดด้วยด่าง ณ สถานะต่าง ๆ ภายใต้อุณหภูมิการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ออกแบบการทดลองโดยวิธีหะกุจิ เมื่อนำเยื่อคุณภาพดีสกัดด้วยด่างวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้ผลดังตารางที่ 54

ตารางที่ 54 ค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของไม้ทางใบปาล์มที่สกัดด้วยต่าง ณ สภาวะที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)				
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า	อื่นๆ
1	78.8	16.21	3.59	1.29	0.11
2	80.74	17.07	3.13	1.21	-
3	77.79	16.31	3.83	1.24	0.83
4	74.88	20.4	2.8	1.7	0.22
5	74.16	20.07	2.9	1.59	1.28
6	79.58	19.97	2.8	1.3	-
7	68.45	19.55	2.58	1.77	7.65
8	56.8	21.46	2.76	1.59	17.39
9	71.07	21.13	1.99	1.51	4.3

การวิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ทั้ง 9 ชุดการทดลอง จะอาศัย ค่าสัดส่วนเซลลูโลส สัดส่วนลิกนิน เป็นพารามิเตอร์หลัก เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการสกัดด้วยต่าง ต้องการกำจัดลิกนินออกจากเยื่อเพื่อให้มีสัดส่วนลิกนินต่ำที่สุด และเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสให้มากที่สุด ส่วนค่าสัดส่วนเฮมิเซลลูโลสและเถ้า เป็นพารามิเตอร์รอง ซึ่งการวิเคราะห์แบ่งออกเป็นหัวข้อหลักได้ ดังนี้ การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อสัดส่วนเซลลูโลสและลิกนิน การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยต่าง การประมาณค่าสัดส่วนเซลลูโลส และลิกนิน ที่ได้จากการสกัดด้วยต่างที่สภาวะที่เหมาะสม

4.3.4.1 การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อสัดส่วนเซลลูโลส และลิกนินของเยื่อทางใบปาล์ม

การหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีสามารถหาได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยจะแสดงถึงร้อยละอิทธิพลของปัจจัยการทดลอง (Percent contribution) ที่มีผลต่อการสกัดด้วยต่างเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลส ลดสัดส่วนลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นค่าที่สามารถบอกได้ว่าปัจจัยที่ใช้ในการทดลองใดมีผลต่อการสกัดด้วยต่างบ้าง และมีอิทธิพลมากหรือน้อย นอกจากนี้การวิเคราะห์ความแปรปรวนยังสามารถบอกได้ถึงระดับ

ความเชื่อมั่นของปัจจัยการทดลองที่มีต่อการสกัดด้วยค่า α ได้ผลการวิเคราะห์สรุปดังตารางที่ 55, 56 และ 57

ตารางที่ 55 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนเซลล์โลส

Factor	DOF	SS	V	F	S'	Percent	Confidence	Significant
						contribution		
						(%)	(%)	
N	2	5.333	2.67	3.779	3.921	50.706	79.0751	-
T	2	0.451	0.23	0.32	0	0	24.2424	-
t	2	0.538	0.27	0.381	0	0	27.5887	-
Other Error	2	1.41	0.71			49.294		
Total	8	7.734				100		
หมายเหตุ	N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)					P<0.001	***	
	T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)					P<0.01	**	
	t: เวลาการสกัด (นาทีก)					P<0.05	*	

ตารางที่ 56 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของค่าสัดส่วนลิกนิน

Factor	DOF	SS	V	F	S'	Percent	Confidence	Significant
						contribution		
						(%)	(%)	
N	2	6.924	3.46	136.542	6.874	92.301	99.273	**
T	2	0.238	0.12	4.703	0.187	2.522	82.465	-
t	2	0.233	0.12	4.601	0.182	2.452	82.146	-
Other Error	2	0.05	0.03			2.725		
Total	8	7.447				100		
หมายเหตุ	N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)					P<0.001	***	
	T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)					P<0.01	**	
	t: เวลาการสกัด (นาทีก)					P<0.05	*	

ตารางที่ 57 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของเพนโตแซน

Factor	DOF	SS	V	F	S'	Percent	Confidence	Significant
						contribution	(%)	
N	2	15.71	7.85	8.624	13.88	63.469	89.6093	-
T	2	0.547	0.27	0.3	0	0	23.0769	-
t	2	3.801	1.9	2.087	1.98	9.052	67.6061	-
Other Error	2	1.82	0.91			27.479		
Total	8	21.88				100		
หมายเหตุ								
N: ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)						P<0.001	***	
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)						P<0.01	**	
t: เวลาการสกัด (นาที)						P<0.05	*	

ผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยอาศัยค่าสัดส่วนเซลล์โลส จากตารางที่ 55 พบว่า ร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 50.706 ส่วนอุณหภูมิการสกัดและเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่ไม่มีค่าร้อยละอิทธิพลเลย เท่ากับ 0 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่าปัจจัยความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ การสกัด และเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ด้านผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนลูกนิน จากตารางที่ 56พบว่า ร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 92.301 รองลงมาคือ อุณหภูมิการสกัด เท่ากับ 2.522 ส่วนเวลาการสกัดเป็นปัจจัยมีค่าร้อยละอิทธิพล น้อยสุด เท่ากับ 2.452 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่าปัจจัยความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$ ส่วนอุณหภูมิ และเวลาในการสกัดเป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สุดท้ายผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนเพนโตแซน จากตาราง ที่ 57 พบว่าพบว่า ร้อยละอิทธิพล (Percent contribution) ของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่า มากที่สุด เท่ากับ 63.469 รองลงมาคือ เวลาการสกัด เท่ากับ 9.052 ส่วนอุณหภูมิการสกัดเป็นปัจจัยที่

ไม่มีค่าร้อยละอิทธิพล เท่ากับ 0 และเมื่อพิจารณาจากระดับความเชื่อมั่นจะเห็นว่า ทั้งสามปัจจัยคือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัด เป็นปัจจัยที่ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เหมือนกับผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยพิจารณาค่าสัดส่วนเซลล์โลส

จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน สามารถสรุปได้ว่า เมื่อพิจารณาจากค่าสัดส่วนเซลล์โลสพบว่าปัจจัยทั้งสาม คือความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัด ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลล์โลสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านค่าสัดส่วนของลิกนิน พบว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีอิทธิพลมากที่สุดต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อลดสัดส่วนลิกนิน ส่วนอุณหภูมิและเวลาในการสกัด ไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญ สุดท้ายค่าสัดส่วนเพนโตแซน ปัจจัยทั้งสามไม่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าอย่างมีนัยสำคัญ และไม่ใช่ว่าพารามิเตอร์หลักในการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยค่า จึงไม่นำผลการวิเคราะห์ของค่าสัดส่วนเพนโตแซนมาใช้พิจารณา ดังนั้น จึงใช้เพียงค่าสัดส่วนเซลล์โลสและลิกนินในการพิจารณาหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดด้วยค่า ในขั้นต่อไป

4.3.4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยค่า ไม้ทางใบปาล์ม

หลักในการหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธีทะกุกิแบ่งประเภทของการทดลองออกเป็น 3 ประเภท คือ The Smaller is better, The Nominal is better และ The Bigger is better ซึ่งการทดลองนี้จัดอยู่ในทั้งประเภท The Bigger is better (B) และ The Smaller is better (S) โดยต้องการสัดส่วนเซลล์โลสสูงสุดจึงใช้ประเภท The Bigger is better อีกด้าน ต้องการสัดส่วนลิกนิน เหมิเซลล์โลสต่ำสุด จึงใช้ประเภท The Smaller is better การทดลองครั้งนี้สนใจที่ค่าสัดส่วนเซลล์โลสสูงสุด และสัดส่วนลิกนินต่ำสุด จึงต้องหาสภาวะที่ให้ค่าสัดส่วนดังกล่าว

นำค่าสัดส่วนเซลล์โลส และสัดส่วนลิกนิน ของทั้ง 9 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ หาค่าอัตราส่วน Signal-to-Noise (S/N-Ratio) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทดลอง ซึ่งสรุปผลได้ดังตารางที่ 53 โดยนำ S/N-Ratio มาคำนวณร้อยละอิทธิพลหลักของปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับการทดลอง ซึ่งสรุปผลดังตารางที่ 58

ตารางที่ 58 สรุปค่าสัดส่วน S/N ของค่าสัดส่วนเซลลูลอส ลิกนิน และเพนโตแซน จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง ของทางใบปาล์ม

ชุดการ ทดลอง	สัดส่วนเซลลูลอส (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)				สัดส่วนเพนโตแซน (เปอร์เซ็นต์)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	อัตราส่วน S/N
1	78.549	78.939	79.026	37.934	16.083	16.071	16.463	-24.194	3.697	3.372	3.718	-11.125
2	81.103	80.365	80.752	38.141	18.69	16.441	16.09	-24.667	3.126	3.107	3.164	-9.918
3	76.393	78.824	78.16	37.816	16.262	16.431	16.249	-24.252	3.433	3.636	4.405	-11.704
4	75.074	74.703	74.849	37.486	20.64	21.681	18.872	-24.206	2.934	2.642	2.882	-9.012
5	74.58	94.114	73.733	37.989	20.815	22.688	16.719	-26.12	2.871	2.816	3.014	-9.253
6	79.247	78.885	80.596	38.014	18.468	18.8888	22.55	-26.044	2.909	2.647	2.85	-8.957
7	68.094	67.54	69.708	36.704	19.379	18.863	20.412	-25.829	2.575	2.496	2.682	-8.251
8	57.454	54.863	58.094	35.079	21.252	20.724	22.405	-26.638	2.791	2.686	2.805	-8.822
9	72.851	68.053	72.297	37.021	19.836	21.983	21.56	-26.505	1.991	1.95	2.042	-5.998

ตารางที่ 59 อิทธิพลหลักของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อทางใบปาล์มที่สกัดด้วยค้างแล้ว

สัดส่วนเซลลูโลส (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	37.964	37.83	36.268	1.696	60.941
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	37.375	37.07	37.617	0.547	19.655
เวลาการสกัด (นาทีก)	37.009	37.549	37.503	0.54	19.404

สัดส่วนลิกนิน (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	-24.371	-26.123	26.324	1.953	71.173
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	-25.41	-25.808	-25.6	0.398	14.503
เวลาการสกัด (นาทีก)	-25.625	-25.793	-25.4	0.393	14.322

สัดส่วนเพนโตแซน (เปอร์เซ็นต์)					
ปัจจัย	ระดับ			ค่าอิทธิพลหลัก	ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก
	1	2	3		
ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	-10.916	-9.074	-7.691	3.225	61.675
อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	-9.463	-9.331	-8.886	0.577	11.035
เวลาการสกัด (นาทีก)	-9.635	-8.309	-9.736	1.427	27.29

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเซลลูโลส จากตารางที่ 59 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 60.941,

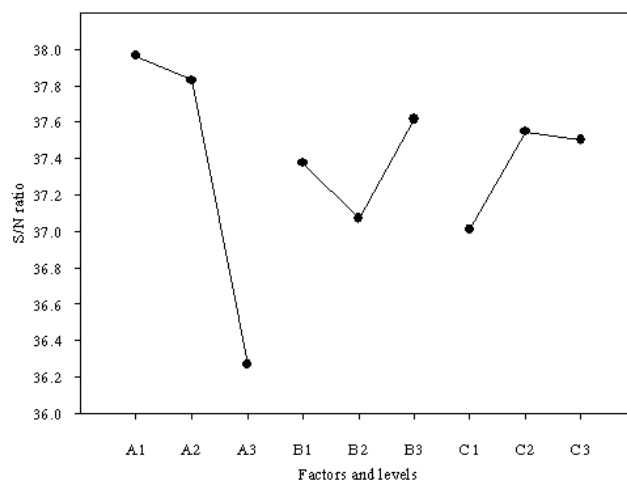
19.655 และ 19.404 ตามลำดับ จากค่าร้อยละอิทธิพลหลักพบว่าไม่มีปัจจัยใดที่มีผลต่อค่าสัดส่วนของเซลลูโลสสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แต่ค่าอิทธิพลหลักที่มีผลมากที่สุดคือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนลิกนิน จากตารางที่ 59 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 71.173, 14.503 และ 14.322 ตามลำดับจากค่าร้อยละอิทธิพลดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่าเพื่อลดค่าสัดส่วนลิกนิน มากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ดังที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

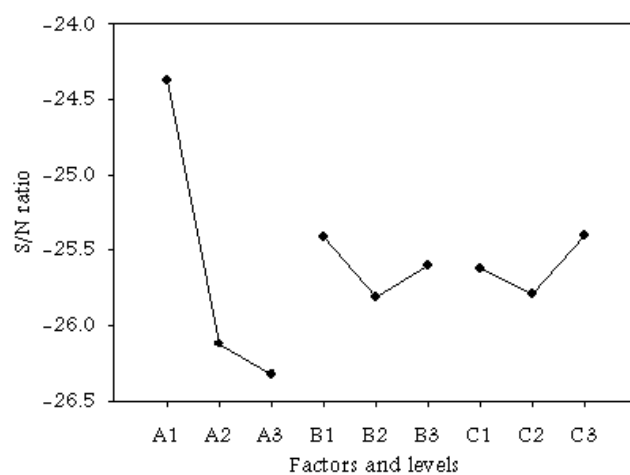
ผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก โดยอาศัยค่าสัดส่วนเพนโตแซน จากตารางที่ 59 พบว่าค่าร้อยละอิทธิพลหลักของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา คือ 61.675, 11.035 และ 27.29 ตามลำดับ จากค่าร้อยละอิทธิพลหลักพบว่าไม่มีปัจจัยใดที่มีผลต่อค่าสัดส่วนของเพนโตแซนซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แต่ค่าอิทธิพลหลักที่มีผลมากที่สุดคือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละอิทธิพลหลัก เมื่อพิจารณาที่พารามิเตอร์หลัก คือ ค่าสัดส่วนเซลลูโลสและลิกนิน พบว่าความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดด้วยค่ามากที่สุด ส่วนอุณหภูมิและเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดค่าไม่แตกต่างกัน

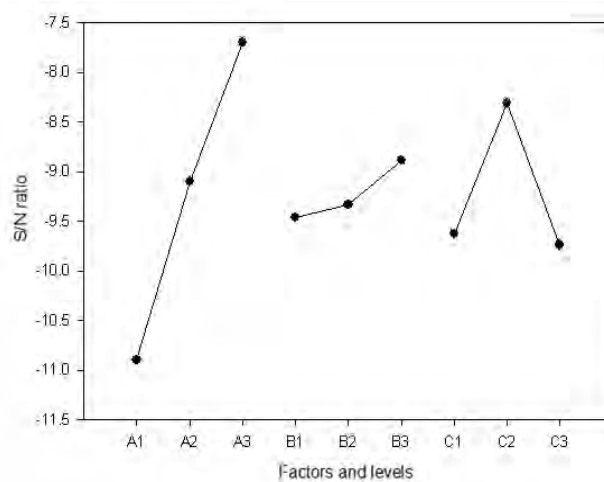
นำอัตราส่วน S/N ตามตารางที่ 58 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วน S/N กับปัจจัยของการทดลองในแต่ละระดับของปัจจัยของการทดลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยค่า เพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลส และลดสัดส่วนลิกนินในเยื่อไม้ลำต้นปาล์ม ได้ผลดังภาพที่ 19, 20, และ 21



ภาพที่ 19 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเซลล์โลส



ภาพที่ 20 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนลิกนิน



ภาพที่ 21 ค่าอัตราส่วน S/N ของปัจจัยต่าง ๆ ในแต่ละระดับที่มีผลต่อสัดส่วนเพนโตแซน

จากภาพที่ 19-21 สามารถพิจารณาระดับของแต่ละปัจจัยที่ให้อัตราส่วน S/N สูงสุด ซึ่งสรุปเป็นสถานะที่เหมาะสม 3 สถานะที่แตกต่างกัน คือ สถานะที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด สถานะที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุด และสถานะที่ให้ค่าสัดส่วนเพนโตแซนต่ำสุด แต่เนื่องจากเชื้อไม้ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำยังคงมีค่าสัดส่วนลิกนินที่สูง ดังนั้นวัตถุประสงค์หลักของการสกัดด้วยค่าเพื่อกำจัดลิกนินและเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสในเชื้อไม้ ที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว การหาสถานะการสกัดด้วยค่าที่ดีที่สุด จึงควรมีเพียงสถานะเดียว ดังนั้นในการพิจารณา จึงใช้พารามิเตอร์หลักคือ ค่าสัดส่วนเซลลูโลส และค่าสัดส่วนลิกนิน

ตารางที่ 60 สรุปสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยค่า เพื่อเพิ่มค่าสัดส่วนเซลลูโลสและลดค่าสัดส่วนลิกนินในเชื้อทางไบโอปาล์มที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำและสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว ผ่านการคำนวณโดยวิธีทฤษฎี

ปัจจัยการทดลอง	ระดับการทดลอง	สถานะ
ชุดการทดลอง A		
N: ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	1	15
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	3	90
t: เวลาการสกัด (นาที)	2	60
ชุดการทดลอง B		
N: ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	1	15
T: อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	1	70
t: เวลาการสกัด (นาที)	3	90

หมายเหตุ: ชุดการทดลอง A คือ สถานะการสกัดด้วยค่าที่ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุดของทางไบโอปาล์ม ชุดการทดลอง

B คือ สถานะการสกัดด้วยค่าที่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินต่ำสุดของทางไบโอปาล์ม

จากตารางที่ 60 สรุปสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยค่าที่ได้จากการคำนวณโดยวิธีทฤษฎี ชุดการทดลอง A ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสที่มากที่สุด โดยใช้สถานะในการสกัดด้วยค่า ความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์, อุณหภูมิ และเวลา คือ 15%, 90 องศาเซลเซียส และ 60 นาที ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลอง B ให้ค่าสัดส่วนลิกนินน้อยที่สุด โดยใช้สถานะในการสกัดด้วยค่า ความเข้มข้น

โซเดียมไฮดรอกไซด์, อุณหภูมิ และเวลา คือ 15%, 70 องศาเซลเซียส และ 90 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำสภาวะการสกัดที่ได้จากการคำนวณโดยวิธีหะกุจิมาทำการทดลองยืนยันผลเพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จริงจากสภาวะข้างต้นดังแสดงในตารางที่ 61

ตารางที่ 61 องค์ประกอบทางเคมีทางใบปาล์มจากการทดลองยืนยันผลของชุดการทดลอง A และ B ในการสกัดที่ได้จากวิธีหะกุจิ

สภาวะ	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เพนโตแซน	เถ้า
ชุดการทดลอง A*	80.74	15.99	3.17	1.0507
ชุดการทดลอง B**	74.57	15.14	3.65	1.6293

ตารางที่ 62 เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริง และที่ได้จากการประมาณค่าซึ่งคำนวณโดยวิธีหะกุจิ ของสภาวะการสกัดที่เหมาะสมของทางใบปาล์ม

ชุดการทดลองเหมาะสม	ค่าจากการทดลอง (เปอร์เซ็นต์)		ค่าประมาณ (เปอร์เซ็นต์)	
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เซลลูโลส	ลิกนิน
ชุดการทดลอง A	80.74	15.99	83.378	-
ชุดการทดลอง B	74.57	15.14	-	15.792

จากตารางที่ 62 จะเห็นว่า ค่าสัดส่วนเซลลูโลสที่ได้จากชุดการทดลอง A เท่ากับ 80.74 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่า ชุดการทดลอง B ที่มีค่าเท่ากับ 74.57 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ค่าสัดส่วนลิกนินมีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับค่าสัดส่วนของเซลลูโลส คือ 15.99 เปอร์เซ็นต์ และ 15.14 เปอร์เซ็นต์ของชุดการทดลอง A และ B ตามลำดับ จากผลการทดลองจึงพิจารณาค่าสัดส่วนเซลลูโลส เนื่องจากชุดการทดลอง A ให้ค่าสัดส่วนเซลลูโลสสูงกว่าชุดการทดลอง B แต่ให้ค่าสัดส่วนลิกนินแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดการทดลอง B ดังนั้นจึงเลือกชุดการทดลอง A (ความเข้มข้นโซเดียม 15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที) เป็นสภาวะการสกัดต่าง ในเชื้อทางใบปาล์ม ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มสัดส่วนเซลลูโลสสูงสุด

ตารางที่ 63 สรุปค่าสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของทางใบปาล์ม ที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์สภาวะเหมาะสมแต่ละขั้นตอน

ขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส	เถ้า
วัตถุดิบเริ่มต้น	42.46	15.63	28.27	1.82
การระเบิดด้วยไอน้ำ	36.17	30.2	7.36	5.48
การล้างด้วยน้ำร้อน	47.87	35.28	6.02	1.44
การสกัดด้วยด่าง	80.74	15.99	3.47	1.05

จากตารางที่ 63 องค์ประกอบทางเคมีของทางใบปาล์ม เมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยด่าง สภาวะเหมาะสมที่หาได้โดยวิธีทฤษฎี จากวัตถุดิบเริ่มต้นมีสัดส่วนเซลลูโลส 42.46 เพิ่มขึ้นเป็น 80.74 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคิดเปรี๊ยะสิทธิภาพการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนเซลลูโลส เท่ากับ 48.79 เปอร์เซ็นต์ ด้านสัดส่วนลิกนิน ควรมีค่าลดลง เมื่อผ่านการสกัดด้วยด่างเทียบกับวัตถุดิบเริ่มต้น กลับพบว่ามีค่าสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น คือ จาก 15.63 เป็น 15.99 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเทียบกับหลังขั้นตอนการล้างด้วยน้ำร้อนพบว่ามีค่าสัดส่วนลดลง คือ จาก 35.28 เป็น 15.99 เปอร์เซ็นต์ โดยสัดส่วนลิกนินหลังสกัดด้วยด่าง เมื่อเทียบกับวัตถุดิบเริ่มต้น เพิ่มขึ้นนั้น อาจเนื่องมาจาก สัดส่วนเพนโตแซนที่ลดลงมาก หลังระเบิดด้วยไอน้ำและล้างด้วยน้ำร้อน ทำให้ไปเพิ่มสัดส่วนของลิกนิน

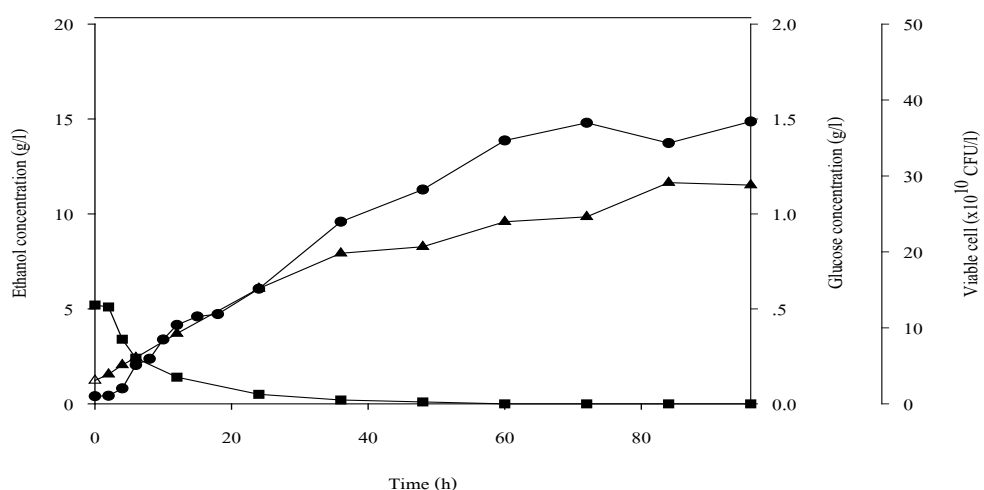
4.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิ และปริมาณเชื้อไมยคาลิปดัส ลำต้นปาล์ม และทางใบปาล์ม ในการผลิตเอทานอล ด้วยการย่อยเป็นน้ำตาลและการหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

4.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยการย่อยเป็นน้ำตาล และหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) ของเชื้อไมยคาลิปดัส

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไมยคาลิปดัสที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน

30 นาที และสกัดด้วยต่าง (โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าสัดส่วนเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเท่ากับ 60.91, 1.24 และ 20.66 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งตามลำดับ

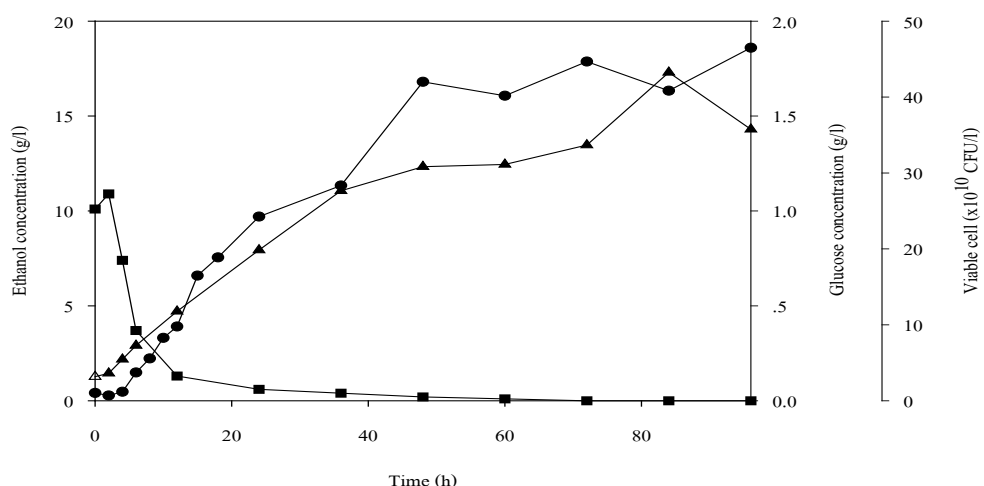
การผลิตเอทานอลจากไม้อยูคาลิปตัสที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว โดยใช้เอนไซม์ Celluclast 1.5L และ Novozym 188 กับยีสต์ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน โดยแปรผันอุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร สามารถสรุปผลแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต กับเวลาของการหมัก ดังภาพที่ 22 ถึง 30



ภาพที่ 22 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไม้อยูคาลิปตัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ตามลำดับ)

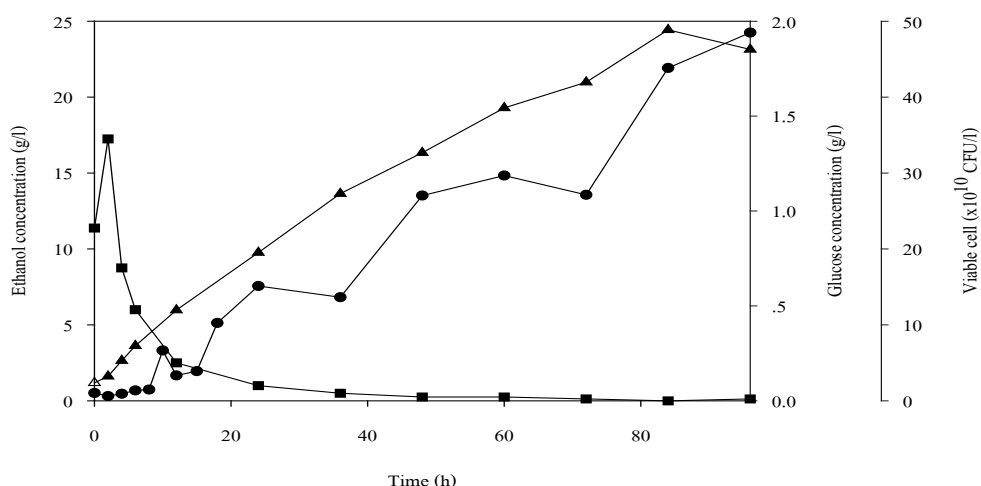
จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 22 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงแรกเซลล์อยู่ในช่วงระยะของการปรับตัว โดยมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ และเอทานอลเล็กน้อย ขณะเดียวกันเอนไซม์สามารถทำงานได้น้อยที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากมีอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 50 องศาเซลเซียส ประกอบกับเซลล์นำกลูโคสที่มีอยู่ไปใช้ ส่งผลให้ความเข้มข้นกลูโคสไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เซลล์และเอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่

สภาวะคงตัวที่ชั่วโมงที่ 60 และน้ำตาลกลูโคสลดลงจนมีค่าเป็นศูนย์ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 11.52 กรัมต่อลิตร และ 3.72×10^{11} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ



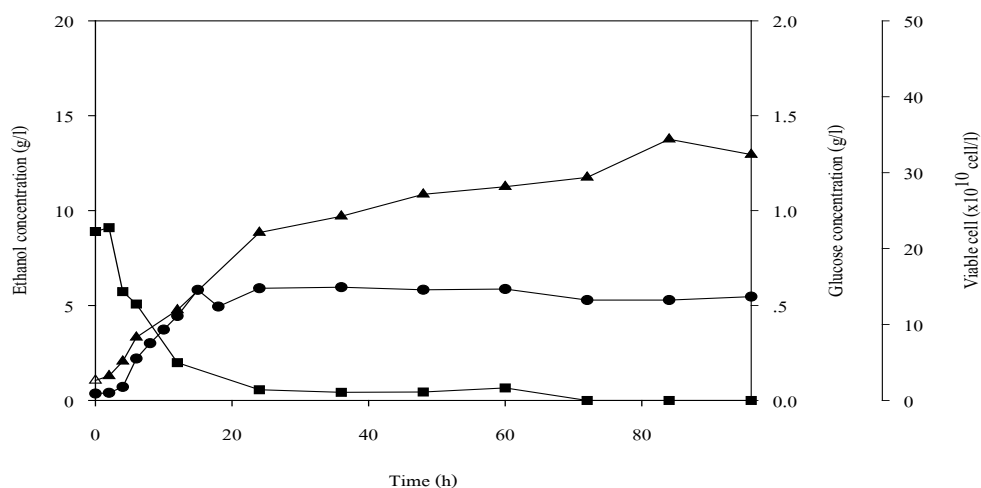
ภาพที่ 23 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

การผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 23 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงแรกเซลล์อยู่ในช่วงระยะของการปรับตัว โดยมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ และเอทานอลเล็กน้อย ขณะเดียวกันเอนไซม์สามารถทำงานได้น้อยที่อุณหภูมิต่ำ ประกอบกับเซลล์นำกลูโคสที่มีอยู่ไปใช้ ส่งผลให้ความเข้มข้นกลูโคสเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เซลล์และเอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวที่ชั่วโมงที่ 48 และไม่พบน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 60 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่ามีความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0.01, 23.14 กรัมต่อลิตร และ 4.65×10^{11} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ



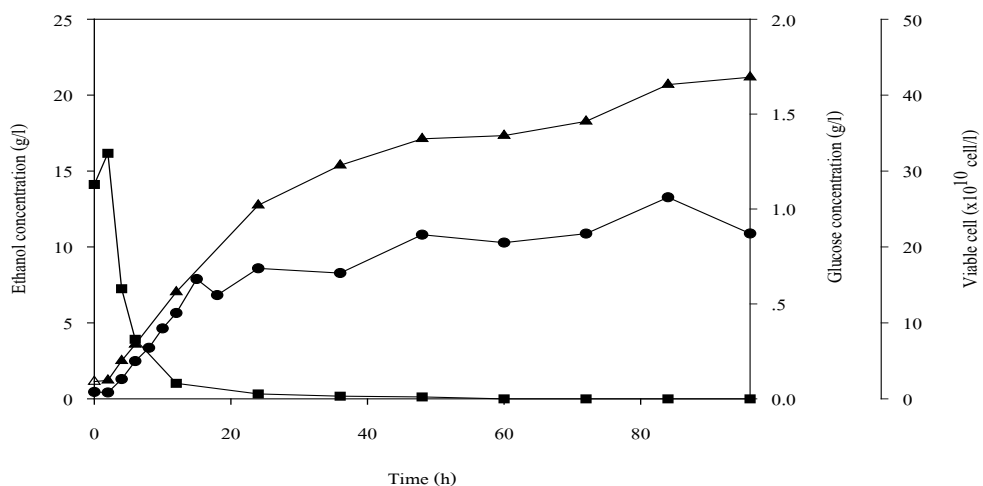
ภาพที่ 24 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 24 เมื่อเริ่มต้นการหมักเซลล์อยู่ในช่วงระยะปรับตัว ขณะเดียวกันเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสส่งผลให้มีความเข้มข้นกลูโคสเพิ่มขึ้น เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 4 กลูโคสเริ่มลดลงอย่างรวดเร็ว และเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยจำนวนเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงมาก เนื่องจากการใช้ปริมาณเชื้อสูง ทำให้มีส่วนที่เป็นของเหลวน้อย และยากต่อการเขย่า รวมทั้งการหมักที่อุณหภูมิต่ำ เอนไซม์มีกิจกรรมต่ำด้วย ส่งผลให้ย่อยเซลลูโลสได้น้อย ขึ้นส่วนของเชื้อจึงลดขนาดลงได้น้อย ยากต่อการเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และกลูโคสที่ลดลงอย่างรวดเร็ว แสดงถึงเซลล์ยังคงมีการใช้กลูโคสในการเจริญเติบโต และผลิตเอทานอลอย่างต่อเนื่อง เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0.01, 23.14 กรัมต่อลิตร และ 4.85×10^{11} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ



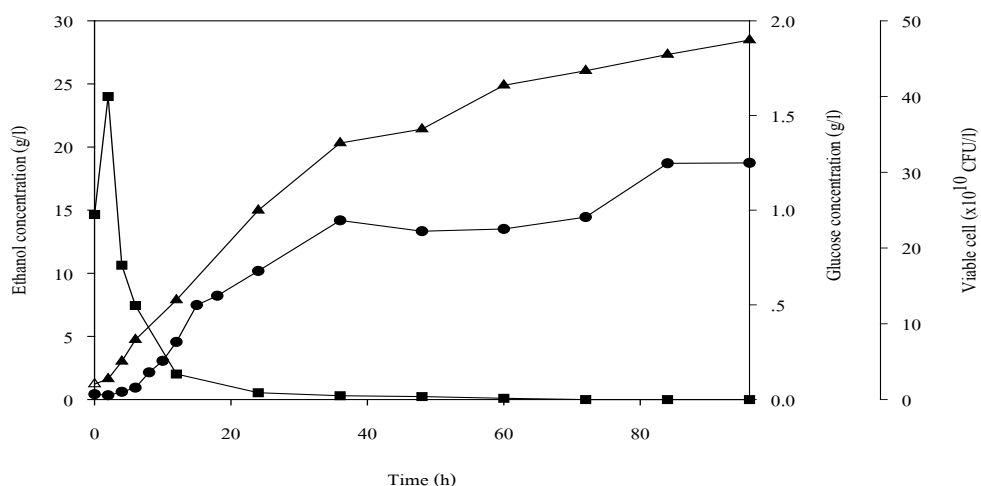
ภาพที่ 25 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

ภาพที่ 25 แสดงการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ใน 2 ชั่วโมงเซลล์อยู่ในช่วงระยะของการปรับตัว โดยมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ และเอทานอลเล็กน้อย ขณะเดียวกันเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคส และเซลล์นำไปใช้ ส่งผลให้ความกลูโคสเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เซลล์และเอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวที่ชั่วโมงที่ 24 และไม่พบน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 72 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 12.95 กรัมต่อลิตร และ 1.37×10^{11} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ



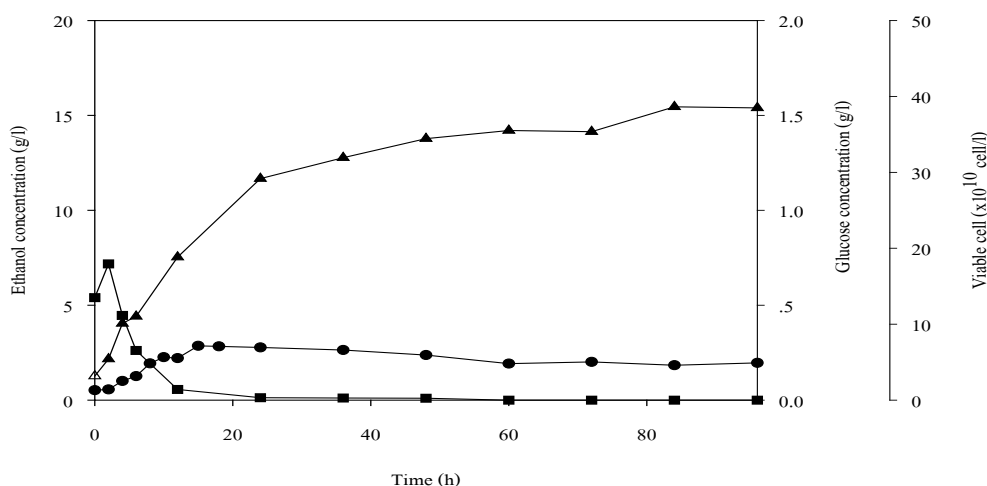
ภาพที่26 การผลิตเอทานอลจากเยื่อไม้ยูคาลิปตัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 26 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงเซลล์อยู่ในช่วงระยะของการปรับตัว โดยมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ และเอทานอลเล็กน้อย ขณะเดียวกันเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคส และเซลล์นำไปใช้ ส่งผลให้ความกลูโคสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เซลล์และเอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวที่ชั่วโมงที่ 18 และไม่พบน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 60 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 21.8 กรัมต่อลิตร และ 2.18×10^{11} เซลล์ต่อลิตรตามลำดับ



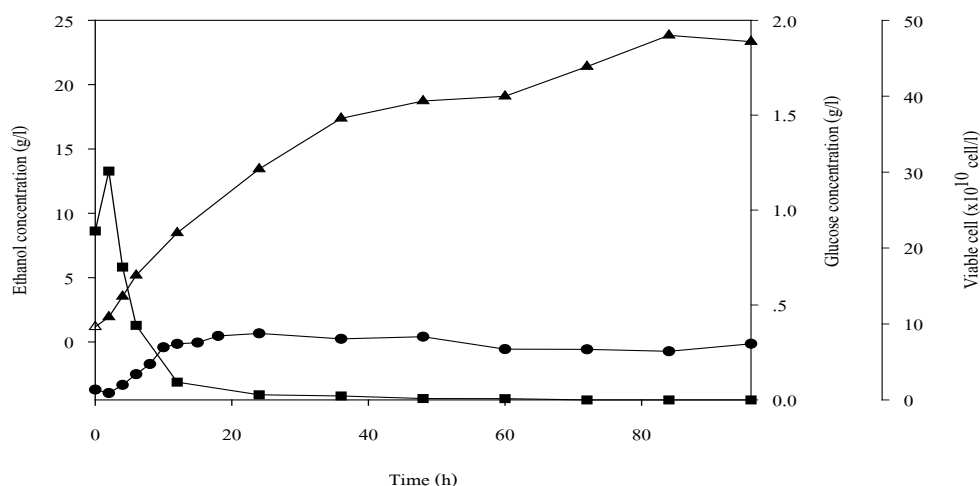
ภาพที่ 27 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไม้อยูคาลิปัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲, ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และและจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 27 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงเซลล์อยู่ในช่วงระยะของการปรับตัว โดยมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ และเอทานอลเล็กน้อย ขณะเดียวกันเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคส และเซลล์นำไปใช้ ส่งผลให้ความกลูโคสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวที่ชั่วโมงที่ 24 และไม่พบน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 60 แสดงถึงเอนไซม์ยังคงมีกิจกรรมอยู่ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 28.47 กรัมต่อลิตร และ 3.12×10^{11} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ



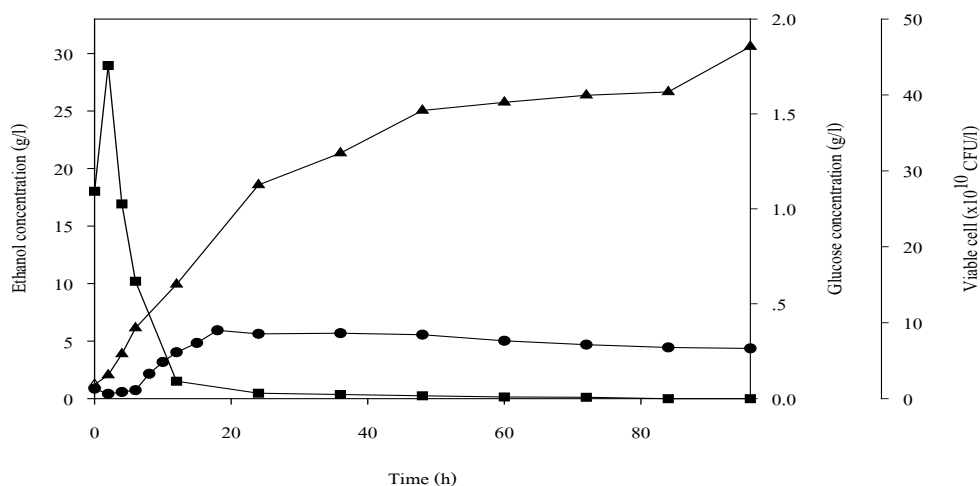
ภาพที่ 28 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปัสต์โดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲, ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 28 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงเซลล์อยู่ในช่วงระยะของการปรับตัว โดยมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ และเอทานอลเล็กน้อย ขณะเดียวกันเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคส และเซลล์นำไปใช้ ส่งผลให้ความเข้มข้นกลูโคสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่ภาวะคงตัวที่ชั่วโมงที่ 10 และไม่พบน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 60 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมงพบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 15.39 กรัมต่อลิตร และ 4.9×10^{10} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 29 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปดัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲ ■ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 29 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงมีการลดลงของเซลล์เล็กน้อยเนื่องจากมีปริมาณเชื้อสูงเกินไป ทำให้ยากต่อการเขย่า และความเข้มข้นเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แสดงถึงเซลล์มีการผลิตเอทานอล ขณะเดียวกันเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคส และเซลล์นำไปใช้ ส่งผลให้ความเข้มข้นกลูโคสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวในชั่วโมงที่ 18 และไม่พบน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 72 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 23.34 กรัมต่อลิตร และ 7.39×10^{10} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ



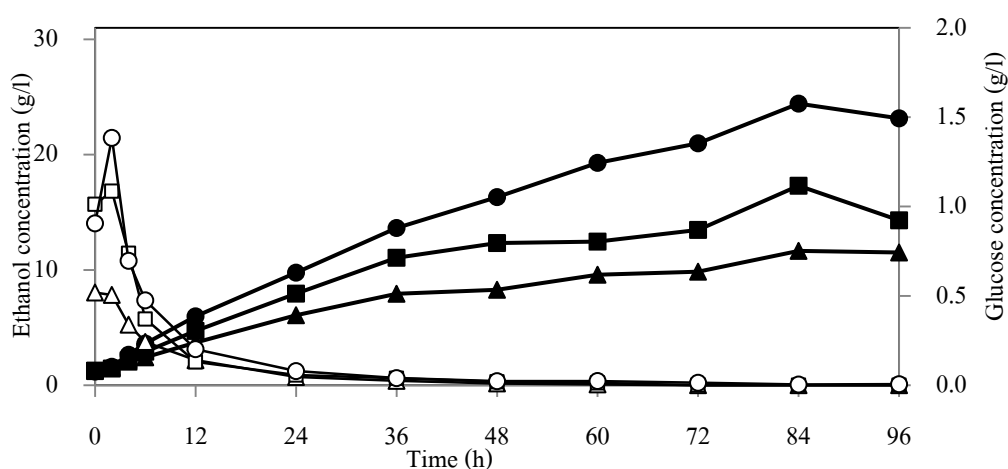
ภาพที่ 30 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไมยคาลิปัสโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 30 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงมีการลดลงของเซลล์เล็กน้อย เนื่องจากมีปริมาณเชื้อสูงขึ้น ทำให้ยากต่อการเขย่า และความเข้มข้นเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แสดงถึงเซลล์มีการผลิตเอทานอล ขณะเดียวกันเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคส และเซลล์นำไปใช้ ส่งผลให้ความเข้มข้นกลูโคสเพิ่มขึ้น เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 4 เอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวในชั่วโมงที่ 18 และไม่พบน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 84 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 30.60 กรัมต่อลิตร และ 6.62×10^{10} เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ

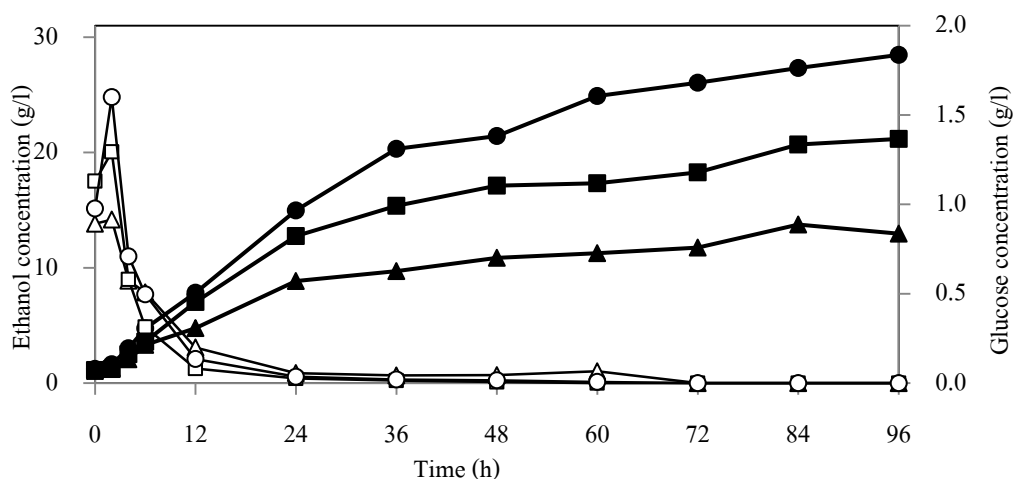
เมื่อพิจารณาผลของปริมาณเชื้อต่อการผลิตเอทานอล ณ อุณหภูมิต่าง ๆ สามารถสรุปผลความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอล และกลูโคส กับเวลาในการหมัก ดังในภาพที่ 31 ถึง 33

การผลิตเอทานอลจากไมยคาลิปัส โดย *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน เมื่อใช้ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิเดียวกันในการหมัก พบว่าใน 2 ชั่วโมงแรกความเข้มข้นกลูโคส และเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

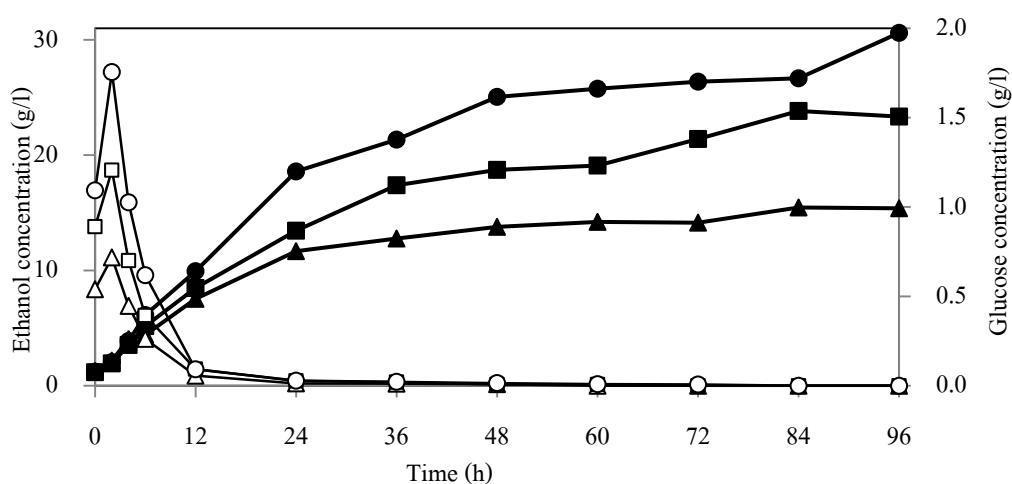
เนื่องจากเอนไซม์มีกิจกรรมในการย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส ในขณะที่เซลล์อยู่ในระหว่างการปรับตัว เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 4 เอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส และเซลล์นำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้เลย ส่งผลให้ความเข้มข้นกลูโคสในน้ำหมักลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าเท่ากับศูนย์เมื่อสิ้นสุดการหมัก ส่วนความเข้มข้นเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นแนวโน้มเดียวกันทั้งในการหมักโดยใช้ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร โดยการใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ในการหมักมีความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด รองลงมาเป็นปริมาณเชื้อ 7.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ตามลำดับ (ภาพที่ 31 ถึง 33)



ภาพที่ 31 การผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc90 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (สัญลักษณ์ ▲, ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอลที่ ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรตามลำดับ และ △, □ และ ○ แสดงความเข้มข้นกลูโคสที่ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรตามลำดับ)

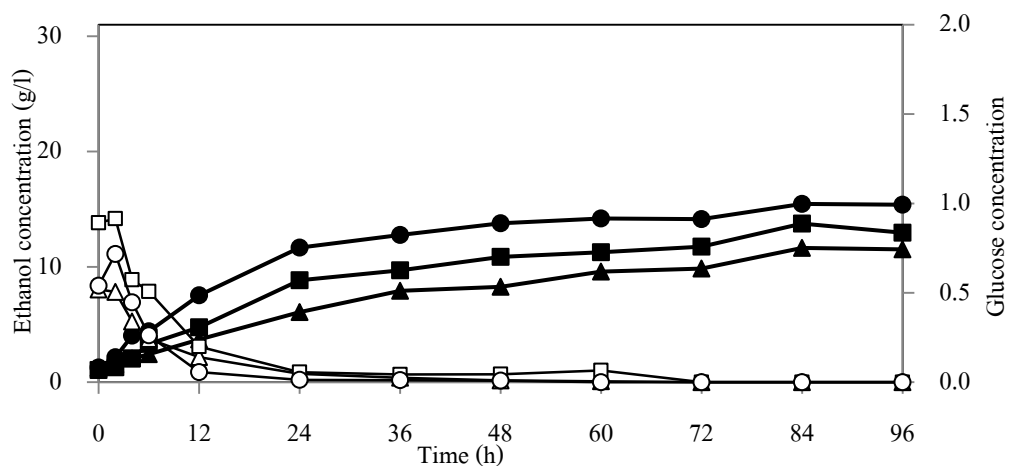


ภาพที่ 32 การผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc90 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (สัญลักษณ์ ▲, ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอลที่ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรตามลำดับ และ △, □ และ ○ แสดงความเข้มข้นกลูโคสที่ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรตามลำดับ)

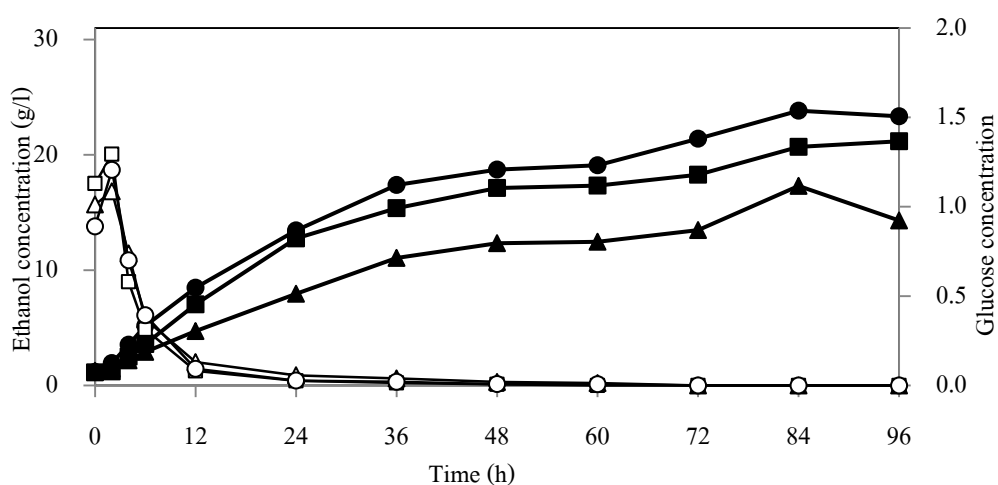


ภาพที่ 33 การผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc90 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (สัญลักษณ์ ▲, ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอลที่ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรตามลำดับ และ △, □ และ ○ แสดงความเข้มข้นกลูโคสที่ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรตามลำดับ)

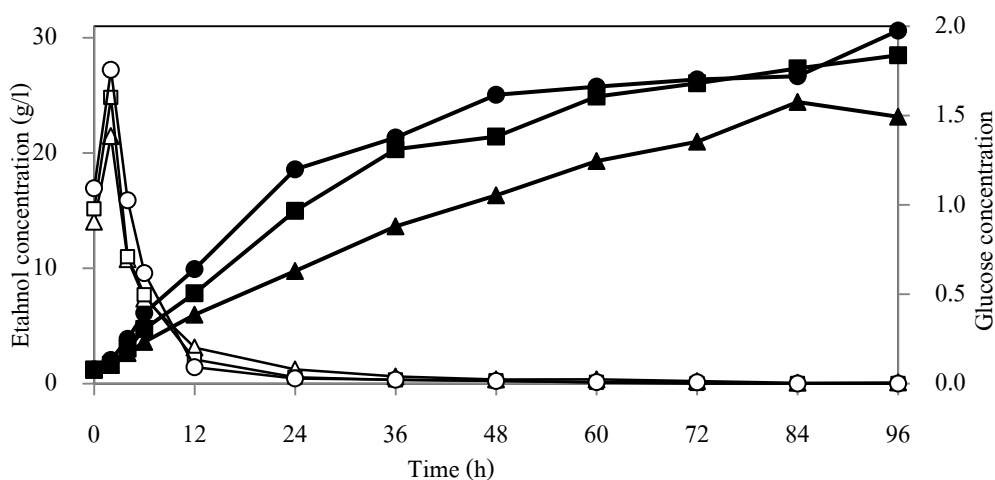
เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทานอล ณ ปริมาณเชื้อต่าง ๆ สามารถสรุปผล ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอล และกลูโคส กับเวลาในการหมัก ดังในภาพที่ 34 ถึง 36 การผลิตเอทานอลจากไม้อยูคาลิปตัส โดย *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและ หมักพร้อมกัน เมื่อใช้อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อเท่ากันในการหมัก พบว่าใน 2 ชั่วโมงแรกความเข้มข้นกลูโคส และเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากเอนไซม์มี กิจกรรมในการย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส ในขณะที่เซลล์อยู่ในระยะเวลาการปรับตัว เมื่อเข้า ถึงชั่วโมงที่ 4 เอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส และเซลล์นำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ผล ส่งผลให้ความเข้มข้นกลูโคสในน้ำหมักลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าเท่ากับศูนย์เมื่อสิ้นสุดการหมัก ส่วนความเข้มข้น เอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นแนวโน้มเดียวกันทั้งในการหมักที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เมื่อใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสในการหมัก มีความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด รองลงมาเป็นอุณหภูมิ 35 และ 30 องศาเซลเซียสตามลำดับ (ภาพที่ 34 ถึง 36) โดยอุณหภูมิที่ เหมาะสมของเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิต่ำลงส่งผลให้ อัตราการย่อยลดลงและใช้เวลานานขึ้น (Kádár *et al.*, 2004) ดังนั้นเมื่อใช้อุณหภูมิในการหมัก 40 องศาเซลเซียส ส่งผลให้มีอัตราการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์สูงกว่าที่อุณหภูมิ 35 และ 30 องศา เซลเซียส ทำให้มีความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ขณะที่ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces* sp. มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน 35 องศาเซลเซียส (Kádár *et al.*, 2004) จาก ผลการทดลองมีเอทานอลเกิดขึ้น และมีการเจริญเติบโตของเซลล์ (ภาพที่ 28-30) ที่อุณหภูมิสูง 40 องศาเซลเซียส แสดงถึงยีสต์ *S. cerevisiae* Sc90 สามารถทนอุณหภูมิสูง 40 องศาเซลเซียสได้ โดย การใช้ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต เท่ากับ 4.9 , 7.39 และ 6.62×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ยีสต์ *Kluyveromyces marxianus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทนอุณหภูมิสูง ในการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส บริสุทธิ์ (Sigmacell 50) ภายใต้สภาวะการหมักแบบ SSF ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อใช้ ปริมาณเซลลูโลสบริสุทธิ์ 5, 7.5, 10, 12.5 และ 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร มีจำนวน เซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 2.9 , 2.0 , 1.7 , 1.3 และ 1.2×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และความเข้มข้นเอ ทานอลเท่ากับ 17.9 , 26.1 , 33.7 , 41.4 และ 43.5 กรัมต่อลิตร (Tomás-Pejó *et al.*, 2009) ซึ่งมีค่า ไกล่เคียงกับผลการทดลองเมื่อใช้ปริมาณ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 34 การผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc90 และปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอลที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ และ △ , □ และ ○ แสดงความเข้มข้นกลูโคสที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ)



ภาพที่ 35 การผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc90 และปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (สัญลักษณ์ ▲ , ■ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอลที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ และ △ , □ และ ○ แสดงความเข้มข้นกลูโคสที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ)



ภาพที่ 36 การผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc90 และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (สัญลักษณ์ ▲, ■ และ● แสดงความเข้มข้นเอทานอลที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ และ △, □ และ○ แสดงความเข้มข้นกลูโคสที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ)

จากผลการผลิตเอทานอลโดยใช้ไมยคาลิปดัสในกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน สามารถสรุปค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ได้ดังตารางที่ 64 เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ต่าง ๆ พบว่าการใช้ปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสในการหมัก มีการเจริญเติบโตของยีสต์ *S. cerevisiae* Sc90 ดีที่สุด โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) เท่ากับ 0.413 ต่อชั่วโมง เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* Sc90 โดยใช้อาหาร YPD ภายใต้สภาวะการหมักที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที และอุณหภูมิห้องเพื่อผลิตเอทานอล พบว่ามีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.3 ต่อชั่วโมง ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด 7.42 กรัมต่อลิตร และอัตราการผลิตเอทานอล 3.09 กรัมต่อลิตร ชั่วโมง (Limtong *et al.*, 2000) การใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ซึ่งมีปริมาณเชื้อสูงจึงมีแนวโน้มในการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้เพิ่มขึ้น และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสในการหมักส่งผลให้เอนไซม์มีกิจกรรมมากขึ้น พบว่ามีความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด (C_p) เท่ากับ 30.69 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นอัตราการผลิตเอทานอล (Q_p) เท่ากับ 0.32 กรัมต่อ-ลิตร ชั่วโมง ส่วนผลได้ของเอทานอล ($Y_{P/S}$) มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.457 กรัมเอทานอลต่อกรัมเซลล์ูโลส ซึ่งเปรียบเทียบกับผลได้ของ

เอทานอลเทียบกับทางทฤษฎี (Theoretical ethanol yield) เท่ากับ 89.67 เปอร์เซ็นต์ การใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ให้ค่าพารามิเตอร์สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตเอทานอลจากไม้ยูคาลิปตัสที่ผ่านการระเบิดด้วยไอน้ำ โดยใช้เอนไซม์ Celluclast 1.5L กับยีสต์ *K. marxianus* CECT 10875 ในกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร มีความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด 17 กรัมต่อลิตร ผลได้ของเอทานอล 0.32 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคสจากการคำนวณ และผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎี 62.5 เปอร์เซ็นต์ (Ballesteros *et al.*, 2004)

ตารางที่ 64 ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอทานอลจากเชื้อไม้ยูคาลิปตัส โดยแปรผันปริมาณเชื้อ และอุณหภูมิในการหมักด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ปริมาณเชื้อ (%w/v)	อุณหภูมิ (°C)	μ^1 (h ⁻¹)	C_p^2 (g/l)	Q_p g/l h ⁻¹	$Y_{p/S}^3$ g/g	Theoretical ethanol yield ⁴ (%)
5	30	0.275	12.13	0.12	0.323	63.26
5	35	0.413	13.84	0.16	0.378	74.2
5	40	0.193	15.54	0.16	0.422	82.77
7.5	30	0.362	17.31	0.19	0.316	62.03
7.5	35	0.313	21.59	0.22	0.404	79.13
7.5	40	0.271	24.36	0.25	0.457	89.67
10	30	0.231	25.13	0.29	0.354	69.44
10	35	0.289	28.64	0.3	0.405	79.5
10	40	0.304	30.69	0.32	0.436	85.46

หมายเหตุ ¹ การคำนวณโดยใช้ช่วงระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงดังนี้ ปริมาณเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิการหมัก 30 องศาเซลเซียส: 2-10 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส: 4-10 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส: 2-8 ชั่วโมง, ปริมาณเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิการหมัก 30 องศาเซลเซียส: 2-10 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 35 องศา-

เซลเซียส: 2-10 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส: 2-8 ชั่วโมง, ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิการหมัก 30 องศาเซลเซียส: 2-10 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส: 2-10 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส: 4-10 ชั่วโมง

² ความเข้มข้นเอทานอลเฉลี่ยสูงสุด

³ ผลได้ของเอทานอลต่อเซลล์ในไม้อยู่ภายใต้สภาวะที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว (โดยแทนเซลล์โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นจากการคำนวณ)

⁴ ผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีสูงสุด (เอทานอล 0.51 กรัมต่อกลูโคส 1 กรัม)

เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial Designs) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยแบบจำลองเชิงเส้นตรง (General linear model; GLM) และทดสอบความแตกต่างแบบ least significant difference (LSD) ด้วยโปรแกรม SAS รุ่น 8.01 (SAS, 2000)

ตารางที่ 65 ผลลัพธ์ ANOVA การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเข้มข้นเอทานอลสำหรับปริมาณเชื้อและอุณหภูมิในแผนการทดลองแฟกทอเรียล

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
fiber	2	921.97	460.99	62.95	<.0001
temp	2	129.86	64.93	8.87	0.0021
fiber*temp	4	10.84	2.71	0.37	0.8269

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ความเข้มข้นเอทานอล (C_p) เมื่อศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย คือ ปริมาณเชื้อและอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณเชื้อ และอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก ($p \geq 0.05$) ดังในตารางที่ 65 ดังนั้นจึงทำการทดสอบความแตกต่างในแต่ละปัจจัยหลักดังนี้ เมื่อพิจารณาปัจจัยของปริมาณเชื้อที่ใช้ แสดงว่าปริมาณเชื้อมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นเอทานอลเฉลี่ย ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 65 และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นเอทานอลที่ละคู่ของปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรโดยวิธี LSD ดังตารางที่ 66 พบว่าการใช้ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

แห้งต่อปริมาตรส่งผลให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลแตกต่างกัน โดยการใช้ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลเพิ่มขึ้น และการใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรมีค่าความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด เมื่อพิจารณาปัจจัยของอุณหภูมิที่ใช้ แสดงว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นเอทานอลเฉลี่ย ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 65 และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นเอทานอลที่ละคู่ของอุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสโดยวิธี LSD ดังตารางที่ 65 พบว่าการใช้อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสในการหมักส่งผลให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลแตกต่างกัน โดยที่อุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียสให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลน้อยที่สุด และการใช้อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียสให้ค่าความเข้มข้นเอทานอลไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 66 ผลลัพธ์ ANOVA การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลได้ของเอทานอลสำหรับปริมาณเชื้อและอุณหภูมิใน แผนการทดลองแฟคทอเรียล

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
fiber	2	0.0029	0.0014	0.63	0.5434
temp	2	0.0528	0.0264	11.55	0.0006
fiber*temp	4	0.0029	0.0007	0.31	0.8652

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ผลได้ของเอทานอล (Y_{ps}) เมื่อศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณเชื้อ และอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณเชื้อ และอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก ($p \geq 0.05$) ดังในตารางที่ 66 ดังนั้นจึงทำการทดสอบความแตกต่างในแต่ละปัจจัยหลักดังนี้ เมื่อพิจารณาปัจจัยของปริมาณเชื้อ แสดงว่าปริมาณเชื้อไม่มีอิทธิพลต่อค่าผลได้ของเอทานอลเฉลี่ย ($p \geq 0.05$) ดังในตารางที่ 66 และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลได้ของเอทานอล ที่ละคู่ของปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรโดยวิธี LSD ดังตารางที่ 66 พบว่าการใช้ปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรส่งผลให้อัตราการผลิตเอทานอลไม่แตกต่างกัน โดยการใช้ปริมาณเชื้อในการหมักแตกต่างกันไม่ทำให้ค่าผลได้ของเอทานอลต่างกัน เมื่อพิจารณาปัจจัยของอุณหภูมิ แสดงว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อผลได้ของเอทานอลเฉลี่ย ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 66 และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลได้ของเอทานอลที่ละคู่ของอุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสโดยวิธี LSD ดังตารางที่ 10 พบว่าการใช้

อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสในการหมักส่งผลให้ค่าผลได้ของเอทานอลแตกต่างกัน โดยการใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในการหมักให้ค่าผลได้ของเอทานอลน้อยที่สุด และการใช้อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียสในการหมักให้ค่าผลได้ของเอทานอลไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 67 ผลลัพธ์ ANOVA การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีสำหรับปริมาณเชื้อและอุณหภูมิในแผนการทดลองแฟกทอเรียล

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
fiber	2	108.71	54.35	0.62	0.5489
temp	2	2023.94	1011.97	11.55	0.0006
fiber*temp	4	111.27	27.82	0.32	0.8626

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ค่าผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎี (Theoretical ethanol yield) เมื่อศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณเชื้อ และอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักพบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณเชื้อ และอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก ($p \geq 0.05$) ดังในตารางที่ 67 ดังนั้นจึงทำการทดสอบความแตกต่างในแต่ละปัจจัยหลักดังนี้ เมื่อพิจารณาปัจจัยของปริมาณเชื้อ แสดงว่าปริมาณเชื้อไม่มีอิทธิพลต่อค่าผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีเฉลี่ย ($p \geq 0.05$) ดังในตารางที่ 67 และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีที่ละคู่ของปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรโดยวิธี LSD ดังตารางที่ 68 พบว่าปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรส่งผลให้ค่าผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีไม่แตกต่างกัน โดยการใช้ปริมาณเชื้อในการหมักแตกต่างกันไม่ทำให้ค่าผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีต่างกัน เมื่อพิจารณาปัจจัยของอุณหภูมิ แสดงว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อผลได้ของเอทานอลเฉลี่ย ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 63 และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลได้ของเอทานอลที่ละคู่ของอุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสโดยวิธี LSD ดังตารางที่ 10 พบว่าการใช้อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสในการหมักส่งผลให้ค่าผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีแตกต่างกัน โดยการใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในการหมักให้ค่าผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีน้อยที่สุด และการใช้อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียสในการหมักให้ค่าผลได้ของเอทานอลเทียบกับทางทฤษฎีไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 68 ผลลัพธ์ทางสถิติของการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของปริมาณเชื้อ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส

	C_p	Q_p	$Y_{p/s}$	Theoretical ethanol yield
สภาวะ	(g/l)	(g/l h)	(g/g)	(%)
ปริมาณเชื้อ (%w/v)				
5	13.84 ^a	0.144 ^a	0.374 ^a	73.41 ^a
7.5	21.09 ^b	0.224 ^b	0.392 ^a	76.95 ^a
10	28.15 ^c	0.303 ^c	0.399 ^a	78.13 ^a
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)				
30	18.20 ^d	0.199 ^d	0.331 ^b	64.91 ^b
35	21.36 ^c	0.229 ^{dc}	0.396 ^c	77.61 ^c
40	23.53 ^e	0.244 ^e	0.438 ^c	85.97 ^c

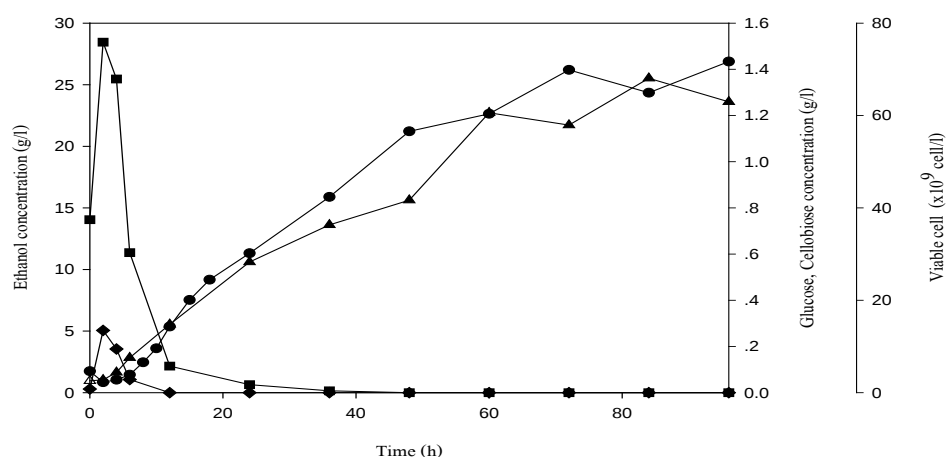
หมายเหตุ ^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ จึงเลือกการใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรเป็นสภาวะที่เหมาะสมเนื่องจากมีความเข้มข้นเอทานอล และอัตราการผลิตเอทานอลสูงสุด และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสในการหมักมีความใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ คือ 50 องศาเซลเซียส ดังนั้นในขั้นตอนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลจึงใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียสเพื่อให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์มากขึ้น

4.4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยการย่อยเป็นน้ำตาล และหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) ของเยื่อกระดาษ

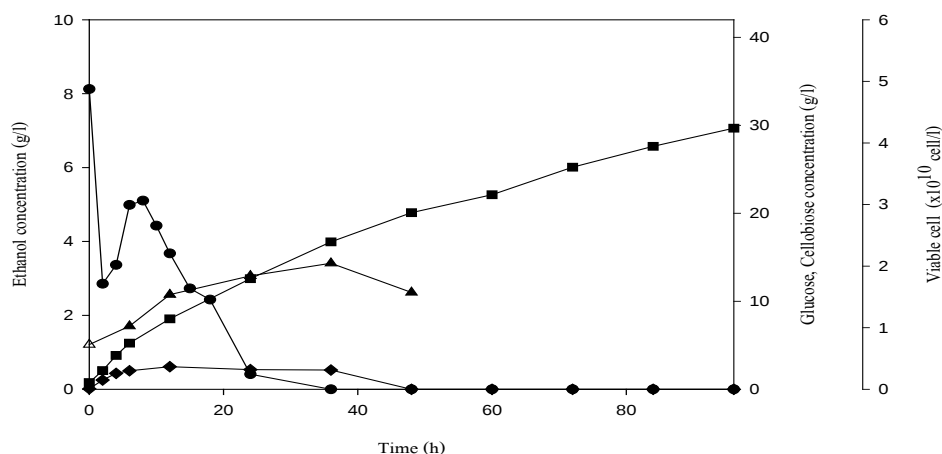
การผลิตเอทานอลจากไม้กระถินเทพาที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว โดยใช้เอนไซม์ Celluclast 1.5L และ Novozym 188 กับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน สามารถสรุปถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส เซลโลไบโอส และ

จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต กับเวลาของการหมักโดยใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และอุณหภูมิการหมักที่ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 37 และ 38



ภาพที่ 37 การผลิตเอทานอลจากเยื่อไม้กระถินเทพาโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส(สัญลักษณ์ ▲ , ■, ◆ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส เซลโลไบโอสจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลจากไม้กระถินเทพาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 37 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 2 ชั่วโมงมีการลดลงของเซลล์เล็กน้อย เนื่องจากมีปริมาณเชื้อสูงเกินไป ทำให้ยากต่อการเขย่า และความเข้มข้นเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แสดงถึงเซลล์มีการผลิตเอทานอล ขณะเดียวกันเอนไซม์เซลลูเลสย่อยเซลลูโลสเป็นกลูโคส และเซลโลไบโอส พร้อมกับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสย่อยเซลโลไบโอสเป็นกลูโคส ส่วนเซลล์นำกลูโคสไปใช้ในการผลิตเอทานอล เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 6 เอทานอลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนน้ำตาลกลูโคส และเซลโลไบโอสลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่เซลล์เริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวที่ชั่วโมงที่ 72 และไม่พบน้ำตาลกลูโคส และเซลโลไบโอสในชั่วโมงที่ 48 และ 12 ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นกลูโคส เซลโลไบโอส เอทานอล และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 0, 0, 23.61 กรัมต่อลิตร และ 16.81×10^9 เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ

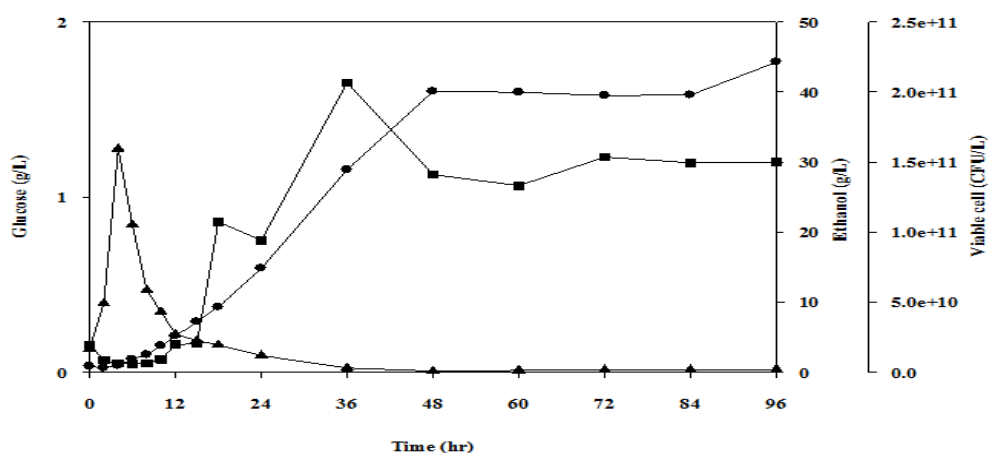


ภาพที่ 38 การผลิตเอทานอลจากเชื้อไม้กระถินเทพาโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร และ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส(สัญลักษณ์▲, ■, ◆ และ ● แสดงความเข้มข้นเอทานอล กลูโคส เซลโลไบโอสจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตตามลำดับ)

จากการผลิตเอทานอลจากไม้กระถินเทพาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ดังภาพที่ 38 เมื่อเริ่มการหมักภายใน 4 ชั่วโมงมีการลดลงของเซลล์เล็กน้อย เนื่องจากมีปริมาณเชื้อสูงเกินไป ทำให้ยากต่อการเข้า รวมทั้งยังเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมในการเจริญของยีสต์ หลังจากนั้นเซลล์การเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างต่อเนื่องจนสูงสุดในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก และลดลงจนเป็นศูนย์ในชั่วโมงที่ 36 เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ คือ 30 องศาเซลเซียส จึงสามารถทนอุณหภูมิสูง 45 องศาเซลเซียสได้ในระยะเวลาเพียง 24 ชั่วโมง ส่วนความเข้มข้นเอทานอลมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส และเบต้า-กลูโคซิเดส นั้น พบว่าความเข้มข้นกลูโคสเพิ่มขึ้นจนกระทั่งยุติการหมัก ส่วนความเข้มข้นเซลโลไบโอสเพิ่มขึ้นในช่วง 36 ชั่วโมงแรกของการหมัก หลังจากนั้นมีความเป็นศูนย์ แสดงถึงเอนไซม์เซลลูเลส และเบต้า-กลูโคซิเดสมีกิจกรรมอยู่ เนื่องจากเป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

4.4.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยการย่อยเป็นน้ำตาล และหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation,SSF) ของเยื่อลำตันปาล์ม

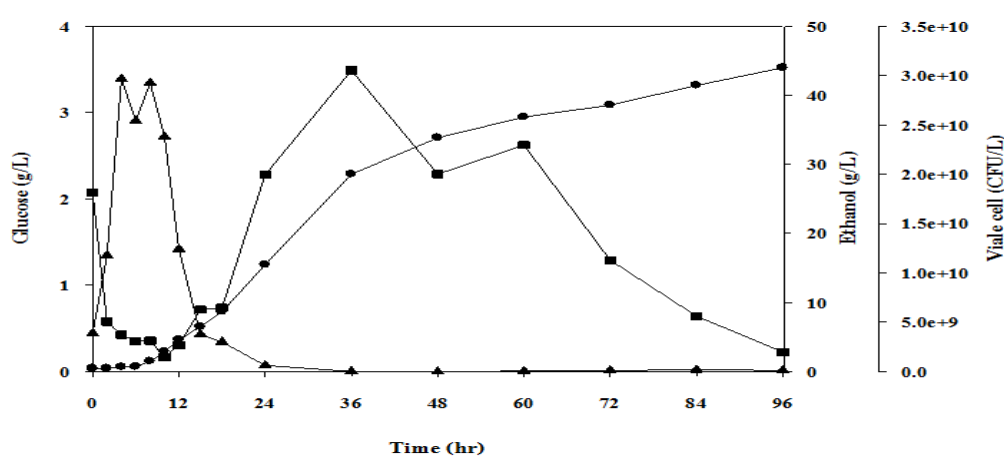
นำเยื่อลำตันปาล์มน้ำมันที่ผ่านการสกัดด้วยด่างมาทำการหมักแบบ SSF เพื่อผลิตเอทานอล โดยใช้เยื่อลำตันปาล์มน้ำมัน 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* Sc90 ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณเอทานอลสุดท้ายของการหมักเท่ากับ 44.25 และ 44.00 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ดังภาพที่ 37 และ 38



ภาพที่ 39 การผลิตเอทานอลจากเยื่อลำตันปาล์มโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (สัญลักษณ์ ●, ▲ และ ■ แสดงความเข้มข้นเอทานอล, กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ตามลำดับ)

จากภาพที่ 39 และ 40 พบว่าการผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน ทำให้เกิดการหยุดชะงักของยีสต์ขึ้นในช่วง 10 ชั่วโมงแรก เพราะช่วงแรกของการหมักมีน้ำตาลกลูโคสดำ และอุณหภูมิสูงซึ่งไม่เหมาะกับการเจริญของยีสต์ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญของยีสต์คือ 30 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาผ่านไป 10 ชั่วโมงพบว่าการทำงานของเอนไซม์ดีขึ้น ทำให้เกิดสารละลายได้มากขึ้น ส่วนของ ของแข็งลดลง เอนไซม์เซลลูเลส และเบต้ากลูโคซิเดส สามารถทำงานได้โดยไม่เกิดสภาวะขังยั้งเพราะยีสต์สามารถนำกลูโคสที่ได้รับการย่อยโดยเอนไซม์ไปใช้ได้ทันที จึงเป็นข้อดีของการหมักด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน ช่วงหลังจาก 10 ชั่วโมง ยีสต์สามารถเจริญได้ดีขึ้นและเริ่มผลิตเอทานอลออกมาบางส่วน และเริ่มที่จะไม่เห็นการเปลี่ยน

เปลี่ยนแปลงของกลูโคสหลังจากชั่วโมงที่ 15 เนื่องจากกลูโคสไม่พอใช้ก็จำนวนเซลล์ยีสต์ที่เพิ่มจำนวนขึ้นจากสภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสพบว่ายีสต์คงเหลือต่ำกว่าที่สภาวะหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เพราะอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมแก่การเจริญและสารพิษต่างๆ ที่ถูกขับออกมาจากเซลล์ยีสต์เองในระหว่างการหมัก ที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มข้นเอทานอลสุดท้าย 44.25 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เอทานอลเทียบกับทางทฤษฎี 90.34 เปอร์เซ็นต์ และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มข้นเอทานอลสุดท้าย 44.00 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เอทานอลเทียบกับทางทฤษฎี 90.61 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 69



ภาพที่ 40 การผลิตเอทานอลจากเชื้อลำต้นปาล์มโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาณ (สัญลักษณ์ ●, ▲ และ ■ แสดงความเข้มข้นเอทานอล, กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต ตามลำดับ)

ตารางที่ 69 ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด และผลได้เอทานอลของกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันของเชื้อลำต้นปาล์ม

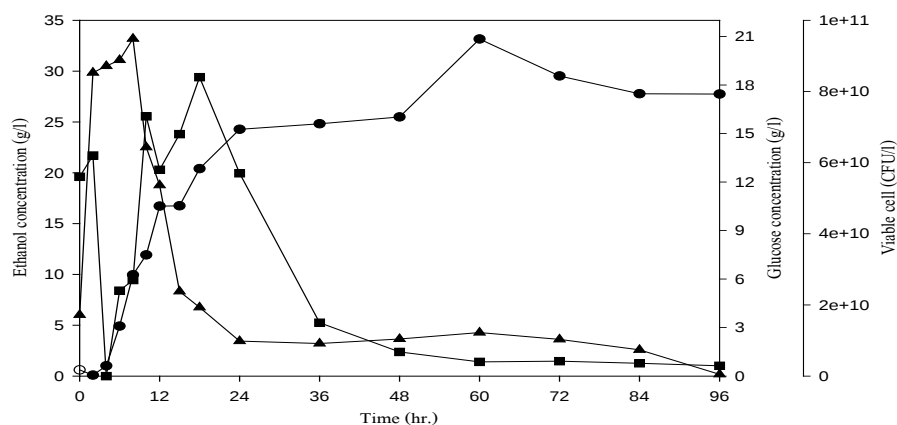
สภาวะการหมัก	ความเข้มข้นเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ผลได้เอทานอลเทียบกับ ทางทฤษฎี (%)
10% เชื้อ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	44.25	90.34
10% เชื้อ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	44	90.61

จากผลประสิทธิภาพการย่อยด้วยเอนไซม์ในการหมักด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสมีประสิทธิภาพในการย่อยสูงกว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เนื่องจากเหลือปริมาณเชื้อล้าต้นปาล์มน้ำมันหลังจากการหมักน้อยกว่า (4.03 และ 5.84 กรัม/น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) แต่ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอทานอลต่ำกว่าเนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ ทำให้หลังจากชั่วโมงที่ 24 ยีสต์ได้ลดจำนวนลงอย่างมาก เป็นผลให้ความสามารถในการผลิตเอทานอลต่ำลงเช่นกัน เมื่อพิจารณาความเหมาะสมของอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตเอทานอล พบว่าที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มข้นของเอทานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ จึงเลือกใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ความเข้มข้นเอทานอลสูงและต้นทุนในการหมักที่ต่ำกว่า

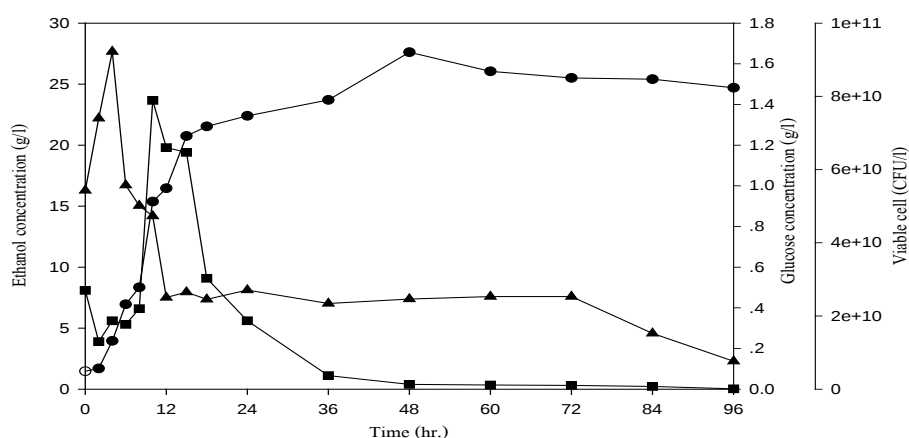
4.4.3 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยการย่อยเป็นน้ำตาล และหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) ของเยื่อทางใบปาล์ม

การผลิตเอทานอลจากเยื่อทางใบปาล์มที่ผ่านกระบวนการพรีทรีตเมนต์ในสถานะที่เหมาะสมแล้ว โดยใช้เยื่อทางใบปาล์มน้ำมัน 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอนไซม์ Celluclast 1.5L และ novozyme 188 กับยีสต์ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาล และหมักพร้อมกัน สามารถสรุปผลถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอทานอล กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต กับเวลาของการหมักที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส

การผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 41 พบว่าในชั่วโมงแรกของการหมักจะมีความเข้มข้นของเอทานอลต่ำ เนื่องจากเซลล์อยู่ในระยะการปรับตัว และเอนไซม์ทำการย่อยเซลลูลอสเป็นกลูโคส เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 2 พบว่ามีกลูโคสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 8 จากนั้นกลูโคสจะลดลงเรื่อยๆ ในขณะที่ความเข้มข้นเอทานอลค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในชั่วโมงที่ 6 และเริ่มคงที่เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 36 ในขณะที่เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีในชั่วโมงที่ 6 จากนั้นเซลล์จะค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากเซลล์นำกลูโคสไปใช้ในการผลิตเอทานอลแทนการเจริญของเซลล์ เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 48 เซลล์จะเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ เมื่อสิ้นสุดการหมัก พบว่า ชั่วโมงที่ 60 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 33.16 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นผลได้เอทานอลเทียบกับทางทฤษฎี 72.42 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 66



ภาพที่ 41 การผลิตเอทานอลจากเชื้อทางใบปาล์มโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาณ (สัญลักษณ์ ●, ▲ และ ■ แสดงความเข้มข้นเอทานอล, กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ตามลำดับ)



ภาพที่ 42 การผลิตเอทานอลจากเชื้อทางใบปาล์มโดยใช้ *S. cerevisiae* Sc90 ด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาณ (สัญลักษณ์ ●, ▲ และ ■ แสดงความเข้มข้นเอทานอล, กลูโคส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ตามลำดับ)

การผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 42 พบว่าในช่วงแรกของกระบวนการหมักจะมีความเข้มข้นของเอทานอลต่ำ เนื่องจากเซลล์อยู่ในระยะการปรับตัว และเอนไซม์ทำการย่อยเซลลโลสเป็นกลูโคส เมื่อเข้าสู่การหมักช่วงที่ 2 พบว่ามีกลูโคสเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจนถึง

ชั่วโมงที่ 6 จากนั้นกลูโคสจะลดลงเรื่อยๆ ในขณะที่ความเข้มข้นเอทานอลค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในชั่วโมงที่ 4 และเริ่มคงที่เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 24 ในขณะที่เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีในชั่วโมงที่ 8 จากนั้นเซลล์จะค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากเซลล์นำกลูโคสไปใช้ในการผลิตเอทานอลแทนการเจริญของเซลล์ เมื่อเข้าสู่การหมักชั่วโมงที่ 36 เซลล์จะเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ เมื่อสิ้นสุดการหมัก พบว่า ชั่วโมงที่ 48 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 27.62 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นผลได้เอทานอลเทียบกับทางทฤษฎี 57.61 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 70

ตารางที่ 70 ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด และผลได้เอทานอลของกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันของเชื้อทางใบปาล์ม

สภาวะการหมัก	ความเข้มข้นเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ผลได้เอทานอลเทียบกับ ทางทฤษฎี (%)
10% เชื้อ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	33.16	72.42
10% เชื้อ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	27.62	57.61

จากตารางที่ 70 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกันของเชื้อทางใบปาล์ม พบว่าการใช้เชื้อที่ 10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเอทานอลได้สูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียสเป็นเหมาะสมในการย่อยของเอนไซม์ และเหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์มากกว่า

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ผลจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟัรริตเมนต์ไม้มัคคาลิปตัส ไม้มักระถิ่นเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ เพื่อกำจัดเฮมิเซลลูโลส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในขั้นตอนการฟัรริตเมนต์นี้ของไม้ทั้ง 4 ชนิด คือ $\log R_0$ 3.84 (210 องศาเซลเซียส 4 นาที) เมื่อคิดเป็นประสิทธิภาพแล้วสามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้ 81.38 เปอร์เซ็นต์ 56.24 เปอร์เซ็นต์ 86.35 เปอร์เซ็นต์ และ 78.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ผลจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟัรริตเมนต์โดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กำจัดลิกนินออกจากของเชื้อไม้มัคคาลิปตัส ไม้มักระถิ่นเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม ที่ได้ภายหลังจากการระเบิดด้วยไอน้ำ และสกัดน้ำร้อน พบว่าสภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกันออกไป โดยสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดลิกนินของไม้มัคคาลิปตัสและไม้มักระถิ่นเทพา คือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที ส่วนไม้มัลำต้นปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมัน คือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที สภาวะที่แตกต่างกัน เนื่องจากโครงสร้างของไม้เป็นคนละชนิดกัน

ผลจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยและหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) ของเชื้อไม้มัคคาลิปตัส เชื้อไม้มักระถิ่นเทพา ลำต้นปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการนี้ของเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ ปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยเชื้อลำต้นปาล์มสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดคือ 44.25 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เชื้อทางใบปาล์มผลิตเอทานอลได้ 33.16 กรัมต่อลิตร เชื้อมัคคาลิปตัสผลิตเอทานอลได้ 30.60 กรัมต่อลิตร และเชื้อมักระถิ่นเทพาผลิตเอทานอลได้ 23.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

จากผลข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าไม้มัลำต้นปาล์มเป็นไม้ที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยและหมักเป็นน้ำตาลพร้อมกัน เมื่อผ่านกระบวนการฟัรริตเมนต์ที่เหมาะสมแล้ว

บรรณานุกรม

- วรณี แสงจันทร์ และ วิชัย เพ็ชรดี. 2546. การศึกษาการสกัดเอทานอลจากฟางข้าว. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วิทยา ปั่นสุวรรณ. 2543. เรื่องเฉพาะทางเคมี (เคมีไม่และการใช้ประโยชน์). ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 145 น.
- _____. 2549. เอทานอลและไซโลสจากต้นปาล์มน้ำมันโดยการระเบิดด้วยไอน้ำ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- _____, พิลานี ไถนอมสัจย์ และวิวัฒน์ อรรถพานุรักษ์. 2551. การระเบิดด้วยไอน้ำสอชั้นตอนของชานอ้อยเพื่อการผลิตเอทานอล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- สาโรจน์ สิริสันตนิยกุล, วรสิทธิ์ โตจำปา และประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ. 2544. วิศวกรรมเคมีชีวภาพ พื้นฐาน 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศูนย์ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจ. 2550. ยูคาลิปตัส. แหล่งที่มา: http://www.dnp.go.th/EPAC/plant_economic/46yucalipatus.htm, 16 ตุลาคม 2550.
- ศูนย์ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. ม.ป.ป. แหล่งที่มา: http://www.dnp.go.th/EPAC/plant_economic/02krathintapa.htm, 16 ตุลาคม 2550.
- Awang, K. and D. Taylor. 1993. *Acacia mangium* Growing and Utilization. MPTS monograph No.3. Bangkok, Thailand : Winrock International and FAO.
- Ballesteros, M., J.M. Oliva, M.J. Negro, P. Manzanares and I. Ballesteros. 2004. Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. Process Biochem. 39: 1843-1848

- Bharathi, K. and R. Pogaku. 2006. PRETREATMENT STUDIES OF RICEBRAN FOR THE EFFECTIVE PRODUCTION OF CELLULASE. *J. Environ. Agric. Food Chem.* 5(2):1253-1264.
- Browning, B. L. and L.O. Bubnitz. 1983. The Isolation of Holocellulose from Wood. Technical. Association of the Pulp and Paper Industry. 36: pp. 452.
- Box, G., S. Bisgaard and C. Fung. 1988. An explanation and critique of Taguchi's contributions to quality engineering. *Qual. Reliab. Eng. Int.* 4: 123-131.
- Fan, L.T., Gharpuray, M.M. and Lee, Y.-H., 1987. In: *Cellulose Hydrolysis Biotechnology Monographs*. Springer, Berlin, p. 57.
- Hartley, C.W.S. 1998. The oil palm. 3 th rd., Longman, London. 761p.
- Harwood, C.E. and E.R. Williams. 1992. A review of provenance variation in growth of *Acaciamangium*, pp. 22-30. In L.T. Carron and K.M. Aken (eds). *Breeding Technologies for TropicalAcacias*. ACIAR Proceedings No. 37.
- Kádár, Zs., Zs. Szengyel and K. Réczey. 2004. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products* 20: 103-110.
- Laemsak, N. 1996. Development of boards made from oil palm frond. Ph.D. thesis, Tokyo Univ., Tokyo.
- Limtong, S., T. Sumpradit, V. Kitpreechavanich, M. Tuntirungkij, T. Seki and T. Yoshida. 2000. Effect of acetic acid on growth and ethanol fermentation of xylose fermenting yeast and *Saccharomyces cerevisiae*. *Kasetsar J. (Nat. Sci)*. 34: 64-73.
- Lochner, R. H. and J. E. Matar. 1990. *Designing for Quality*. Chapman and Hall, UK.

- Lynd, L. R., P. J. Weimmer, W. H. van Zyl and I. S. Pretorius. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol. and Molecular Biolo.Reviews.* 66: 506-577.
- Madhav, S. P. 1989. Quality engineering using robust design. AT&T Bell Laboratories. 67-68.
- Murray, W.D., L.C. Sowden and J.R. Colvin. 1986. Localization of the cellulase activity of *Bacteroides cellulosolvens*. *Lett. Appl. Microbial.* 3: 69-72.
- Moldes, A.B., J.L. Alonso and J.C. Parajo. 1999. Cogeneration of Cellobiose and Glucose from Pretreated Wood and Bioconversion to Lactic Acid: A Kinetic Study. *J. Biosci. Bioeng.* 6: 787-792.
- Mosier, N., C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple and M. Ladish. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biores. Technol.* 96: 673-686.
- Patt, R., O. Kordsachia and J. Fehr. 2006. European hardwoods versus *Eucalyptus globulus* as a raw material for pulping. *Wood Sci. Technol.* 40: 39-48.
- Pauley, K. 2007. Cellulosic Biomass Chemical Pretreatment Technologies. MATRIC. Available Source: <http://www.wvdo.org/community/Pauley.pdf>, November 29, 2007.
- Philippidis, G.S. 1996. Handbook on bioethanol: Production and Utilization. Wyman, C.E., ed., Taylor & Francis: Washington, DC, pp. 253-285
- Pinto, C.P., D.V. Evtuguin and C.P. Neto. 2005. Chemical composition and structural features of the macromolecular components of plantation *Acacia mangium* wood. *J Agric Food Chem.* 53: 7856-7862.
- Roy, R. K. 2001. Design of experiments using the Taguchi approach. John Wiley & Sons, Inc.
- Silverstein, R.A. 2004. A Comparison of Chemical Pretreatment Methods for Converting Cotton Stalks to Ethanol. M.S. Thesis, North Carolina State University.

Sjostrom, E. 1981. Wood chemistry fundamentals and applications. Academic press Inc., London.
p 51-70.

Sun, Y. and J. Cheng. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresour. Technol. 83: 1-11.

TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry), 1983a. Acid Insoluble lignin in wood and pulp. Official Test Method T-222 om-8. Tappi press. Atlanta.

_____ 1983b. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C. Official Test Method T-211 om-93. Tappi press. Atlanta.

_____ 1983c. Alpha-, Beta-, and Gamma-Cellulose in Pulp. Official Test Method T-203 om-93. Tappi press. Atlanta.

_____ 1983d. Analysis of pentosan content. Official Test Method T 223 cm-84. Tappi press. Atlanta.

Tomás-Pejó, E., M. García-Aparicio, M.J. Negro, J.M. Oliva and M. Ballesteros. 2009. Effect of different cellulase dosages on cell viability and ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* in SSF processes. Bioresour Technol. 100: 890–895.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมีของไม้และเยื่อ

สุ่มตัวอย่างวัตถุดิบที่เตรียมไว้ แล้วนำมาบดย่อยให้มีขนาดเล็กลงอีกด้วยเครื่องทำผงไม้ และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh จากนั้นเก็บผงวัตถุดิบไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดปากถุงมิดชิด นำผงวัตถุดิบที่เตรียมไว้ดังกล่าวไปวิเคราะห์หาค่าต่าง ๆ ได้แก่ การหาปริมาณความชื้น ปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณไฮโดรเซลลูโลส ปริมาณแอลฟาเซลลูโลส ปริมาณเพนโทแซน และปริมาณเถ้า (วิทยา, 2541)

1.1 การสุ่มและการเตรียมตัวอย่างไม้และเยื่อสำหรับการวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมี

การสุ่มและการเตรียมตัวอย่างไม้และเยื่อสำหรับการวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมีตามมาตรฐาน TAPPI T257 cm-85 และ TAPPI T264 om-88 หลังจากนั้นนำผงวัตถุดิบร่อนผ่านตะแกรงขนาดหมายเลข 40 mesh และตะแกรงขนาดหมายเลข 60 mesh เก็บผงวัตถุดิบส่วนที่ผ่านตะแกรงหมายเลข 40 mesh และค้างอยู่บนตะแกรงหมายเลข 60 mesh ไว้เพื่อวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมีของไม้การหาปริมาณความชื้น ในผงตัวอย่างเป็นสิ่งจำเป็น เนื่องจากการคำนวณปริมาณของสารแทรกในผงตัวอย่างคิดเป็นร้อยละของวัตถุดิบในสภาพอบแห้ง (Dry basis)

วิธีการ

1. ทำความสะอาด Platinum crucible แล้วอบแห้ง ชั่งน้ำหนักให้ทราบแน่นอน
2. ชั่งผงตัวอย่างใส่ Platinum crucible ตัวอย่างละ 2 ± 0.1 กรัม แล้วนำเข้าเตาอบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 100 ± 5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. นำออกจากเตาอบใส่ในโถดูดความชื้น เปิดดูดความชื้นชั่วขณะหนึ่งเพื่อให้อากาศอุระบายออกแล้วปิดไว้เหมือนเดิม ทิ้งไว้ให้ Platinum crucible เย็น และชั่งน้ำหนัก
4. ทำซ้ำเช่นนี้อีก จนน้ำหนักตัวอย่างอบแห้งคงที่ ชั่งน้ำหนักคำนวณปริมาณความชื้นที่ได้จาก

$$\% \text{ ปริมาณความชื้น} = 100 (W1 - W2) / W2$$

W1 = น้ำหนักผงตัวอย่างสด (กรัม)

W2 = น้ำหนักผงตัวอย่างอบแห้ง (กรัม)

1.2 การเตรียมวัตถุดิบที่ปราศจากสารแทรก

การเตรียมวัตถุดิบที่ปราศจากสารแทรก ตามมาตรฐาน TAPPI T264 om-88 และมาตรฐาน TAPPI T264 cm-97

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ถ้วยกรอง (Extraction thimble)
2. เครื่องมือสกัดสารแทรก (Soxhlet extraction apparatus)
3. ขวดซัง
4. Filtering flask
5. Buchner funnel
6. ตู้ดูดควัน
7. เอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 95 โดยปริมาตร
8. เบนซีนบริสุทธิ์(C_6H_6)
9. สารผสมเอทานอล-เบนซีน โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเอทานอลร้อยละ 95 กับเบนซีนเท่ากับ 1:2 โดยปริมาตร
10. พงตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง จำนวน 20 กรัม โดยน้ำหนักอบแห้ง

วิธีการ

1. ทำความสะอาดถ้วยแก้วสกัดสารแทรกและอบแห้ง ชั่งน้ำหนักให้แน่นอน
2. ชั่งพวงตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักอบแห้งหนัก 20 กรัม โดยเทียบน้ำหนักอบแห้งแล้วใส่ลงในถ้วยกรองพร้อมครอบด้วยตะแกรงละเอียดรูปกรวยแก้ว บรรจุใส่ในเครื่องมือสกัดสารแทรก
3. ติดตั้งเครื่องสกัดสารแทรก สกัดด้วยสารผสมเอทานอล-เบนซีน จำนวน 150 มิลลิลิตร เป็นเวลา 6 – 8 ชั่วโมง โดยรักษาระดับการชะล้างไม่น้อยกว่าชั่วโมงละ 4 ครั้ง
4. กรองพวงตัวอย่างโดยเทลงใน Buchner funnel เพื่อคัดตัวตัวอย่างละลายออก ล้างถ้วยกรอง และพวงตัวอย่างด้วยเอทานอลเพื่อไล่เบนซีนออก
5. ใส่พวงดังกล่าวลงในถ้วยกรองอีก บรรจุใส่ในเครื่องมือสกัดสารแทรก
6. ติดตั้งเครื่องสกัดสารแทรก สกัดด้วยเอทานอล เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จนกระทั่งเอทานอลไม่มีสี
7. ถ่ายตัวอย่างลงใน Buchner funnel เพื่อคัดตัวตัวอย่างละลายออก ล้างถ้วยกรองและตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นเพื่อไล่เอทานอลออก
8. ถ่ายตัวอย่างลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นที่ก่้างเดือด 500 มิลลิลิตร ให้ความร้อนแก่ฟลาสก์เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในอ่างน้ำร้อน รักษา้ำที่จุดเดือด และฟลาสก์

อยู่ในอ่างน้ำเดือดด้วย กรองตัวอย่างด้วย Buchner funnel และล้างด้วยน้ำกลั่นที่เดือดจำนวน 500 มิลลิลิตร ผึ่งตัวอย่างทิ้งไว้ในอากาศให้แห้ง

9. คลุกเคล้าตัวอย่างและเก็บไว้ในภาชนะที่ปิดมิดชิด หาค่าปริมาณความชื้นของวัตถุดิบที่ปราศจากสารแทรก และนำตัวอย่างที่เตรียมได้นี้ไปใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี

$$\% \text{ ปริมาณสารแทรก} = [(W_e - W_b) / W_p] \times 100$$

W_e = น้ำหนักอบแห้งสารสกัด (กรัม)

W_p = น้ำหนักอบแห้งของตัวอย่าง (กรัม)

W_b = น้ำหนักอบแห้งสารที่เหลืออยู่จากการทดลองโดยไม่มีตัวอย่าง (กรัม)

1.3 การหาปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรดในวัตถุดิบไม้และเยื่อ

การหาปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรดในวัตถุดิบไม้และเยื่อตามมาตรฐาน TAPPI T222 om-98

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องกรองลิกนินประกอบด้วย Filtering flask ขนาด 2,000 มิลลิลิตร และเครื่องทำสุญญากาศ
2. ถ้วยกรองเบอร์ 4 อบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักก่อนใช้
3. อ่างควบคุมอุณหภูมิ โดยให้มีอุณหภูมิอยู่ที่ 20 ± 1 องศาเซลเซียส
4. Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ซึ่งแสดงเครื่องหมายการเติมสารละลายสำหรับผงตัวอย่างวัตถุดิบที่ปริมาตรเท่ากับ 575 มิลลิลิตร และสำหรับผงตัวอย่างเยื่อที่ระดับปริมาตรเท่ากับ 1,540 มิลลิลิตร โดยใช้ Erlenmeyer flask ขนาด 2,000 มิลลิลิตร
5. Reflux condenser จะต้องสวมอยู่บน flask โดยมี Rubber stopper ยึดติดกันแน่น
6. ตู้อบ โดยให้มีอุณหภูมิอยู่ที่ 105 ± 3 องศาเซลเซียส
7. ตะเกียงเบนเซน แผ่นตะแกรง และฐานรองมีสามขา
8. Buret ขนาด 50 มิลลิลิตร
9. Beaker ขนาด 100 มิลลิลิตร
10. แท่งแก้วคน
11. ตะแกรงขนาด 10 หรือ 20 mesh
12. กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 72 ซึ่งจะเป็นสารละลายมีความเข้มข้น 24 ± 0.1 นอร์มอล และมีความถ่วงจำเพาะ 1.6338 ที่อุณหภูมิ 20 ± 4 องศาเซลเซียส เตรียมได้โดยเทกรดซัลฟูริกเข้มข้น (95.5 – 96.5 %, ความถ่วงจำเพาะ 1.84) จำนวน 665 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร อย่าง

ระมัดระวัง ทั้งไว้ให้ของผสมเย็นลงเท่าอุณหภูมิปกติ แล้วเติมน้ำกลั่นให้ของผสมมีปริมาตรทั้งหมด 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็น

13. สารผสมเอทานอล-เบนซีน โดยมีอัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร

14. ผงตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง จากวัตถุดิบต้องปราศจากสารแทรกจำนวน 5 กรัม โดยเปรียบเทียบเป็นน้ำหนักแห้ง จากเชื้อ 10 กรัม โดยเปรียบเทียบเป็นน้ำหนักอบแห้ง ยกเว้นถ้าเชื้อเปียกอยู่ทำให้แห้งโดยการผึ่งในบรรยากาศ หรืออบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 10 – 20 mesh แต่เชื้อไม้บดจะมียางน้ำมันอยู่มาก ต้องสกัดด้วยเอทานอล-เบนซีน แล้วล้างด้วยเอทานอล น้ำร้อน และทำให้แห้งโดยการผึ่ง

วิธีการ

1. ชั่งผงตัวอย่างที่ปราศจากสารแทรก สำหรับวัตถุดิบ 1 ± 0.1 กรัม สำหรับเชื้อ 2 ± 0.1 กรัม โดยเทียบเป็นน้ำหนักอบแห้ง ถ่ายลงใน Beaker ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. วาง Beaker ลงในอ่างน้ำแข็งแล้วค่อย ๆ เติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 72 ที่แช่เย็น (10 – 15 องศาเซลเซียส) ไว้ในตู้เย็นลงไป 15 มิลลิลิตร พร้อมคนให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ (ด้วยแท่งแก้ว) โดยอุณหภูมิอยู่ที่ 2 ± 1 องศาเซลเซียส จนกระทั่งผงตัวอย่างละลายหมด
3. เมื่อผงตัวอย่างกระจายดีแล้วปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา นำมาตั้งทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 20 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พร้อมคนสารละลายอย่างสม่ำเสมอทุก ๆ 15 นาที จนแน่ใจว่ามีการละลายสมบูรณ์
4. เติมน้ำกลั่น 300 – 400 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask แล้วเทสารละลายในบีกเกอร์ลงใน Erlenmeyer flask ด้วย และให้เติมน้ำกลั่นลงไปอีกเพื่อให้กรดมีความเจือจางลดลงจนเหลือความเข้มข้นร้อยละ 3 จนถึงระดับ 575 มิลลิลิตร ที่ได้ทำเครื่องหมายไว้สำหรับผงตัวอย่างวัตถุดิบ และระดับ 1,540 มิลลิลิตรที่ได้ทำเครื่องหมายไว้สำหรับผงตัวอย่างเชื้อ
5. Reflux สารละลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ด้วยการรักษาปริมาตรสารละลายใน flask ให้คงที่
6. ปล่อยให้ตะกอนนอนกัน 1 คืน นำมากรองผ่านด้วยกรองเบอร์ 4 ที่ทราบน้ำหนักแล้ว โดยกรองน้ำใสก่อนแล้วจึงกรองตะกอนลิกนิน
7. ล้างลิกนินให้ปราศจากกรดด้วยน้ำร้อน
8. นำถ้วยกรองที่มีลิกนินอยู่ใส่ในตู้อบอุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ โดยทิ้งไว้ในโถดูดความชื้นให้เย็นและชั่ง แล้วคำนวณหาปริมาณลิกนินเป็นร้อยละ

$$\% \text{ปริมาณลิกนิน} = 100 (W1/W2)$$

W1 = น้ำหนักของลิกนินอบแห้ง (กรัม)

W2 = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่าง (กรัม)

1.4 การหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยวิธี Acid chlorite ของ Browing และ Bubnitz (1983)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ผงตัวอย่างที่ปราศจากสารแทรกและทราบน้ำหนักแห้งแล้ว
2. อ่างที่ควบคุมอุณหภูมิ 70 – 80 องศาเซลเซียส
3. กระดาษฟอยล์
4. โถดูดความชื้น
5. ขวดรูปกรวย ขนาด 250 มิลลิลิตร
6. ถ้วยกรองเบอร์ 2
7. เครื่องปั่นลม พร้อมชุดแยกน้ำจากลม
8. กรดแอสซิติค
9. โซเดียมคลอไรด์
10. น้ำแข็ง

วิธีการ

1. ชั่งผงตัวอย่างลงในกระดาษฟอยล์ที่ปราศจากสารแทรกโดยน้ำหนักแห้ง 3 กรัม ถ่ายผงเชื้อใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นลงในขวดรูปกรวย 160 มิลลิลิตร และกรดแอสซิติคเข้มข้นจำนวน 0.5 มิลลิลิตรกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.5 กรัม ลงไปด้วยตามลำดับ แล้วใช้ขวดรูปกรวยขนาดเล็กกว่าเอาทางหัวลงปิดปากขวดรูปกรวยที่ใส่ผงตัวอย่างนั้น นำไปตั้งในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 70 – 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยทำการทดลองในตู้ดูดควันพิษ มีการเขย่าเป็นระยะจะได้ก๊าซคลอรีนไฮดรอกไซด์ (ClO₂) เกิดขึ้น และมีการทำปฏิกิริยากับลิทมิ้นในผงตัวอย่าง
3. เมื่อครบ 1 ชั่วโมง จะต้องเติมกรดแอสซิติคเข้มข้นจำนวน 0.5 มิลลิลิตรกับโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัมตามลำดับ ลงในขวดรูปกรวย ยังคงเขย่าขวดเป็นระยะ ทำเช่นนั้นนาน 1 ชั่วโมง และให้ทำในทำนองนี้ต่อไปอีกชั่วโมงที่ 2, 3 และ 4 หรือจนกว่าผงตัวอย่างจะมีสีขาว
4. เมื่อครบกำหนดเวลา นำขวดรูปกรวยไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเพื่อให้ก๊าซพิษลดการฟุ้งกระจายลงเป็นเวลา 30 นาที
5. กรองผงเชื้อด้วยถ้วยกรองเบอร์ 2 ที่ทราบน้ำหนักแห้งละเอียดถึง 0.1 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องกรองที่มีแรงดูดจากการไหลผ่านของน้ำที่ปั๊มมาจากเครื่องปั่นลมครบชุด ทำให้ก๊าซพิษที่ฟุ้งกระจายออกจากสารละลายจะได้ถูกดูดและละลายไปกับน้ำ

6. ล้างผงไฮโดรเซลลูโลสด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งมีสีขาว จึงล้างด้วยเอซีโตน และดูดออกมาให้มากที่สุด
7. นำไฮโดรเซลลูโลสไปผึ่งให้แห้งในบรรยากาศและทำให้แห้งในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักและเก็บผงตัวอย่างไว้วิเคราะห์หาปริมาณแอลฟาเซลลูโลสต่อไป
8. นำถ้วยกรองพร้อมไฮโดรเซลลูโลสบางส่วนไปใส่ในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก
9. นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณไฮโดรเซลลูโลสเป็นร้อยละ

$$\% \text{ ปริมาณไฮโดรเซลลูโลส} = 100 (W1/W2)$$

$W1$ = น้ำหนักอบแห้งของไฮโดรเซลลูโลส (กรัม)

$W2$ = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่าง (กรัม)

1.5 การหาปริมาณแอลฟาเซลลูโลส

การหาปริมาณแอลฟาเซลลูโลสของวัตถุดิบไม้ และเชื่อมตามวิธีมาตรฐาน TAPPI T203om-88

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องกระจายผงตัวอย่าง
2. อ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 0.2 องศาเซลเซียส
3. นาฬิกาจับเวลา
4. บีกเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
5. แท่งแก้วคน
6. Volumetric flask ขนาด 500 มิลลิลิตร
7. บีกเกอร์ทรงสูง ขนาด 300 มิลลิลิตร
8. Filter crucible Por.2
9. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 17.5 เตรียมโดยการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 87.5 กรัม ละลายในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่น จำนวน 300 มิลลิลิตร ซึ่งเช่อยู่ในอ่างน้ำแข็งทำให้มีอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมื่อละลายสมบูรณ์แล้วถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นและเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร
10. กรดแอซิดิกความเข้มข้นร้อยละ 10

วิธีการ

1. ชั่งไฮโดรเซลลูโลสที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว จำนวน 2 ± 0.1 กรัมที่เตรียมได้จากข้อ 1.4 โดยน้ำหนักอบแห้งใส่ในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 300 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นลงในสารละลายโดยเติมน้ำจนระดับความเข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 75 มิลลิลิตร ลงไป และปรับอุณหภูมิของสารละลายโดยนำไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 0.2 องศาเซลเซียส
3. คนสารละลายด้วยเครื่องกระจายจนเกิดการกระจายอย่างสมบูรณ์ โดยมีให้เกิดฟองอากาศ 5 นาที
4. ล้างเครื่องกระจายด้วยสารละลายไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 25 มิลลิลิตร
5. คนสารละลายด้วยแท่งแก้วและนำไปแช่ไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 0.2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
6. เติมน้ำกลั่นลงในสารละลายจำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วคนด้วยแท่งแก้วทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิอีก 30 นาที
7. กรองสารละลายด้วยถ้วยกรองเบอร์ 2
8. ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นที่มีความเย็น 20 องศาเซลเซียสจนกระทั่งเป็นกลาง
9. ล้างตะกอนต่อไปอีกด้วยกรดแอสซิดิกความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยแช่อยู่นาน 5 นาทีจำนวน 40 มิลลิลิตร
10. ล้างตะกอนครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นจนน้ำที่ล้างนั้นไม่มีสภาพเป็นกรด
11. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น และทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักกองที่ นำผลมาคำนวณหาปริมาณแอลฟา-เซลลูโลส

$$\% \text{ ปริมาณแอลฟาเซลลูโลส} = 100 (W1/W2)$$

W1 = น้ำหนักแอลฟาเซลลูโลสอบแห้ง (กรัม)

W2 = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่าง (กรัม)

1.6 การหาปริมาณเพนโตแซน

การหาปริมาณเพนโตแซนในวัตถุดิบไม้และ เชื้อตามวิธีมาตรฐาน TAPPI T223 cm-84

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องมือกลั่น ประกอบด้วย Boiling flask, Graduated separatory funnel, A Graham type condenser, Volumetric flask และ Two and three ways connecting tubes.
2. เตาไฟฟ้าที่ปรับอุณหภูมิได้
3. อ่างน้ำแข็ง

4. เครื่อง Spectrophotometer ใช้วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตรและGlass cuvettes
5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 0.1 องศาเซลเซียส
6. นาฬิกาจับเวลา
7. Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร
8. ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
9. ปิเปต ขนาด 25 มิลลิลิตร
10. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 13.15 โดยน้ำหนัก (3.85 ± 0.05 นอร์มัล) นำกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นโดยความถ่วงจำเพาะ 1.18 – 1.19 จำนวน 315 มิลลิลิตร ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask จนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร และตรวจสอบความเข้มข้น
11. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 11 นอร์มัล นำกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจำนวน 915 มิลลิลิตร ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask จนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
12. Orcinol reagent โดยละลาย Orcine monohydrate ($C_7H_8O_2 \cdot H_2O$) จำนวน 0.4 กรัม กับ $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ จำนวน 0.5 กรัม ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 11 นอร์มัล แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น ไม่นานกว่าสองอาทิตย์
13. ผลึกโซเดียมคลอไรด์
14. แอลกอฮอล์ (C_2H_5OH) บริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 95
15. โซโลส ($C_5H_{10}O_5$)
16. น้ำแข็ง

วิธีการ

1. ใส่ผงตัวอย่างที่ปราศจากสารแทรกสำหรับเนื้อไม้ใบกว้าง 0.3 กรัม เนื้อไม้ใบแคบ 0.7 กรัม เชื้อไม้ฟอกจากไม้ใบกว้าง 1 กรัม จากเนื้อไม้ใบแคบ 2 กรัม หรือเชื้อฟอกจากเนื้อไม้กว้าง 3 กรัม และจากเนื้อไม้ใบแคบ 5 กรัม ใน Boiling flask และใส่ผลึกโซเดียมคลอไรด์ จำนวน 20 กรัมกับสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 3.85 นอร์มัล จำนวน 100 มิลลิลิตร พร้อมด้วยลูกแก้ว(Boiling stone) 2 – 3 เม็ด
2. ติดตั้ง Boiling flask เข้ากับเครื่องกลั่น และทำเครื่องหมายระดับของสารละลายกรดไว้เดิม สารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 3.85 นอร์มัล จำนวน 250 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยก
3. ให้ความร้อนด้วยตะเกียงเบนเซนหรือเตาไฟฟ้าที่ทำให้กรดกลั่นตัวในอัตราเร็วสม่ำเสมอที่ละ 2.5 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่กลั่นได้ซึ่งมี Furfural ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่วางอยู่ในอ่างน้ำแข็ง

4. ในระหว่างการกลั่น จะต้องรักษาระดับของสารละลายกรดใน Boiling flask ให้คงที่โดยการหมั่นเติมสารละลายกรด HCl จากกรวยแยก หรือ เติมสารละลายกรดจากกรวยแยกทุก 10 นาที จำนวนครั้งละ 25 มิลลิลิตร กลั่นต่อไปจนครบเวลา 90 ± 5 นาที จะได้ปริมาณของสารละลายที่กลั่นได้ 225 ± 10 มิลลิลิตร
5. ปรับระดับอุณหภูมิของสารละลายที่กลั่นได้เป็น 20 องศาเซลเซียส เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 3.85 นอร์มัล ให้ครบปริมาตร 250 องศาเซลเซียสของ volumetric flask ที่หามาไว้ก่อน และผสมให้เข้ากันโดยตลอด
6. คุดสารละลายที่กลั่นได้ด้วย Pipet ขนาด 5 มิลลิลิตร จำนวน 5 มิลลิลิตรใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม Orcinol จำนวน 25 มิลลิลิตร เขย่าและวาง flask ลงในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ± 5 นาที
7. เติมเอทานอลให้ครบระดับที่มีปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วเขย่าและนำไปไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส อีกเป็นเวลา 60 ± 5 นาที
8. นำสารละลายที่เตรียมไว้ใส่ใน Cuvettes ที่มีฝาปิดป้องกันการระเหยของกรดที่จะกัดกร่อนเครื่องมือไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร
9. อ่านค่าไซโลสในตัวอย่างจากกราฟ Calibration ที่เตรียมไว้เป็นมิลลิกรัม แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณเพนโตแซนเป็นร้อยละ

$$\% \text{ เพนโตแซน} = W1/10W2$$

$W1$ = น้ำหนักไซโลสในผงตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

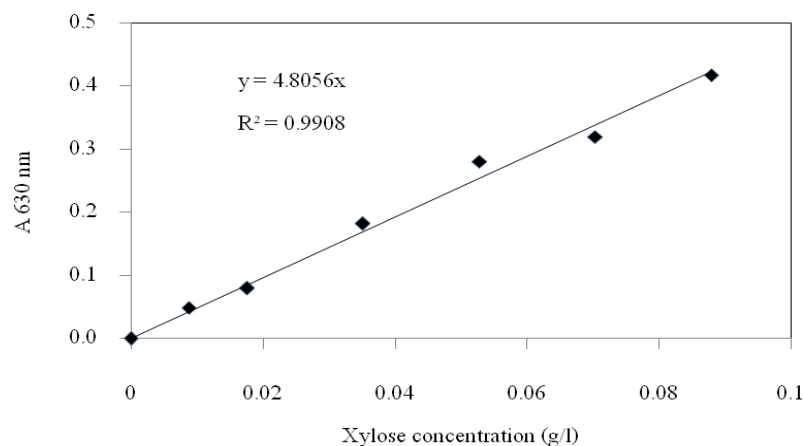
$W2$ = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่าง (กรัม)

การเตรียมกราฟมาตรฐานของไซโลส

- a. อบไซโลสให้แห้งในตู้อบสุญญากาศ (Vacuum oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- b. ชั่งไซโลสที่อบแห้งหนัก 10, 20, 40, 60, 80, 100 มิลลิกรัม จำนวนรวม 5 ชุด
- c. ใส่ไซโลสแต่ละชุดที่เตรียมไว้ลงใน Boiling flask และดำเนินการกลั่นในทำนองเดียวกับผงตัวอย่าง
- d. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่กลั่นได้แต่ละน้ำหนักที่ต่างกันของไซโลสที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร และให้ใช้ Blank เป็นสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 3.85 นอร์มัล จำนวน 5 มิลลิลิตร เป็นสารละลายอ้างอิง
- e. คำนวณไซเลนในตัวอย่างเป็นมิลลิกรัมจาก

$$\text{Xylan (มิลลิกรัม)} = \text{Xylose} \times 0.88$$

เขียนกราฟระหว่างปริมาณไซโลสและค่าดูดกลืนแสง หาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นจากกราฟที่ได้เพื่อไว้คำนวณหาปริมาณเพนโตแซนในตัวอย่าง



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลไซโลส

1.7 การหาปริมาณเส้นใยในเนื้อไม้

การหาปริมาณเส้นใยในเนื้อไม้ โดยการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส ตามมาตรฐานTAPPI T211 om-93

อุปกรณ์และสารเคมี

1. พงตัวอย่างอย่างน้อย 2 กรัมโดยน้ำหนักอบแห้ง
2. ถ้วยกระเบื้องซิลิกาพร้อมฝาปิด
3. เครื่องชั่ง ชั่งน้ำหนักได้ละเอียดถึง 0.1 มิลลิกรัม
4. เตาเผาที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ 525 ± 25 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. ล้างถ้วยกระเบื้องให้สะอาด นำมาอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 ± 3 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 30 นาที
2. นำถ้วยกระเบื้องมาอบอีกที่อุณหภูมิ 525 ± 25 องศาเซลเซียสในเตาเผา เป็นเวลา 30-60 นาที จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ แล้วนำมาใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น ประมาณ 1 ชั่วโมง นำไปชั่งน้ำหนักให้ละเอียดถึง 0.1 มิลลิกรัม
3. ชั่งผงเยื่อที่ไม่ต้องกำจัดสารแทรก ประมาณ 1 กรัมลงในกระทงกระดาษฟอยล์ แล้วนำไปอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 2 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ จึงชั่งน้ำหนักกองแห้งให้ละเอียดถึง 0.1 มิลลิกรัม

4. เทพวงเยื่อใส่ถ้วยกระเบื้อง แล้วชั่งน้ำหนักกระทั่งกระดาษฟอยล์
5. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมวงเยื่อไปเผาโดยตรงด้วยเปลวไฟอ่อนจากตะเกียงเบนเซน โดยเปิดฝาแง้มไว้ แล้วใส่ในเตาเผาพร้อมนำฝาปิดออก โดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 100 องศาเซลเซียส และทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 525+25 องศาเซลเซียส อย่างช้า ๆ จนกระทั่งตัวอย่างเป็นเถ้าปราศจากเปลวไฟอย่างน้อย 6 ชั่วโมง
6. เมื่อครบเวลาและตัวอย่างเผาไหม้สมบูรณ์โดยปราศจากเศษเหลือที่มีสีดำแล้ว นำมาใส่โถดูดความชื้นอะลูมิเนียม ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักเถ้าให้ได้ละเอียดถึง 0.1 มิลลิกรัม
7. เถ้าซ้ำและชั่งซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักของเถ้าคงที่ ไม่แตกต่างกันเกิน 0.2 มิลลิกรัม แล้วนำข้อมูลมาหาปริมาณเถ้าเป็นร้อยละ

$$\% \text{ปริมาณเถ้า} = 100(W1/W2)$$

W1 = น้ำหนักเถ้าหลังเผา (กรัม)

W2 = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

การหาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

การหาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตด้วยวิธีของสารโรจนและคณะ (2544)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD Agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
2. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
3. น้ำกลั่นบรรจุในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วสำหรับการเจือจาง
4. ปิเปต
5. spreader และแอลกอฮอล์

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ทำการเจือจางให้เหมาะสม โดยเลือกระดับการเจือจางตัวอย่างละ 3 ระดับ แต่ละระดับดูดตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงจานเพาะเชื้อ 3 ซ้ำ เกลี่ยด้วยแท่งแก้ว ตามเทคนิคการ spread plate
2. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากระดับการเจือจางที่ให้จำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ คำนวณหาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อตัวอย่าง 1 ลิตรดังนี้
จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (เซลล์/ลิตร) = จำนวนโคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ $\times$ dilution factor $\times$ 10,000

การหาความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส

การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography ตามวิธีของ Ballesteros et al. (2004)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. High Performance Liquid Chromatography
2. คอลัมน์ (Aminex) (ยี่ห้อ Biorad รุ่น Aminex HPX-87P)
3. Detector (RI)
4. Recorder
5. สารละลายกลูโคสมาตรฐานเตรียมโดยเจือจางกลูโคสด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-5 กรัมต่อลิตร

วิธีการ

1. ทำการเตรียมตัวอย่างโดยกรองผ่านตัวกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง
2. ใช้น้ำเป็นตัวชะ (elute) ด้วยอัตราเร็ว 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
3. นำค่าที่ได้วิเคราะห์เทียบกับกราฟมาตรฐาน

$$\text{ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้โครมาโทแกรมกลูโคส}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

สารละลายกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	สารละลายกลูโคส (10 กรัมต่อลิตร) (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่นปราศจากไอออน (มิลลิลิตร)
0	0	5
0.1	0.05	4.95
0.5	0.25	4.75
1.5	0.75	4.25
3	1.5	3.5
5	2.5	2.5
10	5	0

การวิเคราะห์ความเข้มข้นเอทานอล

การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography

อุปกรณ์และสารเคมี

1. High Performance Liquid Chromatography
2. คอลัมน์ (Aminex) (ยี่ห้อ Biorad รุ่น Aminex HPX-87P)
3. Detector (RI)
4. Recorder
5. สารละลายกลูโคสมาตรฐานเตรียมโดยเจือจางกลูโคสด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-5 กรัมต่อลิตร

วิธีการ

1. ทำการเตรียมตัวอย่างโดยกรองผ่านตัวกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง
2. ใช้น้ำเป็นตัวชะ (elute) ด้วยอัตราเร็ว 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
3. นำค่าที่ได้วิเคราะห์เทียบกับกราฟมาตรฐาน

$$\text{ความเข้มข้นเอทานอล(กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้โครมาโทแกรมเอทานอล}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

สารละลายเอทานอล มาตรฐาน(กรัมต่อลิตร)	สารละลายเอทานอล (30 กรัมต่อลิตร) (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่นปราศจาก ไอออน(มิลลิลิตร)
0	0	5
0.5	0.08	4.92
5	0.83	4.17
10	1.67	3.33
20	3.33	1.67
30	5	0

ข้อชี้แจง

1. ทำการเพิ่มเติมรายละเอียดในส่วนภาคผนวกตามที่เสนอแนะ โดยได้เพิ่มเติมวิธีวิเคราะห์ต่างๆ เป็นที่เรียบร้อยแล้ว
2. ข้อเสนอแนะในส่วนการหมักแบบSSF ที่ให้เพิ่มปริมาณวัตถุดิบให้มากกว่า 10% นั้น เป็นข้อเสนอแนะที่ดีมาก ทางคณะผู้วิจัยจะนำไปปรับปรุงและพัฒนางานวิจัยต่อไป แต่เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ได้ทำการทดลองในระดับฟลาส โดยทั่วไปปริมาณวัตถุดิบ 10% เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการทดลองระดับฟลาสอยู่แล้ว ถ้าจะทำการเพิ่มปริมาณวัตถุดิบให้มากกว่า 10% ต้องมีการลดขนาดของวัตถุดิบก่อนโดยการบดร่อน แล้วยังต้องศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของปริมาณวัตถุดิบที่เพิ่มขึ้นต่อการหมัก
3. ข้อเสนอแนะในการศึกษาความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์นั้น ทางคณะผู้วิจัยเห็นด้วยอย่างยิ่ง แต่ทั้งนี้เนื่องจากคณะผู้วิจัยไม่มีความเชี่ยวชาญด้านการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์เท่าที่ควร หากจะทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมจำเป็นต้องมีผู้เชี่ยวชาญทางด้านการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์เข้าร่วมวิจัยด้วย และถ้าจะมีการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์นั้น ควรที่จะกำหนดชนิดของวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลนั้นคือ ลำต้นปาล์มน้ำมัน